



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES FORMULACIONES DE PROGESTERONA Y
ESTRADIOL EN SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIÓN EN VACAS
LECHERAS EN UN SISTEMA PASTORIL:**

Perfiles Hormonales, Respuesta Ovarica y Preñez

DR. MARCELO MARTÍNEZ BARBITTA

TESIS DE MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

**URUGUAY
2018**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES FORMULACIONES DE PROGESTERONA Y
ESTRADIOL EN SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIÓN EN VACAS
LECHERAS EN UN SISTEMA PASTORIL:**

Perfiles Hormonales, Respuesta Ovarica y Preñez

DR. MARCELO MARTÍNEZ BARBITTA

**JORGE GIL LAUREIRO, DMTV, MSc, PhD.
Director de Tesis**

2017

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

PRESIDENTE:

Raquel PÉREZ CLARIGET, DrV., MSc., PhD.
Profesor Titular Reproducción Animal, DT
Facultad de Agronomía
Universidad de la República

Carolina VIÑOLES GIL, MV., MSc., PhD.
Profesor Agregado
Centro Universitario de Tacuarembó – Polo Agroforestal
Universidad de la República

Daniela CRESPI, DrCV, MSc.
Asistente Teriogenología
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

Programa de Posgrados

FACULTAD DE VETERINARIA
Programa de Posgrados

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

DE MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

**"EVALUACIÓN DE DIFERENTES FORMULACIONES DE
PROGESTERONA Y ESTRADIOL EN SINCRONIZACIÓN DE
CELOS Y OVULACIÓN EN VACAS LECHERAS EN UN SISTEMA
PASTORIL: Perfiles Hormonales, Respuesta Ovárica y Preñez"**

Por: Dr. Marcelo MARTÍNEZ BARBITTA

Director de Tesis: Dr. Jorge Gil

Tribunal

Presidente: Dra. Raquel Pérez Clariget

Segundo Miembro: Dra. Carolina Viñoles

Tercer Miembro: Dra. Daniela Crespi

Fallo del Tribunal:

APROBADA

[Handwritten signatures of the Tribunal members]

El Fallo del Tribunal puede ser: Aprobada (corresponde a la nota BBB-6), o Aprobada con Mención (corresponde a la nota SSS-12).

Anfiteatro de Anatomía
Jueves 28 de junio de 2018

INFORME DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer, en primer lugar, a mi familia que siempre ha estado al lado mío apoyándome en todas mis decisiones, recomendándome cuando creen que la decisión no es la mejor y soportando mis frustraciones cuando estas se han presentado. En especial a mi mujer que siempre estuvo conmigo, sin nunca oponerse a mis resoluciones pero siempre estando a mi lado para enfrentar los resultados.

Por otro lado, quiero agradecer especialmente al Dr. Daniel Cavestany, que desde el momento de tomar una responsabilidad que era ajena al momento de la tesis de grado aceptó tutoriarla y luego conyinar trabajando con nosotros, diseñar experiementos conjuntamente conmigo, programar actividades, conseguir locaciones, incluir estudiantes de grado y trabajar no sólo en el financiamiento de los ensayos, sino obteniendo los insumos, y trabajando a nivel de campo como uno de nosotros. Luego me guío en el manejo de datos, procesamiento, redacción y publicación de los mismos. Muchas veces poniendo su experiencia por encima de mi impulsividad.

Al Dr. Jorge Gil que asumió el compromiso de trabajar con nosotros luego de algunos hechos desagradables, donde otro profesional hubiera preferido ignorar nuestras solicitudes. En ningún momento cuestionó nuestra labor y eso lo engrandese a nuestro entender como persona y profesional.

A los estudiantes de grado que pusieron todo su trabajo en cada uno de los diseños, muchas veces, con diseños que llevaron a trabajar durante 4 días intensivamente, sin prácticamente descansos.

A los colegas y trabajadores que aportaron los establecimientos y animales donde se hicieron los programas IATF y se interfirió con su normal trabajo.

A los laboratorio que aportaron las drogas que fueron utilizadas durante los experimentos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL	05
ACTA DE DEFENSA DE TESIS	06
INFORME DEL TRIBUNAL	07
AGRADECIMIENTOS	08
RESUMEN	11
SUMMARY	12
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	13
a. La respuesta reproductiva al cambio productivo	14
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	15
a. Estradiol y sus esteres	16
b. Progesterona y progestágenos	20
c. Progesterona y Estradiol	24
3. PLANTEO DEL PROBLEMA	27
4. HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN	28
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES	28
a. Hipotesis general	28
b. Objetivo general	28
6. ESTRATEGÍA DE INVESTIGACIÓN	29
7. DISCUSIÓN GENERAL	30
8. CONCLUSIONES GENERALES	33
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
10. ANEXOS	42
a. PUBLICACIÓN I	43
b. PUBLICACIÓN II	55

RESUMEN

Se realizó una serie de experimentos, para obtener datos de farmacocinética en animales y para evaluar su efecto en ensayos en condiciones de campo con repeticiones con un programa básico de IATF (inseminación a tiempo fijo). El objetivo fue evaluar tres formulaciones de estradiol (E_2) [5 mg de 17β (E17), 1 mg de benzoato (EB) y 1 mg de cipionato (ECP)] y dos presentaciones de progesterona (P4) - dispositivo intravaginal (DIV) de P4 y 200 mg de P4 parenteral (MAD-4) en un protocolo de sincronización de la ovulación. Se utilizaron 30 vacas Holando en lactancia tardía que fueron presincronizadas con una combinación de GnRH y prostaglandina (PG) administradas con siete días de intervalo y que manifestaron celo en el mismo día; a los 10 días de éste se formaron 6 grupos (5 c/u): 1) DIV + EB: día 0: DIV + EB; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: EB. 2) DIV + E17: día 0: DIV + E17; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: E17. 3) DIV + ECP: día 0: DIV + ECP; Día 8: PG y retiro del DIV + ECP. 4) MAD-4 + EB: día 0: MAD-4 + EB; Día 8: PG; Día 9: EB. 5) MAD-4 + E17: día 0: MAD-4 + E17; Día 8: PG; Día 9: E17. 6) MAD-4 + ECP: día 0: MAD-4 + ECP; Día 8: PG + ECP. La respuesta fue evaluada por los niveles plasmáticos de E_2 , P4 y ecografía ovárica. Las concentraciones máximas de P4 se registraron una hora después del tratamiento ($7,3 \pm 0,7$ ng/mL DIV y $16,1 \pm 0,7$ ng/mL MAD-4; $P < 0,0001$); seis horas más tarde se redujeron a $5,7 \pm 0,7$ ng/mL DIV y $11,2 \pm 0,7$ ng/mL MAD-4 respectivamente ($P < 0,0001$). Las concentraciones de E_2 alcanzaron un máximo 4 horas después del tratamiento para grupos E17 y EB y 28 h después del tratamiento para grupos de ECP. Las concentraciones máximas fueron E17: $641,5 \pm 11,5$ pg/mL, EB: $166,5 \pm 11,5$ pg/mL y ECP: $45,6 \pm 10,9$ pg/mL ($P < 0,0001$). E_2 volvió a los niveles iniciales 40 horas más tarde en grupos E17 y EB y 80 horas en grupos de ECP. Los diámetros foliculares en el día 8, fueron $14,9 \pm 1,4$ y $14,4 \pm 1,3$ mm para las vacas EB y E17 y $10,9 \pm 1,4$ para los animales ECP ($P < 0,05$). La ovulación ocurrió más temprano en los grupos EB y el porcentaje de vacas ovulando fue 88,9% en E17, 66,7% en EB y 30,0% en ECP ($P < 0,05$). Posteriormente, se realizó un ensayo de campo con tres repeticiones con un protocolo de sincronización de celos HeatSynch modificado, utilizando 377 vacas Holando en producción, primíparas y multíparas, ciclando y en anestro, ubicadas en tres tambos. El protocolo consistió en: Día 0: GnRH y administración de MAD-4 o DIV; Día 7: Prostaglandina (PG); Día 8: Benzoato de estradiol (BE); Día 9: detección de celo e IA; Día 10: IATF a vacas que no mostraron celo. Se realizó el diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía a 45 días del inicio de los tratamientos. Se extrajeron muestras de leche los Días -7 y 0 para determinación de actividad ovárica mediante la dosificación de progesterona. Los porcentajes de preñez a la primera inseminación fueron: 20,5% en el tambo 1, 30,8% en el tambo 2, y 43,3% en el tambo 3 ($P < 0,05$). La fertilidad del tratamiento no fue afectada por la fuente de progesterona (DIV: 33,0%, MAD-4: 33,1%; $P > 0,01$) la ciclicidad (Ciclando: 32,3%, Anestro: 35,3%; $P > 0,01$) ni la paridad (Primíparas: 36,1%, Multíparas: 30,2%; $P > 0,01$). Se encontró una interacción entre tambo y ciclicidad ($P < 0,05$). El porcentaje de preñez fue menor en las primíparas del tambo 1 que las de los tambos 2 y 3 (12,9% vs. 49,8% y 33,3%; $P < 0,05$). No se observaron diferencias entre los tratamientos, concluyéndose que es posible sustituir los dispositivos intravaginales por progesterona inyectable, como una presentación más fácil de aplicar y que no genera residuos hormonales contaminantes.

SUMMARY

A series of experiments was performed to obtain pharmacokinetic data in animals and to evaluate its effect under field conditions with repetitions with a basic program FTAI (timed fixed artificial insemination) developed based on first experiment. Initially the objective was to evaluate three formulations of estradiol (E₂) [5 mg of 17 β (E17), 1 mg benzoate (EB) and 1 mg of cypionate (ECP)] and two presentations progesterone (P4) - intravaginal device (DIV) of P4 and P4 parenteral 200 mg (MAD-4) in a synchronization protocol of ovulation. There were used 30 milking Holstein cows in late lactation presynchronized with a combination of GnRH and prostaglandin (PG) administered seven days apart and that showed heat on the same day; 10 days later 6 groups (5 each) formed 1) DIV + EB: day 0: DIV + EB; Day 8: PG and removal DIV; Day 9: EB. 2) DIV + E17: Day 0: DIV + E17; Day 8: PG and removal DIV; Day 9: E17. 3) DIV + ECP: Day 0: DIV + ECP; Day 8: PG and removal DIV + ECP. 4) MAD-4 + EB: Day 0: MAD-4 + EB; Day 8: PG; Day 9: EB. 5) MAD-4 + E17: Day 0: MAD-4 + E17; Day 8: PG; Day 9: E17. 6) MAD-4 + ECP: Day 0: MAD-4 + ECP; Day 8: PG + ECP. The response was assessed by plasma levels of E₂, P4 and ovarian ultrasound. Maximum concentrations of P4 recorded one hour after treatment (7.3 ± 0.7 ng / mL and 16.1 ± 0.7 DIV ng / mL MAD-4, $P < 0.0001$); six hours later were reduced to 5.7 ± 0.7 ng / mL DIV and 11.2 ± 0.7 ng / mL MAD-4 respectively ($P < 0.0001$). E₂ concentrations peaked at 4 hours after treatment for E17 and EB groups and 28 h after the ECP treatment groups. Maximum concentrations were E17: 641.5 ± 11.5 pg / mL, EB: 166.5 ± 11.5 pg / mL and ECP: 45.6 ± 10.9 pg / mL ($P < 0.0001$). E₂ initial returned to levels 40 hours later in E17 and EB groups and 80 hours of ECP groups. Follicular diameters on day 8 were 14.9 ± 1.4 and 14.4 ± 1.3 mm for EB and E17 and 10.9 ± 1.4 cows for animals ECP ($P < 0.05$). Ovulation occurred earlier in the EB groups and the percentage of cows ovulating was 88.9% in E17, 66.7% and 30.0% EB in ECP ($P < 0.05$). Subsequently, to evaluate the results of field indicators a synchronization protocol modified Heatsynch heat was selected using 377 Holstein dairy cows, primiparous and multiparous, cycling and anestrous, located in three dairies. The protocol consisted of: Day 0: GnRH and administration of MAD-4 or DIV; Day 7: Prostaglandin (PG); Day 8: estradiol benzoate (BE); Day 9: heat detection and AI; Day 10: FTAI to cows showed no heat. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography 45 days of the start of treatment. Milk samples Days -7 and 0 for determining ovarian activity by progesterone dosage extracted. Pregnancy rates to first insemination were 20.5% in the dairy 1, 30.8% in the dairy 2 and 43.3% in the dairy 3 ($P < 0.05$). Fertility treatment was not affected by the source of progesterone (DIV: 33.0, MAD-4: 33.1%; $P > 0.01$) cyclicity (cycling: 32.3% Anestrus: 35.3% ; $P > 0.01$) or parity (Primiparus: 36.1% Multiparous: 30.2%; $P > 0.01$). An interaction between dairy and cyclicity ($P < 0.05$) was found. The pregnancy rate was lower in primiparous dairy farm 1 than the farms 2 and 3 (12.9% Vs. 49.8% and 33.3%; $P < 0.05$). No differences were observed between treatments, concluding that injectable progesterone can replace intravaginal devices, as this presentation is easier to apply and does not generate pollutant hormone residues.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En Uruguay el sector agropecuario siempre ha tenido trascendencia económica y social estratégica. A la vez de generar soberanía alimentaria, es un importante generador de trabajo y divisas. Así es que el 70% de las exportaciones son de origen agropecuario o agroindustrial. Como resultado del impulso de la demanda internacional de alimentos y un fuerte proceso de modernización en la producción, el crecimiento de la agropecuaria en los últimos años ha sido muy relevante. En una década, las exportaciones agropecuarias se han multiplicado, en términos corrientes, en más de cuatro veces (hasta U\$S 5.700 millones, DIEA-MGAP 2012). Sin embargo este proceso de intensificación y modernización presenta también desafíos tecnológicos en todas las áreas.

En 2012 según el anuario estadístico agropecuario (DIEA-MGAP) se produjeron 2.200 millones de litros de leche, 93% remitidos a planta industrial. La producción desarrollada por unos 4.500 productores (9,5% del total país), de los cuales 1.100 son queseros artesanales, con un rodeo total de 710.000 cabezas lecheras (55% de ellas, vacas en producción) distribuidas en 850.000 hectáreas. La producción lechera representa aproximadamente 25% del Producto Bruto Pecuário.

Según datos de la Asamblea General Anual de Fepale (2001) la producción de leche creció en forma continua en las últimas dos décadas a una tasa acumulativa mantenida del 3% anual. En 1980, la producción de leche rondaba los 795 millones de litros, mientras que, para el presente año, se estima una producción superior a 1500 millones de litros (estimaciones INALE). La severa sequía que asoló las zonas del país donde se concentra la lechería desde fines del '99 hasta mediados del 2000, provocó una contracción muy importante de la producción, y retrasó el crecimiento esperado. La remisión de leche a plantas industrializadoras -para el mismo período- aumentó a una tasa del 4.5% acumulativo anual, pasando de 470 millones de litros a 1140 millones de litros entre 1980 y 2001. El consumo de leche se incrementó de 196 millones de litros en 1980 a 225 millones de litros en la actualidad. El número de establecimientos ganaderos dedicados a la lechería ha disminuido un 33%, totalizando en la actualidad unos 5000 establecimientos en descenso. La superficie promedio por establecimiento pasó de 150 há a 200 há en veinte años, mientras que el tamaño promedio del rodeo lechero se ha visto duplicado llegando a 80 vacas. Con una superficie total dedicada a la lechería de 1 millón de hectáreas (6% de la superficie productiva nacional) que se ha mantenido casi constante en los últimos veinte años, este sostenido incremento de la producción fue posible gracias al fuerte cambio tecnológico. La productividad por superficie lechera en los establecimientos especializados se duplicó en veinte años, alcanzando aproximadamente los 1700 L de leche/ha en el 2000. Este hecho es la resultante de tres fuerzas que actuaron en igual sentido. En primer lugar se verificó un aumento en el rendimiento individual anual por vaca en ordeño que pasó de 2800 a 4500 litros, marcando una mejora del 63% para el período, y representando un promedio diario de producción por vaca de 15 litros. En segunda instancia, se observa un incremento en la dotación de vacas por hectárea del 39%. Finalmente, la relación entre el número de vacas improductivas y el número de vacas en ordeño disminuye un 45%, pasando de 0,9 a 0,5 en veinte años. La

producción de leche está basada en el uso intensivo de las pasturas con suplementaciones estratégicas de concentrados y el uso de ensilados.

Asimismo surge también que actualmente, cerca del 50% de la superficie dedicada a la lechería cuenta con pasturas mejoradas. Esto permite obtener costos medios de producción por litro de leche que se ubican entre los más bajos del mundo. La producción se realiza en grandes espacios abiertos y en equilibrio con el ambiente. Está prohibido el uso de hormonas o cualquier otro tipo de promotores, lo que permite asegurar el carácter natural del producto obtenido. La mejora en la calidad de la leche ha sido una constante desde que se implementó el Sistema Nacional de Calidad en 1997. Actualmente, la leche recibida en planta tiene, en promedio, 71 mil unidades formadoras de colonias (ufc) por ml y 418 mil células somáticas (cs) por ml. El 75% de la leche recibida en planta tiene menos de 100 mil ufc/ml y 500 mil cs/ml.

Una serie de efectos dinámicos ocurridos en los últimos años ha ocasionado un suceso de realidad cambiante. Existe una tendencia a aumentar el tamaño de los rodeos lecheros y la producción de leche por vaca en el país. Del 2002 al 2009, la cantidad de predios lecheros remitentes a la Industria descendió un 12%, la cantidad total de vacas lecheras se mantiene en forma similar y la remisión de leche a planta se incrementó un 33%. Esta situación puede contribuir a que rodeos más grandes tengan más dificultades con alcanzar sus metas reproductivas sobre todo si se da en la región la tendencia mundial (Macmillan, 2009) de manejar más cantidad de vacas por cada recurso humano en el predio.

a. La respuesta reproductiva al cambio productivo

Según de Nava (2011) la eficiencia reproductiva de las vacas lecheras está declinando en el mundo, tanto en sistemas pastoriles (Holmes et al, 2002; McDougall, 2006; Macmillan, 2009) como en sistemas de producción más intensivos (Butler, 1998; Weigel, 2006; Thatcher et al, 2006; Dobson et al, 2007). Por ejemplo, se ha reportado que la tasa de concepción ha disminuido de 65% a 40% a medida que la producción de leche se incrementó de 4.500 a 9.000 litros/vaca/lactación entre 1951 a 1996 en Estados Unidos (Butler, 1998), lo que concuerda con los registros de otros países (Pyman y Macmillan, 2010). Además de esa menor tasa de concepción, la vaca moderna de alta producción tiene mayor incidencia de celos silentes, anestro pospartos más largos, menor duración de celo, una mayor incidencia de enfermedades en el posparto y una mayor posibilidad de mortandad embrionaria temprana y tardía (Lopez et al, 2004; Weigel, 2006; Thatcher et al, 2006; Dobson et al, 2007; Pyman y Macmillan, 2010). Se ha aceptado que esta disminución marcada de la fertilidad de la vaca lechera en las últimas décadas que se registra en el mundo, se debe a cambios y diferencias en los sistemas de manejo y en la genética animal (Holmes et al, 2002; McDougall, 2006; Weigel, 2006; Macmillan, 2009).

Los estudios publicados en Uruguay sobre el impacto de la mejora genética en la producción de leche y de los cambios en los sistemas de producción sobre la fertilidad son escasos. Existe evidencia, sin embargo, de un deterioro en el comportamiento reproductivo en el rodeo lechero en nuestro país (Rovere, 2010), al constatarse mayores

intervalos parto-1er servicio y parto-concepción a medida que pasa el tiempo. La información publicada en Uruguay sobre indicadores reproductivos en tambos también es limitada. Cavestany y Galina (2001) reportaron que un 8,5% de vacas ciclando al comienzo de la estación reproductiva invernal en tambos uruguayos nunca fueron detectadas en celo, y por consiguiente no recibieron servicio, a los 80 días de comenzado el período de inseminación. Estos autores determinaron una eficiencia de detección de celo del 46,9% para estos establecimientos, lo que ayuda a explicar porqué el intervalo promedio entre el comienzo de la estación reproductiva y el primer servicio encontrado por estos autores haya sido de 27,4 días. En la región, la tasa de detección de celos promedio reportada para tambos de la cuenca de Santa Fe y Córdoba en Argentina también es baja, situándose en el entorno de 42% (Capitaine Funes, 2005). Las dificultades que existen en el mundo para la detección de celo en vacas lecheras y las ayudas cada vez más sofisticadas a esos efectos han sido descritas por Van Eerdenburg (2009). Estas ayudas son justificadas para este autor que afirma que un porcentaje del 50% de las vacas no demuestra comportamiento de celo en la actualidad (de Nava, 2011).

2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

A consecuencia de estos deficientes indicadores reproductivos en todos los sistemas de producción, se ha avanzado en el conocimiento de factores que intervienen en el ciclo reproductivo de la vaca lechera. Por otro lado, hace 20 años, desde que Pursley et al (1995; 1997a; 1997b) publicaron los resultados de un protocolo para sincronizar la ovulación (Ovsynch), combinando el uso de dos inyecciones de GnRH con prostaglandina en el que la inseminación prescindía de la necesidad de detectar celo (Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, IATF), se abrió un abanico de posibilidades para integrar esta tecnología al manejo reproductivo de los ganados lecheros. Desde entonces, se han publicado muchos protocolos de IATF diferentes (DeJarnette, 2004; Thatcher y Bartolome, 2005; Filippi et al, 2005). Estos programas de IATF se presentaron como una manera de simplificar y corregir los errores de la detección de celo. Hacia finales de los 90, se realizaron modificaciones al protocolo original por grupos de investigación en Uruguay, tras observar que la incorporación de una fuente de progesterona entre el día 0 al 7 al programa Ovsynch mejoraba la tasa de preñez a la IATF en vacas lecheras con más de 100 días de paridas (Cavestany et al, 2000). De esta manera, se masificaron los resultados obtenidos en diferentes circunstancias en las condiciones comerciales de Uruguay (de Nava, 2001).

Basado en algunos hallazgos de campo, Cavestany (2002) cuestionó la administración de una fuente de progesterona en estos casos. Sin embargo, otros autores también reportaron que la incorporación de un dispositivo intravaginal de progesterona en el protocolo Ovsynch lleva a mejorar las tasas de preñez y a reducir las pérdidas de preñez entre el día 30 y 55 en vacas lecheras (El-Zarkouny, 2004; Moreira et al 2004; Stevenson et al, 2006; Thatcher et al, 2006). El mejor resultado obtenido con la incorporación de progesterona intravaginal al programa Ovsynch se da principalmente por un mejor comportamiento de las vacas ciclando pero con bajas concentraciones plasmáticas de progesterona al comienzo del programa de sincronización (Stevenson et

al, 2006). Finalmente, debe mencionarse que mientras que se obtuvo un 25,4% de preñez con la utilización del Ovsynch tradicional en vacas lecheras de Uruguay en 5 diferentes programas (Cavestany, 2002), el protocolo modificado con el agregado de una fuente intravaginal de progesterona permitió alcanzar 42,6% de preñez en 4980 vacas lecheras sometidas al programa en diferentes tambos en los últimos 3 años. Esto aporta evidencia sustancial sobre el beneficio para nuestras condiciones de agregarle una fuente de progesterona al programa Ovsynch.

Los buenos resultados obtenidos en condiciones comerciales aplicando este protocolo de sincronización de la ovulación asociado a la IATF, llevó a instrumentarlo en muchos tambos, coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal (de Nava, 2001; de Nava et al, 2005; de Nava et al, 2010), considerándolo como una herramienta válida en la realidad de predios lecheros uruguayos (de Nava et al, 2005).

Por otro lado, desde hace muchos años se viene intensificando la problemática asociada a la disponibilidad de recursos humanos capacitados en todo el medio rural uruguayo y particularmente en los tambos. Es común que el personal de campo calificado y entrenado específicamente para tareas asociadas a todo el proceso reproductivo (eficiencia y precisión de detección de celos, inseminación, asistencia a partos, planillado de datos, etc) que lleva a preñar las vacas lecheras, sea reasignado a otras tareas en el establecimiento o haya eventualmente cambiado de trabajo. A menudo estos cambios se dan en medio de un período de servicios importante, por lo que esta situación genera incertidumbre a efectos de obtener resultados reproductivos buenos y constantes en el tiempo. Esta es una situación similar a la reportada para otros países, lo que ha llevado a asumir que mantener un programa de detección de celos eficiente contando con personal calificado para ello y para inseminar las vacas puede ser un desafío inalcanzable en innumerables ocasiones (DeJarnette, 2004).

a. Estradiol y sus esteres

Los estrógenos naturales son esteroides con 18 átomos de carbono y un anillo fenólico A (anillo aromático con un grupo hidrófilo carbono 3) y un grupo hidrófilo cetónico en el carbono 17 del anillo D. El anillo fenólico A es la estructura responsable de la alta afinidad ligada a receptores de estrógeno. El estradiol-17 β es el más potente de los principales estrógenos que se encuentran tanto en humanos como en animales. Es el principal producto secretado por el ovario y se oxida fácilmente y se transforma en estrona en el hígado y está ligado en más del 50% a proteínas plasmáticas. Los estrógenos están distribuidos en todo el cuerpo y se acumulan en el tejido adiposo. La eliminación de estrógenos esteroides se da principalmente a través del metabolismo hepático. El estradiol-17 β estrona o estriol son eliminados como conjugados de glucurónido o sulfato. Los estrógenos y sus metabolitos son eliminados principalmente a través de la orina pero además son eliminados a través de la bilis donde la mayoría son reabsorbidos desde el tracto intestinal. Debido su baja solubilidad en agua, los ésteres de estradiol se absorben en un intervalo prolongado (Bó y Cutaia, 2007).

Los estrógenos en soluciones oleosas son absorbidos rápidamente, aunque la absorción puede continuar durante varios días después de su administración intramuscular. Los estrógenos esterificados poseen absorción retardada después de su administración intramuscular. Dichos ésteres son absorbidos desde el lugar de inyección y el E-17 activo es liberado después de la hidrólisis. El estradiol-17 β es la hormona activa que resulta del clivaje de los ésteres de estradiol. Un éster es una cadena compuesta principalmente por átomos de carbono están típicamente adheridos a la hormona esteroide matriz en la posición del carbono 17. La esterificación del grupo hidróxilo de 17 de estradiol-17 β lleva a la protección de este grupo contra el ataque metabólico y prolongan el efecto. Por lo tanto, el cipionato de estradiol (C₂₆H₃₆O₃; PM 396,6) producido por la esterificación del estradiol con ácido ciclopentanepropionico, tiene una actividad biológica mucho más sostenida que el estradiol-17 (C₁₈H₂₄O₂; PM 272,4). Por otra parte, el benzoato de estradiol (C₂₅H₂₈O₃; PM 376,5) se produce por la esterificación del carbono de la posición 3 y tiene un periodo de acción más corto. El valerato de estradiol (C₂₃H₃₂O₃; PM – 356,5) es de acción inmediata. Cuánto más larga es la cadena del éster, más baja es la solubilidad en agua y más demorará en absorberse la dosis completa. Una vez en la circulación, el éster es clivado por una enzima estearasa (lo hidroliza) y la actividad biológica vuelve a ser la del E-17 normal. Por lo tanto la duración de la acción depende de la absorción y no del metabolismo (Bó y Cutaia, 2007).

Estudios iniciales en vacas ovariectomizadas demostraron las concentraciones de estradiol y FSH en plasma luego de la administración de 5 mg de benzoato de estradiol o valerato de estradiol (Figura 1).

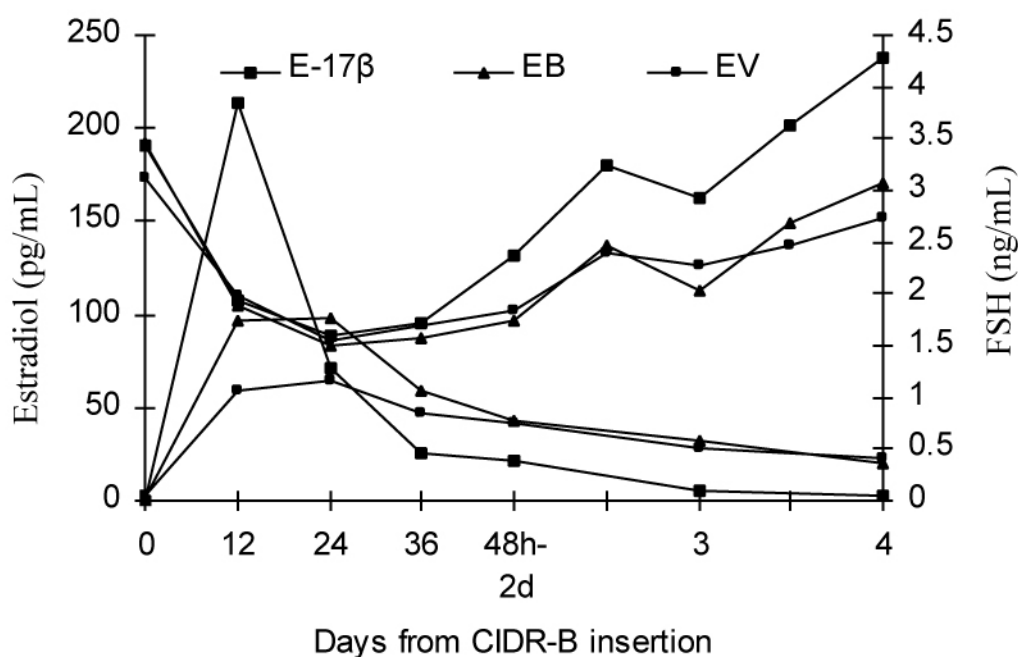


Figura 1. Las concentraciones plasmáticas de estradiol y FSH en vacas de carne ovariectomizadas a las que se les colocó un dispositivo CIDR el Día 0 y 5 mg de E-17 , EB o EV más 100 mg de progesterona en ese momento (Bo et al, 2012)

Las concentraciones de estradiol en plasma mostraron consistentemente un pico 6 h después del tratamiento con E-17 y disminuyeron gradualmente a niveles basales a las 36 h (Martinez, 2002). También se ha informado que las concentraciones de estradiol aumentaron drásticamente a las 2 (Bo et al, 2000) y 6 h (Bo et al, 1994) después del tratamiento con E-17. Las concentraciones de estradiol en plasma aumentaron más rápidamente y alcanzaron un pico más elevado tras el tratamiento con E-17 que con tratamientos con EB o EV. Además, el estradiol en plasma no regresó a niveles basales hasta las 96 h en vacas ovariectomizadas tratadas con EB y con EV (Martinez, 2002), tal como se había descrito anteriormente (Bo et al con EV en vaquillonas intactas (1990) que describieron un descenso bifásico de las concentraciones de estradiol después del pico en animales tratados con EB. Una fase de eliminación de aproximadamente 48 h siguió a una fase inicial de distribución de aproximadamente 48 h. Vynckier et al (1990) también mostraron que las concentraciones de estradiol en plasma durante el estro inducido con PGF llegó a 14 ± 2 pg/mL (rango, 11 a 28 pg/mL), similar a lo que sucedió después de una inyección de 1 mg de EB. Por otra parte, las concentraciones de estradiol en plasma durante la preñez avanzada duplican o triplican las alcanzadas después de una inyección de 5 mg de EB o EV (Bó y Cutaia, 2007).

Los picos en las concentraciones de estradiol después de la inyección de 5 mg de E-17, EB o EV dependieron del estrógeno utilizado. Por lo tanto, cada forma de estradiol tendrá diferentes efectos sobre las concentraciones de gonadotropina y los folículos ováricos. Las concentraciones de estradiol en plasma después de las inyecciones de EB o EV no aumentaron tan rápidamente como con E-17 sino que alcanzaron un pico y disminuyeron más lentamente (Martinez, 2002). Vynckier et al, (1990) informaron que luego de una inyección de 10 mg, los niveles de los picos fueron menores y más prolongados con ECP que con EB.

El aumento en las concentraciones de estradiol circulante provocó una disminución en las concentraciones de FSH en plasma. El tratamiento con 5 mg de E-17 en vacas ovariectomizadas resultó en una disminución de las concentraciones de FSH en plasma en 6 a 48 h (Martinez, 2002). En animales intactos, la supresión de concentraciones de FSH en plasma por este intervalo resultaría en la supresión de los folículos antrales. En experimentos anteriores, la inyección de 5 mg de E-17 en animales intactos resultó en la supresión de FSH durante aproximadamente 36 a 48 h, seguida por un aumento durante las 36 a 48 h siguientes y la emergencia sincrónica de una onda folicular 1 d más tarde sin importar el estadio de la onda folicular al momento del tratamiento (Bo et al). En vacas ovariectomizadas, las concentraciones de FSH en plasma aumentaron antes y alcanzaron mayores concentraciones en el grupo con E-17 que en los con EB o EV (Martinez, 2002). Mientras la FSH regresó a las concentraciones previas al tratamiento a las 60 h después del tratamiento en el grupo con E-17, en los grupos con EB y con EV, la FSH en plasma comenzó a aumentar 12 a 24 h más tarde que en el grupo con E-17. Esto resultaría en la emergencia de una onda folicular 1 d más tarde (es decir, un intervalo de 3 a 4 d en animales tratados con E-17 y de 4 a 5 d en animales tratados con EB o EV). El retraso en el incremento de las concentraciones de FSH en plasma puede servir para explicar tanto

la demora como la variabilidad en la emergencia de la onda folicular que se observa en animales intactos tratados con dosis de 5 mg de EB (Bo et al, 1996) o EV (Bo et al, 1993; Mapletoft et al, 1999). Sin embargo, después de la administración de 1 mg de EB, las concentraciones de FSH en plasma tuvieron un patrón de disminución similar al posterior a los 5 mg de E17 (Martinez, 2002) y la emergencia de onda folicular ocurrió en 4 d (Martinez et al, 2002). Los resultados indican que la secreción y la liberación de FSH dependen de la dosis de estradiol y que diferentes ésteres de estradiol suprimen la liberación de FSH por intervalos variables que dependen del tiempo que el estradiol permanece en altas concentraciones en la circulación (Bó y Cutaia, 2007).

El cipionato de estradiol (ECP) en dosis de 5 y 1 mg, respectivamente, han resultado en intervalos a la emergencia de la onda folicular más largos y variables que E-17. En el caso de ECP, varios experimentos fueron realizados en los años 1990. Mediante ensayos en vacas de cría, una dosificación de 0,5 mg ECP pareció ser marginalmente eficaz ya que no existieron diferencias con los controles sin tratamiento (Thundathil et al, 1999). En experimentos más recientes comparando la eficacia de ECP con E-17, la emergencia de la onda folicular fue más variable ($P < 0.01$) en las vaquillas que recibieron ECP ($n=30$) que en aquellas que recibieron E-17 ($n=28$; $4,0 \pm 0,4$ días vs. $3,3 \pm 0,1$ días). Por lo que se confirmó la ineficiencia del ECP en la sincronización de ondas foliculares (figura N° 2).

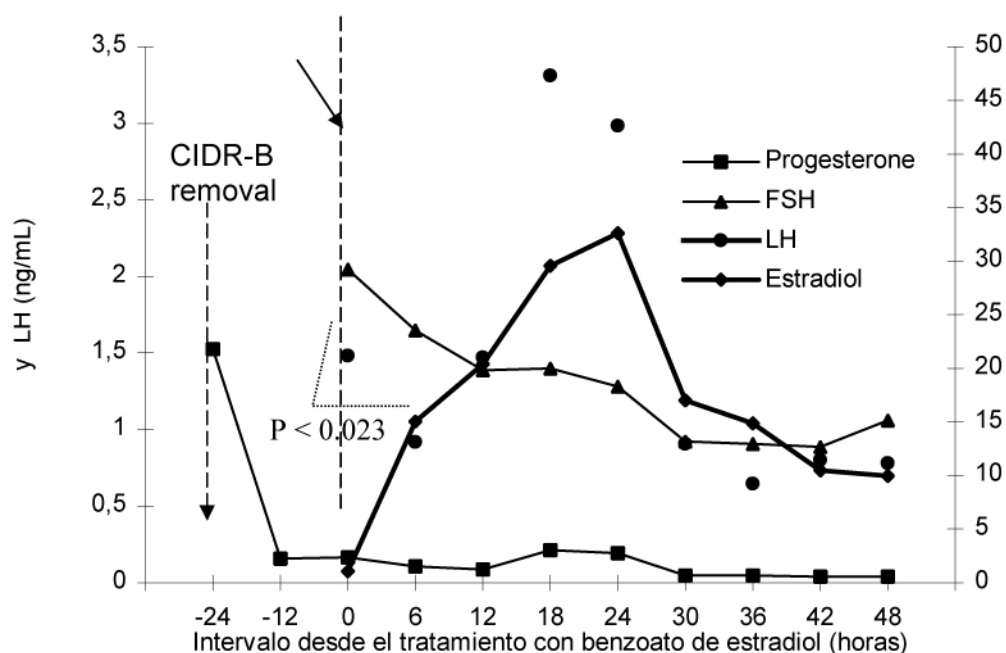


Figura 2. Las concentraciones de progesterona, estradiol, FSH y LH en plasma después del tratamiento con 1 mg de EB 24 h después de la remoción del CIDR en vacas de carne ovariectomizadas ($n = 16$) (Bo et al, 2012)

b. Progesterona y Progestágenos

Según Bó y Cutaia (2007), las progestinas alteran la función ovárica suprimiendo el estro y evitando la ovulación (Christian y Casida, 1948). La progesterona reduce la frecuencia de los pulsos de LH (Savio et al, 1993), lo cual a su vez suprime el crecimiento del folículo dominante según la dosis. Además, el acetato de melengestrol (MGA) es menos efectivo que la progesterona nativa para suprimir la LH. Es importante destacar que la progesterona no suprime la secreción de FSH (Bleach et al, 2004), por lo tanto, las ondas foliculares siguen emergiendo en presencia de un CL funcional. A pesar de que las progestinas administradas por intervalos mayores a la vida del CL (es decir >14 días) resulta en un celo sincrónico al retirarlas, la fertilidad en el próximo celo es baja (Larson y Ball, 1992; Odde, 1990). Debido a que los tipos y dosis de progestinas utilizadas para controlar el ciclo estral en bovinos suelen ser menos eficaces que la progesterona endógena (de un CL) en la supresión de secreción de LH, la alta frecuencia de pulsos de LH resulta en el desarrollo de folículos “persistentes” que contienen oocitos envejecidos que llevan a una baja fertilidad (Savio et al, 1993). El dispositivo (DIV) (inicialmente el CIDR con 1.9 gr de progesterona) han sido aprobados y utilizados en varios países desde ya dos décadas, para la sincronización de celo en vaquillonas (Mapletoft et al, 2003). Las instrucciones recomendadas en la etiqueta (para IA) establecen que el DIV debería permanecer en la vagina durante 7 días. La PGF se administra 24 horas antes de la remoción del DIV y la detección de celo comienza 48 horas después de la remoción del mismo. Después de un breve período de tratamiento (7 días), el problema de los folículos persistentes se reduce. Así, los DIV pueden ser utilizados en diferentes tratamientos para sincronizar el desarrollo folicular y la ovulación (Mapletoft et al, 2003).

Desde que se conoció el efecto de la progesterona (P4) como reguladora del ciclo estral, esta hormona ha sido utilizada tanto para la sincronización como la inducción del celo desde hace mucho tiempo (Odde, 1990; Yavas y Walton, 2000). Además de la P4 natural, se han sintetizado diversos compuestos con acción similar llamados progestágenos. Como progestágenos se define, entonces, a un grupo de compuestos disponibles en el mercado, que tienen acciones similares a la P4, dentro de los cuales se encuentran: el acetato de melengestrol (MGA, de aplicación oral) y el norgestomet (utilizados en implantes subcutáneos; Crestar® y Syncro-Mate B®). A estas alternativas disponibles en el mercado internacional se suman los dispositivos intravaginales de liberación lenta de P4 (CIDR®, DIB® y PRID®). Los primeros tratamientos a base de P4 que se instauraron para sincronizar el celo, eran de larga duración (9 a 14 días), con ellos se logró una buena sincronización de los celos pero bajas tasas de preñez (Odde, 1990). Se responsabilizó de las bajas tasas de preñez obtenidas a, la ovulación de folículos dominantes persistentes con ovocitos envejecidos (Mapletoft et al, 2009).

La primera ovulación posparto usualmente es seguida por una fase lútea corta y es un factor que incide en la pobre eficiencia reproductiva en vacas de carne paridas. El tratamiento con P4 antes de la primera ovulación disminuye consistentemente la incidencia de los ciclos estrales cortos (Yavas y Walton, 2000; Wiltbank et al, 2002). El “priming” o exposición a niveles elevados de P4 es necesario para la expresión de celo y

para el desarrollo de una fase lútea de duración normal (Yavas y Walton, 2000; Lamb et al, 2001; Wiltbank et al, 2002; Baruselli et al, 2004). El tratamiento con un dispositivo intravaginal de P4 por 7 días en vacas amamantando y en anestro, incrementa el número de vacas que tienen una fase lútea normal y retoman la ciclicidad ovárica (Yavas y Walton, 2000). El tratamiento de vacas en anestro con P4 resulta en mayores concentraciones de estradiol (E2) intra folicular y circulante, mayor pulsatilidad de LH y aumento del número de receptores de LH en las células de la teca y la granulosa de los folículos preovulatorios, todo ello contribuye a que un mayor número de animales presenten estro al retirar la fuente de P4 (Wiltbank et al, 2002; Baruselli et al, 2004).

En resumen, los tratamientos con P4 exógena aplicados en vacas en anestro y amamantando provocarían: a) el mantenimiento del folículo dominante hasta su maduración final y posterior ovulación luego de finalizado el tratamiento; la maduración final del folículo dominante induce el pico de LH siguiente al retiro de la fuente de P4, probablemente por el incremento de la secreción de E2 y su feedback positivo. b) prolongación de la vida media del cuerpo lúteo (CL) resultante de la ovulación del folículo dominante, probablemente se evita la luteólisis temprana (ciclos cortos) por la supresión de los receptores de oxitocina en el endometrio uterino, mecanismo que inhibe la liberación prematura de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG), y c) reanudación de la ciclicidad posparto (Yavas y Walton, 2000).

La baja tasa de preñez obtenida cuando se aplican tratamientos cortos (7 días, al final del diestro) con progestágenos o largos (14 días), son atribuidos al prolongado mantenimiento de un folículo dominante y a la ovulación de un ovocito envejecido, lo que resalta la necesidad de promover la emergencia de una nueva onda folicular al inicio del tratamiento con P4, para contar con un folículo saludable y con capacidad de ser fecundado al finalizar el tratamiento (Mapletoft et al, 2009). Por lo que en la actualidad no se utiliza la P4 sola, sino en combinación con otras hormonas.

Desde que se descubrió la acción luteolítica de la PG, esta hormona fue la de elección para acortar la fase lútea del ciclo estral y sincronizar celos en vacas ciclando (Odde, 1990). El uso de la PG en cualquiera de sus metodologías (2 dosis separadas por 11 días; detección de celo durante 5 días + PG) es de los métodos de mayor difusión, sin embargo, tiene la desventaja de requerir necesariamente de la detección de celos. Luego de producida la luteólisis el intervalo hasta el inicio del celo es variable y depende de la etapa del ciclo estral en que se encuentra el animal al momento de su aplicación (Diskin et al, 2002). Esta hormona es utilizada para lizar el CL inducido en todos los protocolos de IATF, al momento de su inyección los animales con un folículo dominante en crecimiento presentaran celo dentro de los 2-3 días siguientes a la inyección.

Con el advenimiento del ecógrafo, se pudo estudiar el desarrollo y la dinámica folicular en el ciclo estral y diseñar, mediante la combinación de varias hormonas, protocolos capaces de inducir la ciclicidad y sincronizar la ovulación (Bó et al, 1995; Pursley et al, 1995; Geary and Whittier, 1998, Geary et al, 2000). Estos protocolos permiten obviar o minimizar la detección de celo e implementar la IATF logrando buenos resultados (Bó et al, 1995; Lamb et al, 2001; Larson et al, 2006; Schafer et al, 2007).

Básicamente consisten en la incorporación de una fuente de P4 el primer día del tratamiento cuando se inyecta GnRH (Lamb et al, 2001) o benzoato de estradiol (BE) (Bó et al, 1995). La fuente de P4 es retirada siete días después, cuando se aplica PG, y en este momento cuando se trabaja con animales en anestro se puede agregar eCG al protocolo. Para inducir la ovulación del folículo dominante al final del tratamiento existen variantes según el protocolo utilizado, cuando se utiliza BE el día ocho del protocolo, la IATF se realiza 32 horas después de su inyección, mientras que cuando se aplica GnRH el día nueve, la IATF se realiza a las 16 horas después (Bó et al, 1995; Pursley et al, 1995).

La principal función de los estrógenos en los protocolos de inducción – sincronización de celos (IATF) es, en primera instancia, sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular cuando se aplica junto con una fuente de P4, y en segunda cuando son aplicados 24 horas después de retirada la fuente de P4, inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Bó et al, 1995). El efecto sinérgico de la aplicación conjunta de P4 + E2 suprime la liberación de FSH, independientemente de la etapa del ciclo estral en que se encuentre el animal, causando la atresia del folículo dominante. Una vez que el E2 fue metabolizado, surge una onda de FSH (Mapletoft et al, 2009) que promueve la emergencia de una nueva onda folicular a los 4,3 días de su aplicación (Bó et al, 1995; Burke et al, 2000; Martínez et al, 2005), esto permite contar con un folículo dominante joven y saludable al momento de realizar la IATF. Actualmente el estrógeno más utilizado con ésta finalidad es el BE (Bó et al, 1995; Martínez et al, 2005) sin embargo, otros investigadores reportan el uso del cipionato de estradiol (ECP) (Meneghetti et al, 2009; Sales et al, 2012; Menchaca et al, 2013) aplicado al retiro del dispositivo de P4 como otra alternativa en la inducción del pico de LH en tratamientos para IATF, dado que el ECP tiene una vida media en sangre más prolongada que el EB, actuando durante más tiempo y con una curva de concentración en sangre menos pronunciada. Las ventajas de incluir ECP en los tratamientos para IATF son el bajo costo de la hormona (versus GnRH) y principalmente que se simplifica el tratamiento, encerrando una vez menos los animales en las mangas (versus E₂).

La otra alternativa es comenzar los protocolos inyectando GnRH, que induce la ovulación o luteinización del folículo dominante y por lo tanto el comienzo de otra onda folicular (Twagiramungu et al, 1995; Schmitt et al, 1996). Utilizando la combinación GnRH – PG, se han desarrollado distintos protocolos de sincronización de celos para realizar IA con detección de celo (Select-Synch; Geary et al, 2000) o a tiempo fijo (Ovsynch, Pursley et al, 1995; Co-Synch, Geary and Whittier, 1998). Un defecto de estos protocolos es que la GnRH no es 100 % efectiva en sincronizar la emergencia de la onda folicular, la consecuencia de esto es que la totalidad de los animales no presentará un folículo dominante saludable al momento de realizar la inseminación (Sartori et al, 2002, Saldarriaga et al, 2007). Además, debido a la falla en la sincronización de la emergencia de la onda folicular cuando los animales tratados se encuentran ciclando, entre un 5% y 15% de estos presentan celo antes de la inyección de PG (celos prematuros). Para mejorar el nivel de sincronización de estos tratamientos se ha incorporado una fuente de P4 entre la aplicación de la GnRH y la PG, lo que permitió mejorar las tasas de preñez cuando se realiza IATF (Dejarnette et al, 2001; Larson et al, 2006; Schafer et al, 2007).

Independientemente de que hormona se utilice al comienzo de los tratamientos, (GnRH o E2), es imprescindible, como ya se dijo, el uso de PG para lisar los CL.

La gonadorofina coriónica eqina (eCG) desde el punto de vista farmacodinámico tiene actividad semejante a la FSH y LH, con vida media de 2 días y persistencia en sangre por 10 días. Administrada previa a la ovulación estimula el crecimiento folicular debido a la actividad de unirse a los receptores FSH y LH de los folículos, aumentando su tamaño preovulatorio, incrementando asimismo las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación (Garnica, 2012). Cuando la eCG se incorpora a protocolos de IATF incrementa la tasa de preñez en vacas y vaquillonas en anestro y con baja condición corporal, sin embargo, su efecto no es tan marcado en hembras ciclando (Bó et al, 2003; Menchaca et al, 2013). Bó et al (2003) reportan que con la adición de 400 UI de eCG a un protocolo de IATF basado en la combinación E₂ + P4, tuvieron mayores tasas de preñez en las vacas que presentaban pequeños folículos (< 8mm) al inicio del tratamiento. Sin embargo, no reportan diferencias significativas entre las vacas que presentaban CL o folículos mayores ($\geq$ 8mm). Resultados similares presentan Small et al (2009), los que concluyen que cuanto más profundo es el anestro más benéfico es el efecto de la eCG. También ha sido demostrado que la tasa de preñez obtenida en trabajos de IATF puede ser mejorada con la aplicación de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de P4 en vacas amamantando y vaquillonas. El efecto benéfico del tratamiento parece estar vinculado a la estimulación del crecimiento y maduración del folículo dominante, y como consecuencia a la formación de un CL que produce mayores cantidades de P4 (Mapletoft et al, 2009).

La inducción y sincronización de celos con la implementación de los protocolos para IATF es una alternativa interesante en los sistemas ganaderos, porque permiten acortar el anestro posparto (APP) induciendo el reinicio de la ciclicidad en la mayoría de las vacas. Además, logra que una alta proporción de las vacas queden preñadas en los primeros días del entore (Yavas y Walton, 2000). Otra de las consecuencias productivas a tener en cuenta es el aumento de peso de los terneros al destete como consecuencia de haber nacido antes (Odde, 1990; de Nava, 2011; Patterson et al, 2013). La IATF es la biotecnología reproductiva que en los últimos años ha mostrado mayor incremento en la tasa de adopción por el sector productivo en los países de la región (Menchaca et al, 2013). La encuesta ganadera de hace 13 años, encontró que el porcentaje de establecimientos que utilizaban IA en Uruguay era bajo (8%) y solo se inseminaba el 25% de los animales, fundamentalmente las vaquillonas (encuesta ganadera, MGAP – DIEA, diciembre 2004). Las vacas con ternero al pie eran marginadas de los beneficios de la IA y de los que se derivan de la sincronización de celos. Se requiere una actualización de la encuesta para evaluar si el sector ganadero uruguayo acompañó al resto de la región adoptando esta tecnología. Una de las causas por las cuales los productores son reacios a adoptar la sincronización de celos y la IA para las vacas con ternero al pie es que como consecuencia del prolongado APP que sufre esta categoría los resultados pueden verse comprometidos (Montiel y Ahuja, 2005). Por otro lado, la dificultad que implica la detección de celo en esta categoría limita la adopción de la técnica. Menchaca et al (2013) demostraron que el DP, destete que se realiza cuando los terneros tienen 60 días de nacidos, favorece de manera significativa los resultados obtenidos con la IATF en

vacas en anestro y en baja CC (Wiltbank et al, 2002), mientras que la IATF elimina la detección de celos (Bó y Cutaia, 2007).

El otro esteroide ovárico utilizado en tratamientos para sincronizar celos fue el E₂ con el cual se inducía el celo, sin embargo, éste podía ser anovulatorio (Robson et al, 2007) y las vacas retornar al anestro por lo que no eran efectivos para acortar el APP (Yavas y Walton, 2000). Sin embargo, esta hormona es utilizada asociada a otras hormonas en protocolos de IATF (Bó y Cutaia, 2007).

c. Progesterona y estradiol

Antes del advenimiento de la PG, el estradiol se administraba (cerca del comienzo de un tratamiento con progestina de corta duración) para inducir la liberación endógena de PGF y la luteólisis (Odde, 1990). La probabilidad del desarrollo de un folículo persistente se redujo y a pesar de que las tasas de preñez variaron ampliamente (33% a 68%), los resultados han sido en general aceptables. Generalmente estos tratamientos resultan en preñeces en bovinos prepúberes o posparto anovulatorios, especialmente si están cercanos a iniciar la ciclicidad en forma espontánea (Odde, 1990). Las malas tasas de preñez se atribuyeron generalmente a la mala condición corporal o a los intervalos posparto (Whittier, 1998). También se demostró otro beneficio del estradiol en protocolos breves con progestina es la regresión folicular, seguida de la emergencia de una nueva onda folicular (Bo et al, 1995). El mecanismo incluye la supresión de las concentraciones circulantes de FSH. El tratamiento con un estradiol de acción corta (Ej., estradiol -17 β) en vacas tratadas con progestina es seguido de la emergencia de una nueva onda, 3 a 5 días más tarde, sin importar el estadio del ciclo estral al momento del tratamiento (Bo et al, 1995). El estradiol-17 β o el benzoato de estradiol (BE) (Bo et al, 1995; Caccia and Bo, 1998) eran inyectados normalmente (junto con 50 a 100 mg de progesterona) al momento de la inserción del DIV (Mapletoft et al, 2003). A pesar de que originalmente se recomendaba una inyección de progesterona para evitar una liberación de LH inducida por estrógeno en bovinos sin un CL, estudios más recientes han demostrado que el tratamiento con estradiol solo en bovinos tratados con DIV resultó en tasas de preñez que no difirieron significativamente del tratamiento con estradiol y progesterona (Colazo et al, 2003). En programas de sincronización de celo, una dosis más baja (generalmente 1 mg) de estradiol se administra 24 horas después de la remoción de la progestina. Esto sincroniza un pico de LH (aproximadamente 16 a 18 horas después del tratamiento) y la ovulación (aproximadamente 24-32 horas después del pico de LH) (Martinez et al, 1999; Martinez et al, 2005). La IATF suele realizarse unas 30-34 horas después del segundo tratamiento con estradiol (Mapletoft et al, 2003; Martinez et al, 1999). A pesar de que algunos bovinos muestran celo dentro de las 12 horas después del tratamiento con estradiol, no hay motivos para inseminar a esos animales antes de la IATF planeada. Otros trabajos de investigación, estudiaron el efecto de otros esteres de estradiol sobre la dinámica folicular y la ovulación (Colazo et al, 2004; Colazo et al, 2005; Cairolì et al, 2006). En esos estudios quedó demostrado que tanto el cipionato de estradiol (CPE) como el valerato de estradiol (VE) en dosis bajas de 0,5 o 1 mg, combinados con

progestagenos, podrían ser eficazmente utilizados en protocolos de IATF en vaquillonas productoras de carne como de leche, tras la búsqueda de mejores protocolos para el control del ciclo estral de la vaca y sobre todo protocolos que tuvieran buenos resultados de forma repetible con el consiguiente desarrollo sincrónico de una nueva onda folicular a través del uso de los E₂ (Colazo, 2007, Bó et al, 2002).

Inicialmente, la introducción de la combinación de E₂ y P₄ se dio con el objetivo de causar una regresión luteal, Sin embargo, posteriormente se descubrió que la combinación de estos dos esteroides causa la atresia del folículo dominante y el posterior surgimiento de una nueva onda folicular al causar una supresión de FSH y LH por el tiempo en que se metaboliza el estradiol. Finalizando dicho proceso surge una nueva curva de FSH causando el surgimiento de una nueva onda folicular (Bó et al, 1995).

Entre los tratamientos que fueron utilizados inicialmente se encuentran dispositivos que eran colocados junto con una capsula de 10 mg de BE (Macmillan y Peterson, 1993), posteriormente fueron sustituidos por tratamientos de aplicación intramuscular (IM), lo cual es más efectivo que las capsulas intravaginales, ya que su absorción es más homogénea y resulta en mayores niveles plasmáticos de E₂ (Caccia, 2003).

Actualmente los protocolos más utilizados para la sincronización de celo y ovulación están relacionados con el uso de los diferentes dispositivos comerciales que se encuentran en el mercado, tanto en ganado de carne como de leche, los cuales son colocados dentro de la vagina por 7 o 8 días (Mapletoft et al, 2003a). En conjunto con estos protocolos se adjunta un agente luteolítico, como lo es la PGF_{2a} al momento de retiro de la fuente de progesterona para asegurar la luteolisis, comprobando ser más efectivo que aplicar altas dosis de sales de estradiol como agente luteolítico al inicio del protocolo de sincronización (Mapletoft et al, 2009). De la misma manera el conocimiento de la utilización de las diferentes sales de estradiol tanto el Valerato de estradiol (VE), 17 β estradiol (E-17 β) y benzoato de estradiol (BE), mostraron ser eficientes en dosis apropiadas para el surgimiento de una nueva onda folicular (Martínez et al, 2000; Martínez et al 2005).

Es posible que los tratamientos de 8 d sean más beneficiosos que los de 7 d en vacas en anestro posparto (Macmillan et al, 1999; Burke et al, 2001). Burke et al. (2001) observaron en vacas en anestro que si en el momento de la remoción de un CIDR-B el folículo dominante tenía más de 3 d desde su emergencia (8 a 9 mm de diámetro) las vacas ovulaban en respuesta al tratamiento de EB (Burke et al., 2001). Por el contrario, cuando el folículo tenía solo un día desde su emergencia la mayoría de las vacas no ovulaban, aunque mostraban signos de celo. En el mismo trabajo, no se encontraron las mismas diferencias entre las novillas y esto explicaría por qué no hemos encontrado diferencias entre los tratamientos de 7 u 8 d en novillas y vacas cíclicas. Además del tratamiento con EB, se puede sincronizar la ovulación utilizando GnRH en el momento de la IATF (Bo et al, 2000; Martínez et al, 2002). En un trabajo realizado con 433 vacas Brangus y Angus con cría que fueron tratadas con un CIDR-B por 8 d, se obtuvo un porcentaje de preñez del 57,7% (123/213) en las vacas tratadas con EB a las 24 h pos CIDR-B y un 56,4% (124/220) en vacas tratadas con 50 mg de GnRH (Cystorelin, Merial)

en el momento de la IATF, que se realizó en ambos grupos entre las 52 y 56 h pos CIDR-B (Bo et al, 2000). Sin embargo, Colazo et al. (2003) tuvieron un mayor porcentaje de preñez en novillas sincronizadas con CIDR-B y cuya ovulación fue inducida con 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (ECP) a las 24 h de la remoción del CIDR-B (216/331, 65%) que novillas tratadas con GnRH en el momento de la IATF (169/328, 51%) o ECP en el momento de la remoción del CIDR-B (168/320, 52%; $P < 0,01$). El tratamiento con GnRH a las 48 h de retirado el CIDR indujo ovulaciones entre 60 y 84 h después de retirado el CIDR-B, con 37% (3/8) de las vacas ovulando entre las 72 y 84 h (Bo et al, 2001). Esto significa que el semen debería mantenerse viable y en condiciones de fertilizar en el tracto reproductivo femenino durante 24 h o más. Por lo tanto, el semen utilizado debe ser de excelente calidad en programas de IATF, sobre todo si se decide utilizar GnRH en el momento de la IA. La efectividad del tratamiento con eCG en comparación con el tratamiento con EB en programas de IATF ha estado muy relacionado con el tipo de dispositivo y sal de estradiol utilizada. El uso de eCG resultó en un mayor porcentaje de preñez que el EB en vacas Nelore tratadas con Crestar (44,8% vs 27,3%, respectivamente). Sin embargo en tres experimentos realizados con vacas secas y con cría tratadas con dispositivos con P4 (DIV-B, TRIU-B y PRID), el porcentaje de preñez del grupo tratado con eCG (109/270; 40,4%) fue menor que el obtenido con los animales tratados con EB (146/267; 54,7%; $P < 0,05$) (Bo et al, 2002).

Algunas dosis y sales que se estudiaron fueron la aplicación de 5 mg de E-17 β en animales implantados en donde se obtuvo la aparición de una nueva onda folicular $4,3 \pm 0,2$ días más tarde en promedio (Bó et al, 1995). En experimentos asociados con el BE, EV y ECP utilizando una dosis de 5 mg, 5 mg y 1 mg respectivamente resultaron menos predecibles en el tiempo del surgimiento de la onda folicular lo que no es útil en los protocolos de sincronización en donde se desea una mínima variabilidad (Caccia y Bo, 1998; Mapletoft et al, 1999). Así tras la experimentación de diferentes dosis se desarrollaron protocolos en los cuales se administra 5 o 2,5 mg de E17b (Bó et al, 2002a), 2 mg de BE (Caccia y Bo, 1998), como también 2 mg EV (Colazo et al, 2005), en donde se presentó un inicio de onda folicular 4 días después, con una pequeña variabilidad y sin importar la fase de desarrollo folicular al momento de la aplicación del tratamiento (Mapletoft et al, 2009).

Continuando con el desarrollo de este tipo de protocolos se ha comprobado que el uso de 2 mg de BE es más efectivo para sincronizar el inicio de una nueva onda folicular y se lo combina con el uso de PGF2a como agente luteolítico el día de la remoción del dispositivo con P4, siete u ocho días después. La mayoría de las vacas entraron en celo 2 a 3 días después de la remoción del dispositivo, consiguiendo un tiempo de ovulación de 72 a 84 horas de retirada la fuente de progesterona. El corto intervalo establecido evita la formación de folículos persistentes y lo más importante se obtuvo una muy buena fertilidad (Martínez et al, 2007; Mapletoft et al, 2009).

De acuerdo a esta idea se diseñaron experimentos con el fin de sincronizar la ovulación posterior a la retirada la fuente de progesterona, por lo que se dieron dosis de bajas de E2, lo cual provoca un pico preovulatorio de LH por medio de un feed back positivo del E2 sobre la GnRH y la LH (Colazo, 1999; Cutaia, 2001).

Se han establecido tratamientos con las diferentes sales de estradiol como inductores de la ovulación, encontrando como más efectiva la colocación de 1 mg de BE 24 horas pos retiro del dispositivo liberador de P₄. Esta dosis sincroniza un pico de LH (aproximadamente 16 a 18 horas después del tratamiento) y la consiguiente ovulación (aproximadamente 24-32 horas después del pico de LH) (Martínez et al, 2005; Martínez et al, 2007).

La IATF suele realizarse unas 30-34 horas después del segundo tratamiento con benzoato estradiol, teniendo resultados de preñez similares a los obtenidos por inseminación a celo detectado (Mapletoft et al, 2003a; Martínez et al, 1999). Posteriormente, se demostró que el ECP es capaz de sincronizar la ovulación de un folículo dominante. El tratamiento con ECP induce unos niveles de estradiol muy bajos en comparación con otras sales de E₂, pero se complementa al E₂ producido por el folículo dominante, logrando promover la liberación de LH (Mapletoft et al, 2003b). Este tipo de estradiol se buscó con el fin de simplificar los protocolos de sincronización ya que tiene mayor vida media y hace posible su aplicación el día de retiro del dispositivo con progesterona e IATF desde las 48 a las 59 horas sin mostrar diferencia significativa (Mapletoft et al, 2009).

Los dispositivos con progestágenos son efectivos y deben ir acompañados de una inyección de estrógeno (EB, E-17b o EV) en el momento de su inserción para sincronizar el desarrollo de una nueva onda folicular y mejorar los índices de concepción a la IA. La administración de EB o GnRH después de la remoción de los dispositivos resulta en la ovulación del folículo dominante y permite realizar IATF con buenos índices de preñez. Toda esta batería de tratamientos es una herramienta muy útil en los programas reproductivos en ganado de carne y leche.

En los últimos años (Cavestany, 2008) se han desarrollado nuevas tecnologías de administración de P₄ de liberación sostenida que han mostrado ser prometedoras frente a los sistemas tradicionales de dispositivos intravaginales.

3. Planteo del problema

Durante los últimos 15-20 años se ha trabajado indistintamente con diferentes protocolos para sincronizar las ondas foliculares y la ovulación con distintas drogas que, aunque pueden considerarse dentro del mismo grupo de hormonales, por un lado el estradiol y sus diferentes esteres y por otro lado la progesterona con diferentes versiones comerciales de distinta concentración, no se ha evaluado profundamente la influencia de cada formulación sobre la respuesta reproductiva, de acuerdo a la farmacocinética en el animal.

Asimismo respecto a la progesterona, se han empleado formulaciones de corta acción, dispositivos de liberación prolongada con distinta concentración de principio activo pero han surgido últimamente nuevas versiones que presentan grandes ventajas frente a

estos últimos, tanto desde el punto de vista de contaminación ambiental, manipulación, inexistencia de absorción de la droga, etc., que deben ser valoradas y enfrentadas a las metodologías convencionales.

4. Hipótesis, objetivos y estrategia de investigación

En base a los antecedentes publicados, que mostraban diferentes perfiles de liberación de las presentaciones de estradiol y sus esteres (E_2), nuestras conjeturas se basaron, primeramente en demostrar si los perfiles plasmáticos de las distintas formulaciones variarían entre si los niveles de 17β estradiol determinado a nivel sanguíneo en un período prolongado. Por otro lado, como afectarían en forma diferencial el desarrollo folicular, la presencia de celos y ovulaciones. Para ello, y para evitar el efecto del momento del ciclo estral en el que encontramos los animales, se presincronizaron con GnRH (hormona liberadora de gonadotrofina) y posterior PG (prostaglandina).

De la misma manera se procedió con las diferentes presentaciones inyectables (MAD-4) e intravaginales (DIV) evaluando sus perfiles de liberación sanguíneos para determinar su analogía o diferencia, niveles obtenidos, permanencia de droga circulando y como dichos parámetros podría afectar los resultados reproductivos.

En otros tres ensayos y en base a los resultados del primer experimento, se eligió en base a varios parámetros, uno de las formulaciones de ester de estradiol (benzoato de estradiol -EB-) y se comparó la respuesta reproductiva (preñeces y celos an algunos casos) obtenida entre la administración de MAD-4 y DIV en protocolos HeatSynch modificados (GnRH, PG, E_2 + P_4), tanto en vacas primíparas como en multíparas y en aniamles cicliando y en anestro posparto en tres establecimientos con manejo similar.

5. Hipótesis y Objetivos generales

a. Hipótesis:

Las diferentes formulaciones de estradiol provocan distintos perfiles de liberación plasmática de E_2 y por tanto influyen de forma diferencial la presentación de celos y sincronización de la ovulación en vacas lecheras.

La utilización de progesterona inyectable en base oleosa, puede ser alternativas efectivas para mejorar los resultados de inducción o sincronización de celos sustituyendo los dispositivos intravaginales (DIVs) en protocolos de IATF.

b. Objetivo general:

Estudiar la respuesta de diferentes formulaciones de estradiol y progesterona en vacas ciclando así como sus efectos sobre la actividad reproductiva.

Objetivo específico

Estudiar los efectos de la administración de una progesterona natural inyectable en base oleosa en protocolos de inducción/sincronización de celos o de IATF en vacas lecheras primíparas, multíparas, en anestro y ciclando.

6. Estrategia de investigación

Para probar las hipótesis propuestas y cumplir con los objetivos, se realizaron cuatro trabajos, que fueron publicados en 2 artículos diferentes.

En el primero de ellos se evaluó cómo distintas formulaciones de E₂ ocasionaban perfiles de liberación de la E₂ en plasma disimiles que afectaban en forma diferencial el comportamiento estral de los animales, así como el período entre los tratamientos y la ovulación tanto como la sincronía de la misma.

Asimismo se evaluó el efecto de las dos opciones de progesterona evaluadas, la inyectable de liberación prolongada frente al dispositivo intravaginal y las caracteristicas de los perfiles plasmáticos hallados durante 7 días.

Se estudió su efecto sobre los parámetros de respuesta reproductiva de los animales, especialmente sincronía y presentación de celo, tiempo desde los tratamientos hasta la ovulación y sincronía de la misma.

En el segundo artículo se conjugaron los resultados de tres ensayos a nivel del campo con 377 animales, primíparas y multíparas, ciclando y en anestro de acuerdo a estimaciones hormonales en leche conjuntamente con tactos rectales y teniendo especialmente en cuenta su estado corporal al momento de los tratamientos. Se aplicó un protocolo de sincronización de celos HeatSynch modificado, variando la fuente de progesterona IATF al día 10, excepto en el tambo 2 donde se realizó solamente IA a celo detectado por decisión de manejo. Asimismo en el tambo 3 se detectó celo e inseminó durante todo el período luego de iniciado el tratamiento. Estas variables permitieron asimismo evaluar puntos críticos que podrían afectar los resultados a nivel de campo. Se determinó la preñez por ultrasonografía y evaluaron los resultados con todos los efectos mencionados.

7. Discusión general

Se ha demostrado que la adición de E₂ en protocolos de sincronización e inducción de la ovulación ocasiona un aumento rápido plasmático del E17 activo que dependerá de la formulación utilizada, que ocasiona la inhibición de PG, manteniendo la expectativa de un CL funcional en protocolos IATF (Mann y Lamming, 2000).

En estos ensayos demostramos que los perfiles de liberación de E17b, EB y ECP son disimiles, no solo alcanzando niveles máximos en momentos distintos, sino también logrando valores sanguíneos muy distintos y prolongando sus niveles detectables por espacios de tiempo muy distintos.

La adición de E₂ también trae como ventajas efectos colaterales que podrían mejorar la respuesta reproductiva de los animales tratados. Es así que se ha demostrado aumento de la motilidad uterina y del oviducto (Hawk, 1975), aumento de flujo sanguíneo a nivel uterino (Krzymowski et al, 2004) y especialmente aumento de la inmunidad local con mayor fagocitosis (Frabk et al, 1983) lo que podría ser fundamental en el proceso posparto de reinicio de la ciclicidad al evitar endometritis persistentes y facilitar la involución uterina.

Encontramos que el EB y E17 registran picos de liberación a tan solo 4 horas de la administración volviendo a niveles basales cerca de 40 hs después, sin interferencia de la P₄ administrada concomitantemente. A su vez, el ECP recién alcanzó su cenit a las 32 hs de la inyección regresando recién a las 90 hs a sus niveles iniciales.

En el primer ensayo utilizamos animales ciclando, para detectar la influencia de las distintas hormonas exogenas que actuarían concomitantemnte con las propias circulantes endógenas del animal, donde el resultado en cuantificación hormonal plasmática no solo depende de las drogas administradas sino también de las propias segregadas por los folículos y CL del los ovarios de los animales.

Para el caso de la adición de P₄, los animales fueron presincronizados previamente al tratamiento para encontrarlos en fase luteal al momento de lo inserción de los dispositivos o inyección de la formulación de acción mantenida. MAD-4 tuvo un rápido aumento de los niveles sanguíneos pero que cayeron drásticamente antes de 24 h, mientras que los grupos DIV alcanzaron su máximo a la hr de su inserción y se mantuvieron en niveles cuasi constantes cercanos a 5 ng/mL hasta el día 5 donde decayeron en forma gradual.

Coincidente con trabajos publicados anteriormente encontramos que los niveles de luteolisis con cualquiera de la E₂ empleados no fue suficiente para restar la PG de los protocolos IATF, es más, con E17 β y ECP la regresión luteal no alcanzó siquier el 35%.

Trabajos anteriores demostraron la trascendencia de ciertos niveles circulantes de estradiol para causar expresión de estro (Lammoglia et al, 1998) a la vez que también existen reportes que indican que vacas de alta producción tienen un clearance hepático del estradiol aumentado (Sangsritavong et al, 2002). La adición de E₂ colabora en la expresión de celo y se demostró altamente dependiente de la formulación empleada, mientras que los animales de E17 β tuvieron 100% demostraciones conductuales, la cifra descendió a 70% y 60% para EB y ECP, respectivamente, coincidente con los máximos plasmáticos hallados, con lo cual cabe pensar que esta reacción responde a niveles plasmáticos puntuales y no al mantenimiento de los mismos. También corroboramos que para que la expresión estral se presente los niveles de P4 deben ser bajos (Lammoglia et al, 1998, Souza et al, 2005), ya que al momento de la valoración todos los animales poseían niveles de P4 inferiores a 1 ng/mL.

Al estudiar la ovulación también encontramos diferencias significativas, mientras que los animales EB ovularon en un 89%, los E17 β lo hicieron en 67% y ECP tan sólo 30% y cierta coincidencia entre el pico plasmático de las diferentes formulaciones con el momento de la ovulación (antes con E17 β , luego EB y finalmente ECP).

En base a los indicadores estudiados propusimos utilizar EB como sal para diseñar ensayos a nivel de campo con poblaciones más elevadas, utilizando esta vez no solo animales cicliando sino también en condiciones de anestro posparto. Utilizamos un protocolo HeatSynch modificado con la adición de P4 intravaginal o inyectable.

De acuerdo a las condiciones de manejo de los tres tambos, se procedió de manera diferencial, en uno de ellos se realizó IATF al día 10 a todos los animales, en otro se detectó celo desde el día 0 y todo animal con comportamiento de celo se inseminó independientemente del día en sistema AM/PM y en el tercer establecimiento se detectó celo e inseminó desde la extracción de los dispositivos (día 8) y todo animal no encontrado en celo fue inseminado a tiempo fijo el día 10. Ese manejo diferencial también nos permitió sacar conclusiones del comportamiento de los animales y su respuesta a protocolos fijos o variables IATF.

Unificando los datos de los tres experientos del trabajo segundo, obtuvimos que el porcentaje de preñez al primer servicio, determinado por ultrasonografía a los 45 días, no fue diferente entre tambos. Tampoco varió la fertilidad entre los tratamientos DIV y MAD-4, considerando la totalidad de condiciones reproductivas, lo que resulta un dato promisorio considerando una posible sustitución de los dispositivos intravaginales por una presentación inyectable de fácil aplicación, sin remoción y menores contaminantes para el medio ambiente.

Los datos obtenidos, conjuntamente con revisiones a nivel país (Nava et al, 2010) frente a datos reportados por Kasimanickam et al (2005) quienes utilizaron protocolo similar, aunque sin suplementación con P4, con escasos niveles de preñez, justificarían ampliamente la adición de P4 no sólo en animales en anestro por el aporte del “priming” necesario para reiniciar la actividad ovárica posparto (Cutaia et al, 2007), sino también por

su beneficio en la sincronización del desarrollo folicular y el bloqueo de ovulaciones prematuras (Cavestany et al, 2000; Andringa et al, 2013).

En relación a la información aportada por los distintos tipos de manejo por establecimiento de acuerdo a la IATF, en el tambo 2, donde no se practicó IATF sino solo IA a celo detectado, la inseminación sólo alcanzó el 75%, lo que afectó el porcentaje de preñez. Esta incidencia en las tasas de preñez obtenidas con diferentes tratamientos de inducción de la ovulación en vacas lecheras en anestro asociados con detección de celo han sido bajas en nuestras condiciones de explotación (de Nava y Cavestany, 1996; de Nava y Cavestany, 2000). Con el 75% de animales inseminados, se logró una concepción de 37,4%. A pesar de ello, los tratamientos pueden estar igualmente justificados ya que muchos animales que no se preñan ante la IATF, reinician la ciclicidad luego de la inducción, aumentando notablemente su posibilidad de gestación.

En general las vacas ciclando al inicio del tratamiento mostraron una tendencia a tener mejores resultados de preñez, independientemente del tratamiento utilizado. Esta observación concuerda con lo publicado por Chebel et al (2010) en el que las vacas clasificadas como cíclicas de acuerdo a sus concentraciones plasmáticas de P4 mostraron mejores resultados de preñez a los 40 y 60 días. A su vez, Stevenson et al (2006) trabajando con vacas cíclicas y en anestro registraron mayores pérdidas embrionarias entre los días 28 y 56 pos IA en estas últimas, lo que podría explicar en parte la menor fertilidad de las mismas y la influencia hormonal en el mantenimiento de la preñez.

Se evaluó la eficiencia reproductiva de las vacas de acuerdo a la paridad con resultados variables entre tambos. En este sentido hay reportes de una mejor respuesta de las vacas primíparas a protocolos de sincronización de la ovulación (de Nava et al, 2010). Probablemente el mayor estrés productivo y metabólico al que están sometidas las vacas de más lactancias sea la causa de una disminución en su eficiencia reproductiva. Martins et al (2011) propusieron que la ineficacia en la lisis del CL de los programas reproductivos con PG en vacas lactantes produciría un descenso importante en la preñez final. de Nava et al (2010), en un estudio que recopiló los resultados obtenidos sobre 2659 vacas ciclando, durante cuatro años de aplicación de un programa de IATF iniciado al primer día de la estación reproductiva invernal, observaron que la preñez se vio afectada por el número de lactancia, disminuyendo de 48,8%, 48,2%, 43,1% y 40,5% para vacas de 1, 2, 3 y 4 o más lactancias respectivamente ($P<0,05$). Esta diferencia se mantuvo en las tasas de preñez acumuladas (incluyendo los servicios realizados durante un periodo de 30 días pos IATF), siendo de 63,7%, 62,9%, 59,8% y 56,7% para las vacas de 1, 2, 3 y 4 o más lactancias respectivamente ($P<0,05$).

Es interesante que en nuestro trabajo, los porcentajes de preñez no variaran para el tambo 2 que no hizo IATF respecto al tambo 3 en el que casi la totalidad de los animales fueron inseminados a tiempo fijo. Lo que sí es destacable, es que en el tambo 2 un 25% de las vacas no fueron detectadas en celo y por consiguiente tampoco inseminadas, lo que pudo afectar el resultado. Stevenson y Phatak (2005) reportan niveles de preñez mayores en vacas inseminadas luego de ser detectadas en celo en el

marco de un protocolo Heatsynch (44,6% vs 21,6% para celo visto y tiempo fijo respectivamente); Kasimanickam et al (2005) observaron también mejores resultados de fertilidad en aquellos animales inseminados luego de ser detectados en celo utilizando protocolo Heatsynch. En el tratamiento Heatsynch los valores obtenidos por estos autores fueron 36% vs 15,5% para las vacas inseminadas bajo detección de celo e IATF respectivamente ($P < 0,001$).

8. Conclusiones generales

Podemos concluir que dentro de la evaluación de las formulaciones de estradiol obtuvimos parámetros muy variables y disimiles entre productos, mientras que E17b resultó en el que generó mejor respuesta conductual de estro su respuesta a la ovulación y sincronización no resultó del todo efectiva. EB mostró prometedores respuestas ovulatorias, expresiones conductuales de $\frac{2}{3}$ de los animales y sincronía al seguimiento ovulatorio por ultrasonografía. Por el contrario ECP mostró escasa respuesta conductual y mala respuesta ovulatoria. Los DIV mostraron niveles sanguíneos moderados, estables, prolongados y más predecibles que MAD-4, aunque estos últimos llevaron a valores importantes por un tiempo hasta 24 hs.

A nivel de experimentos de campo con protocolos IATF modificados en animales ciclando, en anestro, primíparas y multíparas, no se observaron diferencias en los porcentajes de preñez entre los dos tratamientos en ninguno de los tres tambos, lo que deja planteada la alternativa de sustituir los dispositivos intravaginales por una presentación inyectable de liberación lenta, de más fácil aplicación, sin generar residuos contaminantes ambientales y obteniendo similares resultados en cuanto a fertilidad. La variación entre tambos refleja que existen otros factores de manejo, ambientales y nutricionales que afectan la fertilidad independiente de protocolos de sincronización utilizados.

9. Referencias bibliográficas

- 1.** Baruselli P.S., Reis E.L., Marques M.O., Nasser L.F, Bo G.A. (2004). The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 479-486.
- 2.** Bleach E.C.L, Glencross R.G, Knight P.G. (2004). Association between ovarian follicle development and pregnancy rate in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*, 127: 621-629.
- 3.** Bo G.A, Cutaia L. (2007). Instituto de Reproducción Animal de Córdoba. Unidad 4: Tratamientos de sincronización de celos en bovinos utilizando progestágenos y estrógenos. Pp: 109-130.
- 4.** Bo G.A., G. P. Adams, R. A. Pierson, and R. J. Mapletoft. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31 – 40.
- 5.** Bo G.A, Adams G.P, Nasser L.F, Pierson R.A, Mapletoft R.J. (1993) Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology* 40: 225-239.
- 6.** Bo G.A, Adams G.P, Pierson R.A, Mapletoft R.J. (2000) Local versus systemic effects of exogenous estradiol on ovarian follicular dynamics in heifers with progesterone ear implants. *Anim Reprod Sci* 59: 141-157.
- 7.** Bo G.A, Adams G.P, Pierson R.A, Tribulo, H.E. Caccia M., Mapletoft R.J. (1994) Follicular wave dynamics after estradiol-17 treatment of heifers with or without a progesterone implant. *Theriogenology* 41: 1555-1569.
- 8.** Bo G.A, Baruselli, P.S, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft R.J. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57: 53-72.
- 9.** Bo G.A, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Pincinato D, Peres L, Maraña D, Avilés M, Menchaca A, Veneranda G, Baruselli PS. (2005) Implementación de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de Argentina. Resúmenes del VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina 97-128.
- 10.** Bo GA, P.S. Baruselli, M.F. Martinez. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78:307-326.
- 11.** Bo, G.A., Cutaia, L., Brogliatti, G.M., Medina, M., Tríbulo, R., Tríbulo, H. (2001). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. Resúmenes Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba; 117-136.

- 12.**Bo, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. (2002). Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. *Taurus Bs. As.*, 4(14): 10-21.
- 13.**Bo, G.A., Medina, M., Tegli, J.C., Costamagna, A., Brogliatti, G.M. (2000). Fixed-time artificial insemination in CIDR-B treated cows induced to ovulate with estradiol benzoate or GnRH. *Proc. 14th International Congress on Animal Reproduction (ICAR)*, Stockholm, Sweden; 2:45 abstr.
- 14.**Burke C.R., Day M.L., Bunt C.R. Macmillan K.L. (2000). Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.* 78: 145 – 151.
- 15.**Burke, C.R., Mussard, M.L., Grum, D.E., Day, M.L. (2001). Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of estrus and ovulation in cattle with estradiol benzoate. *Anim Reprod Sci*; 66:151-160.
- 16.**Butler, W.R. (1998). Review effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.
- 17.**Caccia M, Bo G.A. (1998). Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*, 49: 341.
- 18.**Cairolí F, Mollo A, Veronesi M.C, Renaville B, Faustini M, Battocchio M. (2006). Comparison between cloprostenol-induced and spontaneous oestrus fertility in dairy cows. *Reproduction Domestic Animal*, 41: 175-179.
- 19.**Capitaine Funes, A. (2005). Factores que afectan la tasa de preñez en rodeos lecheros en Argentina. *Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC* 5:179-196.
- 20.**Cavestany D, Fernández D, Salazar E, Sanchez A, Leyton L, Crespi D. (2008). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holstein ovariectomizadas. *XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría*, Paysandú, Uruguay.
- 21.**Cavestany, D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de Uruguay. *Jornadas Uruguayas de Buiatría* 30:154-163.
- 22.**Cavestany, D.; de Nava, G.; Galina, C. (2000). Sincronización de celos con inseminación artificial a tiempo fijo como alternativa para incrementar la eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo. *Congreso Mundial de Buiatría* 21:37.

- 23.** Cavestany, D; Galina, C.S. (2001). Factors affecting the reproductive efficiency of artificial insemination programs in a seasonal breeding pasture-based dairy system with the aid of milk progesterone. *Reprod. Domestic. Animals.* 36(2): 85-89.
- 24.** Colazo M.G, Dias F.C, Lightfoot K, Dochi O, Kastelic J.P, Mapletoft R.J. (2007). Pregnancy rate following timed-AI in beef heifers treated with Cue-mate and pLH or GnRH. *Reproduction Fertility Development*, 19: 122.
- 25.** Colazo M.G, Kastelic J.P, Martínez M.F, Whittaker P.R, Wilde R, Ambrose J.D, Corbett R, Mapletoft R.J (2004). Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. *Theriogenology* 61: 1115-1124.
- 26.** Colazo M.G, Kastelic J.P, Mapletoft R.J. (2003) Estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-B-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 60: 855-865.
- 27.** Colazo M.G, Martínez M.F, Small J.A, Kastelic J.P, Burnley C.A, Ward D.R, Mapletoft R.J. (2005). Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology* 63: 1454-68.
- 28.** Colazo M.G., Bó G.A., Illuminanti H., Meglia G., Schmidt E.E., Bartolome J. (1999). Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology* 55:408 (abstract).
- 29.** Colazo, M.G., Martínez, M.F., Whittaker, P.R., Kastelic, J.P. and Mapletoft, R.J. (2002). Estradiol cypionate (ECP) in CIDR-B-based programs for fixed time AI in beef heifers. *Theriogenology*; 57:371 abstr.
- 30.** Cutaia L, Moreno D, Villata M.L, Go, G.A. (2001). Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology* 55: 244 abstr.
- 31.** Christian R.E, Casida L.E. (1948). The effects of progesterone in altering the oestrous cycle of the cow. *Journal Animal Sciences*, 7: 540.
- 32.** de Nava GT, Rodríguez Sabarrós M, Romero D, Rodríguez Galluzzo J, Gil A. (2010). Resultados de cuatro años de aplicación de un programa de inseminación a tiempo fijo en vacas lecheras coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal. *Jornadas Uruguayas de Buiatría*; 38: 106-107
- 33.** de Nava, G. T. (2011) Un manejo reproductivo controlado en tambos de Uruguay. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría Pp: 35-43.
- 34.** de Nava, G.; Rodríguez Sabarrós, M.; Romero, D...; Rodríguez Galluzzo, J.; Gil, A. (2005). Comportamiento reproductivo en vacas lecheras sometidas a un programa

de inseminación a tiempo fijo en cuatro establecimientos de Uruguay.VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC 6:399.

- 35.**de Nava, G.T. (2001). Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo para vacunos en condiciones de explotación uruguayas. In: Aspectos Sanitarios y Reproductivos en Bovinos. Seminario JICA/DILAVE Agosto 2001. Treinta y Tres.86-95.
- 36.**De Olarte C, D. Cavestany, y G. de Nava. (2013). Comparación de dos formulaciones de progesterona en un protocolo de inducción de celos con inseminación a tiempo fijo en vacas de carne en anestro posparto. Veterinaria (Montevideo) 49: 4.
- 37.**Dejarnette J.M., R.W. Wallace, R.B. House, R.R. Salverson, C.E. Marshall. (2001). Attenuation of premature estrous behaviour in postpartum beef cows synchronized to estrus using GnRH and PGF2 α . Theriogenology 56: 493-501.
- 38.**DeJarnette, J.M. (2004). Sistemas de reproducción programada en rodeos lecheros: ¿Cómo se ha vuelto tan complicado preñar las vacas? Jornadas Taurus de Reproducción Bovina 2:74-85.
- 39.**DIEA, (2012). Anuario Estadístico Agropecuario. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, MGAP, Uruguay.
- 40.**Diskin M.G., E.J. Austin, J.F. Roche. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. Domestic Animal Endocrinology 23: 211-228.
- 41.**Dobson, H; Smith, RF; Royal, MD; Knight, CH; Sheldon IM. (2007). The high producing dairy cow and its reproductive performance. Reprod. Domestic. Anim. 42(Suppl. 2): 17-23.
- 42.**El-Zarkouny S.Z, Cartmill J.A, Hensley B.A, Stevenson J.S. (2004). Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. J Dairy Sci 87: 1024-1037
- 43.**Filippi, L.; Balla, E.; Veneranda, G.; Racca, D.; Maraña Peña, D.; Pincinato, D.; Cutaia, L.; Bo, G. (2005). Porcentaje de preñez en vacas lecheras tratadas con distintos protocolos de sincronización de la ovulación utilizando dispositivos con progesterona. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC 6:403
- 44.**Garnica, P (2012). Efecto de la gonodotrofina coriónica equina (eCG) en la ovulación de protocolos IATF en vacas Holstein. Cuenca: Universidad de Cuenca
- 45.**Holmes, C. W.; Brookes, I.M.; Garrick, D.J.; Mackenzie; D.D.S.; Parkinson, T.J.; Wilson G.F. (2002). Milk production from pasture. Principles and Practices. Ed. Massey University. 602 pag.

46. Lamb G. C., J. S. Stevenson, D. J. Kesler, H. A. Garverick, D. R. Brown, and B. E. Salfen. (2001). Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2 α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79: 2253 - 2259.
47. Larson J.E., G.C. Lamb, J.S. Stevenson, S.K. Johnson, M.L. Day, T.W. Geary, D.J. Kesler, J.M. Dejarnette, F.N. Schrick, A. Dicostanzo, J.D. Arseneau. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 α , and progesterone. *J Anim Sci* 84:332-342.
48. Larson L.L, Ball P.J.H. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology*, 38: 255-267.
49. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating. *Anim Reprod Sci* 2004;81:209-2023.
50. Macmillan K.L, Peterson A.J. (1993) A new intravaginal progesterone-releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anestrus. *Anim Reprod Sci* 33: 1-25.
51. Macmillan, K.L. (2009). Review: Recent advances in synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *International Symposium on Declining Fertility in Dairy Cows in the World: Its Causes and Possible Solutions*. 1-27.
52. Macmillan, K.L., Colson, D.D., Eagles, V.M. (1999). Modifications to improve whole herd synchrony programs in seasonal dairy herds. *Proc Australian Assoc of Cattle Vet*; 121-129.
53. Mapletoft R.J, Martínez M.F, Adams G.P, Kastelic J, Burnley C.A. (1999) The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet-implanted cattle. *Theriogenology* 51: 411 abstr.
54. Mapletoft R.J, Martinez M.F, Colazo M.G, Kastelic J.P. (2003). The Use of Controlled Internal Drug Release Devices for the Regulation of Bovine Reproduction. *Journal Animal Sciences*, 81(E. Suppl. 2): E28–E36.
55. Mapletoft R.J., G.A. Bó, P.S. Baruselli. (2009). Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Anim Reprod* 6:114-124.
56. Martínez M.F, Colazo M.G, Kastelic J.P, Mapletoft R. J.(2002) Effects of estradiol-17 or estradiol benzoate on follicular dynamics in CIDR-B-treated beef heifers. *Theriogenology* 57: 382 abstr.
57. Martinez M.F, Kastelic J.P, Adams G.P, Cook R.B, Mapletoft R.J. (1999). Synchronization of ovulation for fixed-time insemination in heifers. *Theriogenology*, 51: 412.

- 58.** Martínez M.F, Kastelic J.P, Adams G.P, Mapletoft R.J. (2000). The use of CIDR-B devices in GnRH/LH-based artificial insemination programs. *Theriogenology*, 53: 202.
- 59.** Martínez M.F, Kastelic J.P, Bo G.A, Caccia M, Mapletoft R. J. (2005). Effects of oestradiol-17 and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 86: 37-52.
- 60.** Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Cook, B., Olson, W.O., Mapletoft, R.J. (2002). The use of progestins for fixed-timed artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*; 57: 1049-1059.
- 61.** Mc. Dougall, S. (2006). Reproductive performance and management of dairy cattle. *J. Reprod. Dev.* 52:185-194.
- 62.** Menchaca A., Núñez R., Wijma R. García Pintos C, Fabini F, de Castro T.. (2013). Como mejorar la fertilidad de los tratamientos de IATF en vacas Bos taurus. X Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 103-134.
- 63.** Meneghetti M., Sá Filho O.G., Peres R.F.G., Lamb G.C., Vasconcelos J.L.M.. (2009). Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for bos indicus cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72: 179 – 189.
- 64.** Montiel F., Ahuja C.. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science* 85 (2005) 1-26.
- 65.** Moreira, F.; Flores, R.; Boucher, J. (2004). Use of CIDR with a timed insemination protocol in lactating dairy cows during summer in Mexico. *J. Anim. Sci.* 82(suppl.1): 373.
- 66.** Odde K.G. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 817-830.
- 67.** Patterson D.J., Thomas J.M., Martin N.T., Nash J.M., Smith M.F. (2013). Control of estrus and ovulation in beef heifers. *Vet. Clin. Food Anim.* 29: 591-617.
- 68.** Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 Alfa and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
- 69.** Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C.; Stevenson, J.S.; Ottobre, J.S.; Garverick, H.A.; Anderson, L.L. (1997a). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300
- 70.** Pursley, J.R.; Kosorok, M.R.; Wiltbank, M.C. (1997b). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation *J. Dairy Sci.* 80:301- 306.

- 71.**Pyman, M.F.; Macmillan K.L., (2010). A summary of current and recent research that shows the contrasting “capacities” of modern Holsstein-Frisian. British Cattle Veterinary Association. Cattle Practice 1-24.
- 72.**Robson C., Aller J.E., Callejas S., Cabodevila J., Alberio R.H. (2007). Factores que afectan el anestro posparto en bovinos. Sitio Argentino de Producción Animal. 1-16.
- 73.**Rovere, F. (2010). Objetivos y criterios de selección en sistemas lecheros Uruguayos. Jornadas Uruguayas de Buiatría 38:65-71.
- 74.**Saldarriaga J. P., Cooper A., Cartmill J. A., Zuluaga J. F., Stanko R. L., Williams G. L. (2007). Ovarian, hormonal, and reproductive events associated with synchronization of ovulation and time appointment breeding of *Bos indicus* – influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F2 α . J. Anim. Sci. 85: 151-162.
- 75.**Sales J.N.S., Carvalho J.B.P., Crepaldi G.A., Cipriano R.S., Jacomini J.O., Maio J.R.G., Souza J.C., Nogueira G.P., Baruselli P.S. (2012). Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos Indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. Theriogenology 78: 510 – 516.
- 76.**Sartori R, Rosa GJ, Wiltbank MC. (2002). Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating cows and dry cows in winter. J Dairy Sci 85:2813-2822.
- 77.**Savio J.D, Thatcher W.W, Morris G.R, Entwistle K, Drost M, Mattiacci M.R. (1993). Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. Journal Reproduction Fertility, 98:77-84.
- 78.**Schafer D.J., Bader J.F., Meyer J.P., Haden J.K., Eilersieck M.R., Lucy M.C., Smith M.F., Patterson D.J. (2007). Comparison of progestin-based protocols to synchronize estrus and ovulation before fixed-time artificial insemination in postpartum beef cows. J Anim Sci 85:1940-1945.
- 79.**Schmitt E. J. P., Drost M., Diaz T., Roomes C., Thatcher W. W. (1996). Effect of a GnRH agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. J. Anim. Sci. 74:154 – 161.
- 80.**Small J.A., Colazo M.G., Kastelic J.P. Mapletoft R.J. (2009). Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH – based, timed – AI in beef cattle. Theriogenology 71: 698 – 706.
- 81.**Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA, Fricke PM, Kesler DJ, Ottobre JS, Wiltbank MC. (2006). Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. J Dairy Sci 89:2567-78.

- 82.**Thatcher, W.W.; Bartolome, J.A. (2005). Aplicación integrada de programas de control de la ovulación en el manejo reproductivo lechero. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC 6:199-218.
- 83.**Thatcher, W.W.; Bilby, T.R.; Bartolome, J.A.; Silvestre, F.; Staple, C.R.; Santos, J.E.P. (2006). Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology* 65: 30-44.
- 84.**Thundathil J, Kastelic J.P, Mapletoft R. J. (1997). Effect of estradiol cypionate administration on ovarian follicular wave dynamics in cattle. *Can J Vet Res* 61: 314-316.
- 85.**Twagiramungu H., Guilbault L. A., Dufour J. J.. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a GnRH agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 73:3141 – 3151.
- 86.**Van Eerderburg, F.C. (2009). Detección de celo en vacas lecheras: como vencer al toro. *Jornadas Uruguayas de Buiatría* 37:44-54.
- 87.**Vynckier L, Debackere M, de Kruif A, Coryn M. (1990). Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol- 17 β benzoate and estradiol-17 β cyprionate-a preliminary study. *J Vet Pharmacol Ther* 13:36-42.
- 88.**Weigel, K.A. (2006). Prospects for improving reproductive performance through genetic selection. *Anim. Reproduc. Sci.* 96:323-330.
- 89.**Whittier D.W. (1998). Optimizing fertility in the beef herd. *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, pp. 429-441.
- 90.**Wiltbank M. C., A. Gumen, and R. Sartori. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21–52.
- 91.**Yavas Y., Walton J.S. (2000). Induction of ovulation in postpartum suckled cows: A review. *Theriogenology* 54:1-23.

10. ANEXOS

VETERINARIA



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXXV - Volumen 51 - Nº 197 - Enero a Marzo de 2015 - ISSN 1688-4809

Indizada en: VET-CD/BEASTCD, Latindex

CONTENIDO:

SOBRE LA REVISTA (ABOUT THE JOURNAL) 2

Evaluación biológica y económica de diferentes pesos al destete de corderos cruza Dorper y Southdown en pastoreo restringido sobre Trébol rojo y Achicoria

Biological and economic evaluation of different weights at weaning of crosses Dorper and Southdown lambs in restricted grazing on Red clover and Chicory

Bianchi G, Rivero J, Carvalho S, Bortagaray A, Fraga N, Rodríguez A 4

Actividad acaricida del aceite esencial del *Azadirachta indica* en el tratamiento de la sarna demodéica del perro

Acaricide activity of the essential oil of *Azadirachta indica* in the treatment of dog demodectic scabies

Labrada Hechavarría Y, Cordoví Velázquez JM, Rapado Paneque M, Perdomo Rivera R 11

Comparación de diferentes formulaciones de estradiol y de progesterona en un protocolo de sincronización de celos en vacas Holando en lactancia en un sistema pastoril; perfiles hormonales y respuesta ovárica

Comparison of different estradiol and progesterone formulations in an estrus synchronization protocol in lactating Holstein cows in a pasture-based system; hormonal profiles and ovarian response

Martínez-Barbitta M, González-Guasque W, Martínez-Piña M, Cavestany D 24

Biofilm: importancia en la práctica veterinaria

Biofilm: importance in clinical veterinary practice

Villamizar Rodríguez IE 36

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES (INSTRUCTIONS FOR AUTHORS)..... 42

Comparación de diferentes formulaciones de estradiol y de progesterona en un protocolo de sincronización de celos en vacas Holando en lactancia en un sistema pastoril; perfiles hormonales y respuesta ovárica

Comparison of different estradiol and progesterone formulations in an estrus synchronization protocol in lactating Holstein cows in a pasture-based system; hormonal profiles and ovarian response

Martínez-Barbitta M^a, González-Guasque W^b, Martínez-Piña M^b, Cavestany D^{c*}

^{a*} Doctor. en Ciencias Veterinarias (DCV), Programa de Posgrados, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay ^b DCV, Ejercicio liberal, Uruguay ^c Doctor en Veterinaria (DV), MSc., PhD. 2Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay ^{*} Autor para correspondencia: Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacés 1620, 11700 Montevideo, Uruguay. E-mail: daniel.cavestany@gmail.com

Veterinaria (Montevideo) Volumen 51
Nº 197 (2015) 24-35

Recibido: 6/5/2014
Aceptado: 28/7/2014

Resumen

El objetivo fue evaluar tres formulaciones de estradiol (E_2) [5 mg de 17β (E17), 1 mg de benzoato (EB) y 1 mg de cipionato (ECP)] y dos presentaciones de la progesterona (P_4) - dispositivo intravaginal (DIV) con 558 mg de P_4 y 200 mg de P_4 parenteral (MAD-4) - en un protocolo de sincronización de la ovulación. Se seleccionaron 30 vacas Holando en ordeño que fueron presincronizadas con una combinación de GnRH y prostaglandina (PG) administradas con siete días de intervalo y que manifestaron celo en el mismo día; a los 10 días de éste se formaron 6 grupos (n=5 c/u): 1) DIV + EB: día 0: DIV + EB; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: EB. 2) DIV + E17: día 0: DIV + E17; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: E17. 3) DIV + ECP: día 0: DIV + ECP; Día 8: PG y retiro del DIV + ECP. 4) MAD-4 + EB: día 0: MAD-4 + EB; Día 8: PG; Día 9: EB. 5) MAD-4 + E17: día 0: MAD-4 + E17; Día 8: PG; Día 9: E17. 6) MAD-4 + ECP: día 0: MAD-4 + ECP; Día 8: PG + ECP. La respuesta fue evaluada por los niveles plasmáticos de E_2 , P_4 y ecografía ovárica. Las concentraciones máximas de P_4 se registraron una hora después del tratamiento (7.3 ± 0.7 ng/mL DIV y 16.1 ± 0.7 ng/mL MAD-4; $P < 0.0001$); seis horas más tarde se redujeron a 5.7 ± 0.7 ng/mL DIV y 11.2 ± 0.7 ng/mL MAD-4

Abstract

The objective was to evaluate three estradiol (E_2) formulations [5 mg of 17β (E17), 1 mg of benzoate (EB) and 1 mg of cypionate (ECP)] and two presentations of progesterone (P_4) - intravaginal device (DIV) with 558 mg of P_4 200 mg of P_4 parenteral (MAD-4) - in an ovulation synchronization protocol. Thirty lactating Holstein cows were presynchronized with a combination of GnRH and Prostaglandin (PG) given seven days apart and responding with a standing heat on the same day were selected; 10 days 6 groups were formed (n=5 each): 1) DIV+EB: Day 0: DIV + EB; Day 8: PG and DIV withdraw; Day 9: EB. 2) DIV+E17: Day 0: DIV + E17; Day 8: PG and DIV withdraw; Day 9: E17. 3) DIV+ECP: Day 0: DIV + ECP; Day 8: PG, DIV withdraw + ECP. 4) MAD-4+EB: Day 0: MAD-4 + EB; Day 8: PG; Day 9: EB. 5) MAD-4 + E17: Day 0: MAD-4 + E17; Day 8: PG; Day 9: E17. 6) MAD-4 + ECP: Day 0: MAD-4 + ECP; Day 8: PG + ECP. The response was evaluated by plasma levels of E_2 and P_4 and ovarian ultrasonography. The maximum average P_4 concentrations were reached one hour after the treatment (7.3 ± 0.7 ng/mL DIV and 16.1 ± 0.7 ng/mL MAD-4; $P < 0.0001$); six hours later were reduced to 5.7 ± 0.7 ng/mL DIV and 11.2 ± 0.7 ng/mL MAD-4 respectively ($P < 0.0001$). E_2 concentrations

respectivamente ($P<0.0001$). Las concentraciones de E_2 alcanzaron un máximo 4 horas después del tratamiento para grupos E17 y EB y 28 h después del tratamiento para grupos de ECP. Las concentraciones máximas fueron E17: 641.5 ± 11.5 pg/mL, EB: 166.5 ± 11.5 pg/mL y ECP: 45.6 ± 10.9 pg/mL ($P<0.0001$). E_2 volvió a los niveles iniciales 40 horas más tarde en grupos E17 y EB y 80 horas en grupos de ECP. Los diámetros foliculares en el día 8, fueron 14.9 ± 1.4 y 14.4 ± 1.3 mm para las vacas EB y E17 y 10.9 ± 1.4 para los animales ECP ($P<0.05$). La ovulación ocurrió más temprano en los grupos EB y el porcentaje de vacas ovulando fue 88,9% en E17, 66,7% en EB y 30,0% en ECP ($P<0.05$).

Palabras clave: vacas lecheras, sincronización de celo, ovulación, estradiol, progesterona

Introducción

La disminución en la eficiencia reproductiva en vacas Holando de alta producción es un problema ampliamente reconocido y entre las razones se mencionan cambios hormonales que afectan la endocrinología reproductiva tales como reducción en niveles de insulina e IGF-I, que comprometen la función ovárica (Macmillan, 2010). En estos animales un aumento del metabolismo que incluye un incremento en la función hepática induce una degradación más rápida del estradiol que resulta en una reducción en la intensidad del celo (López y col., 2004, Wiltbank y col., 2006), lo que dificulta su detección. Es por eso que desde que se demostró que la ovulación se podía programar manipulando hormonalmente el eje hipófiso-gonadal (Pursley y col., 1995) una gran cantidad de protocolos que incluyen inseminación artificial a tiempo fijo (FTIA) han sido desarrollados en los cuales el control de la dinámica folicular y la ovulación han representado un avance fundamental en el desarrollo de tratamientos de sincronización de celos y de ovulación (Lucy y col., 2001).

Los primeros protocolos diseñados para sincronizar las ondas foliculares se basaban en el uso de GnRH (Pursley y col., 1995), el cual fue posteriormente sustituido por Estradiol (Colazo y col., 2003). Estos protocolos estimulan un celo natural cuando los estrógenos se aplican luego de la regresión luteal inducida por Prostaglandinas (PG) (Vynckier y col., 1990). Existe una amplia gama de prepa-

rados a base de estrógenos naturales o en sales sintéticas; éstas poseen absorción retardada desde el lugar de inyección y el estradiol 17β (E_2) activo es liberado después de la hidrólisis. Cuánto más larga es la cadena del éster más baja es su solubilidad y más demora la absorción de la dosis completa. Por consiguiente, la vida media de las sales difiere acorde a su estructura (Souza y col., 2005); es así que el benzoato de estradiol (EB) tiene una vida media más corta que el cipionato de estradiol (ECP) (Bo y col., 2000).

Keywords: dairy cows, estrus synchronization, ovulation, estradiol, progesterone

En muchos protocolos de sincronización se emplea progesterona (P_4) en forma de dispositivos intravaginales (DIV) con la finalidad de mantener exógenamente los niveles sanguíneos controlados y estables de esta hormona durante un tiempo determinados hasta su extracción (Colazo y col., 2002; Martínez y col., 2005) lo que ha resultado en una mejora en la fertilidad, tanto en vacas cíclicas como en anestro (Murugavel y col., 2003; Stevenson y col., 2006; Chebel y col., 2010). Sin embargo, el problema de la contaminación ambiental ocasionada por el deshecho de dispositivos de silicona con la mayor parte de la P_4 luego de su utilización ha llevado al desarrollo de nuevas presentaciones de progesterona natural inyectable (Cavestany y col., 2008).

Se han evaluado varias sales de estradiol administradas al inicio de los tratamientos juntamente con dispositivos

de progesterona, al día de la retirada de éstos o al día siguiente, con resultados variables (Burke y col., 2003; Souza y col., 2005). Sin embargo, no se han estudiado las correlaciones entre los niveles plasmáticos obtenidos con las diferentes drogas con el comportamiento reproductivo obtenido en los animales. Asimismo no se han presentado reportes que combinen diferentes sales de estradiol con diferentes formulaciones de progesterona. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la de dos presentaciones de progesterona y tres formulaciones de estradiol sobre los perfiles plasmáticos hormonales de E_2 y P_4 , el desarrollo folicular y la ocurrencia de celos y ovulaciones en vacas lecheras presincronizadas con una combinación de GnRH y PG.

Materiales y métodos

Animales y tratamientos

Los procedimientos con animales fueron previamente aprobados por la Comisión de Ética en Uso de Animales (CEUA) de la Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. El experimento se realizó en la Unidad de Lechería del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) (La Estanzuela, Colonia, Uruguay). De 280 animales en ordeño se seleccionaron 54 vacas multiparas, vacías y ciclando, en lactancia tardía (224 ± 64 días), de condición corporal de $2,5 \pm 0,3$ (escala de 1 a 5, Edmonson y col., 1989), con una producción diaria de leche de $12,5 \pm 2,4$ L. La alimentación consistió en pastoreo de mezcla de gramíneas y leguminosas complementada con silo de maíz (12 kg/MF/vaca/día) y 2 kg de concentrado comercial (19% PC y 1,7 Mcal/kg NEL) administrado en el momento de cada ordeño.

Diez días antes del comienzo de los tratamientos las vacas se presincronizaron con GnRH (0,25 mg de Gonadorelina; Fertagyl, MSD Salud Animal, Sinervia, Montevideo, Uruguay) y, siete días más tarde, con 150 mcg de un análogo de PG (Prostaglandina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Se colocaron parches para ayudar a la detección de celo (Estroject, Gensur, Uruguay) y se realizó detección visual de celo durante media hora tres veces por día. Se seleccionaron 30 vacas que mostraron celo en un mismo día (48 horas luego de la administración de PG). El diseño experimental consistió en una combi-

nación de las tres formulaciones de E_2 y dos de P_4 . Para el tratamiento los animales se distribuyeron en 6 grupos equilibrados en base a DPP, CC y producción de leche ($n=5$ cada uno) y se utilizaron dispositivos intravaginales (DIV) de 558 mg de P_4 natural (Cronipres M-24, Laboratorio Biogénesis-Bagó, Montevideo, Uruguay) o 200 mg de P_4 natural inyectable (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Se utilizaron además tres formulaciones de estradiol: 1 mg de benzoato de estradiol (EB, Estradiol 10 Benzoato, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina), 5 mg de estradiol 17 β (E17, Estradiol 17 β Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) o 1 mg de cipionato de estradiol (ECP, ECP Estradiol, Laboratorios König, Montevideo, Uruguay) todos administrados vía intramuscular en el Día 0. La PG fue 150 μ g de d-cloprostenol (PG; Prostaglandina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina), por vía intramuscular. Los grupos experimentales quedaron formados de la siguiente manera:

1. DIV+EB ($n=5$): Día 0: DIV + EB; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: EB.
2. DIV+E17 ($n=5$): Día 0: DIV + E17; Día 8: PG y retiro del DIV; Día 9: E17.
3. DIV+ECP ($n=5$): Día 0: DIV + ECP; Día 8: PG + retiro del DIV + ECP.
4. MAD-4+EB ($n=5$): Día 0: MAD-4 + EB; Día 8: PG; Día 9: EB.
5. MAD-4 + E17 ($n=5$): Día 0: MAD-4 + E17; Día 8: PG; Día 9 E17.
6. MAD-4 + ECP ($n=5$): Día 0: MAD-4 + ECP; Día 8: PG + ECP.

Se obtuvo sangre por punción yugular en tubos heparinizados al inicio del tratamiento de sincronización, hora 0 y a las horas 1, 6, 24, 48, 96, 144, 192, 196, 199 y 202 posteriores para determinar niveles plasmáticos de P_4 (a la hora 192 se retiraron los DIV). Se realizaron sangrados adicionales cada 4 horas para determinar niveles plasmáticos de E_2 , desde el momento previo a la administración de los tratamientos hasta 68 horas para el E17 y EB y hasta 92 horas para ECP. La sangre fue centrifugada dentro de las dos horas de obtenida y el plasma separado y conservado a -20°C hasta su análisis.

Determinaciones hormonales

Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria. La progesterona se analizó por RIA en fase sólida (^{125}I Progesterona CAC, Siemens SA, Montevideo, Uruguay). La sensibilidad del ensayo fue de 0,02 ng/mL y los coeficientes de variación intraensayo para controles bajo (0,8 ng/mL), medio (8,0 ng/mL) y alto (15 ng/mL) fueron de 7,6%, 10,3% y 5,9%, respectivamente. La variación interensayo fue de 9,3%, 11,8% y 6,3% para los mismos controles. Para la determinación de estradiol se empleó RIA en fase líquida (^{125}I Estradiol DA, Siemens SA, Montevideo, Uruguay) de acuerdo al método descrito por Meikle y col., (2001). La sensibilidad del ensayo fue de 1,4 pg/mL. Los coeficientes de variación interensayo fueron de 25,5%, 20,3% y 21,6% e intraensayo de 16,4%, 15,7% y 16,7% para controles bajos (7,8 pg/mL), medios (62,5 pg/mL) y altos (250 pg/mL), respectivamente.

Ultrasonografía

Desde el comienzo de los tratamientos de sincronización se realizó diariamente ultrasonografía ovárica por vía transrectal (Aloka SSD-500, Tokio, Japón) utilizando un transductor de 5 MHz para determinación del crecimiento folicular y presencia de cuerpo lúteo. A partir del D9 se realizó ecografía cada 4 horas para determinar el diámetro folicular máximo y el momento de la ovulación.

Detección de celo

Desde el D7 y durante 15 minutos cada 4 horas se realizó detección visual de celo. Asimismo se volvieron a colocar dispositivos de ayuda de detección de celos (Estrotest, Gensur SRL, Uruguay).

Análisis estadístico

Para el análisis de variables continuas con más de una medición durante el transcurso del experimento (concentraciones hormonales y crecimiento folicular) se utilizó un modelo mixto: PROC MIXED del SAS (Littell y col., 1998), que incluyó como efectos fijos: tratamiento, día e

interacciones. La estructura de covarianza utilizada fue AR (1) y las medidas repetidas se realizaron sobre la unidad vaca anidada dentro de tratamiento por día. La ocurrencia de la ovulación se analizó por el PROC GENMOD de SAS (SAS Institute Inc., Cary NC, USA). El área bajo la curva, como medida global de los perfiles de liberación plasmática de las formulaciones evaluadas, se calculó por el método de trapezoides (Matthews y col., 1990). Se determinó el nivel de significancia en 5%.

Resultados

Estradiol

La concentración de E_2 a la segunda dosis (D9 en E17 y EB, D8 en ECP) fue en promedio de $11,6 \pm 6,6$, similar para todos los grupos ($P > 0,1$). El pico de E_2 se detectó a las 4 horas luego del tratamiento para los grupos E17 y EB y a las 32 horas para los grupos ECP ($P < 0,0001$). Los valores máximos en la concentración también fueron distintos para las tres formulaciones de E_2 ya que se registraron valores promedio de $652,6 \pm 66,1$ pg/mL para los grupos E17, $169,8 \pm 72,3$ pg/mL para EB y para los grupos ECP de $45,6 \pm 22,6$ pg/mL ($P < 0,001$). Luego del pico las concentraciones en los grupos E17 regresaron a los valores iniciales a las 16 horas manteniéndose así hasta el final del período. En los grupos ECP el pico fue menos pronunciado y las concentraciones descendieron 8 horas después (Cuadro 1 y Figura 1).

Progesterona

Las características de los perfiles plasmáticos de P_4 entre los días 0 y 8 se presentan en el Cuadro 2 y la Figura 2. Los niveles plasmáticos al comienzo del tratamiento fueron de $4,4 \pm 0,3$ y $5,2 \pm 0,3$ ng/mL para DIV y MAD-4 respectivamente ($P > 0,1$). Las concentraciones máximas se detectaron una hora después del tratamiento en los grupos con progesterona inyectable y seis horas después en los grupos con DIV. El valor de P_4 al pico fue de $7,3 \pm 0,7$ para DIV y $16,1 \pm 0,7$ para MAD-4, ($P < 0,0001$) y seis horas más tarde se redujeron a $5,7 \pm 0,7$ y $11,2 \pm 0,7$ ng/mL para DIV y MAD-4 respectivamente ($P < 0,0001$), posterior-

Cuadro I. Características de los perfiles plasmáticos de estradiol (E_2) (media $\pm$ e.e.m) según los distintos tratamientos

	DIV+EB	DIV+E17	DIV+ECP	MAD4+EB	MAD4+E17	MAD4+ECP
Vacas (n)	5	5	5	5	5	5
Conc. D0 (pg/mL) ¹	16,1 $\pm$ 3,2 ^a	11,5 $\pm$ 3,9 ^b	11,4 $\pm$ 3,9 ^b	12,4 $\pm$ 2,3 ^{a,b}	12,3 $\pm$ 5,1 ^a	7,2 $\pm$ 2,0 ^b
Pico (h)	4,0 $\pm$ 0,1 ^c	4,0 $\pm$ 0,1 ^c	32,0 $\pm$ 14,7 ^d	4,0 $\pm$ 0,1 ^c	4,0 $\pm$ 0,1 ^c	32,8 $\pm$ 5,2 ^d
Conc Max. (pg/mL)	183,1 $\pm$ 94,6	551,7 $\pm$ 154,8	49,6 $\pm$ 20,1	153,3 $\pm$ 46,4	753,6 $\pm$ 73,4	41,6 $\pm$ 24,1
Vida media (h) ²	35,1 $\pm$ 5,1 ^a	40,1 $\pm$ 22,6 ^a	89,6 $\pm$ 3,6 ^b	39,2 $\pm$ 15,8 ^a	41,0 $\pm$ 17,1 ^a	84,0 $\pm$ 9,4 ^b
ABC ³ (pg)	2095,4 $\pm$ 138,6 ^c	5545,8 $\pm$ 539,3 ^d	2486,8 $\pm$ 36,4 ^c	2021,9 $\pm$ 123,7 ^c	6703,6 $\pm$ 669,1 ^d	1874,9 $\pm$ 37,1 ^c

¹ Concentración inicial; ² Regreso a basal; ABC: ³Area bajo la curva.

^{a,b}: Diferentes letras en la misma línea difieren ($P<0,05$); ^{c,d}: Diferentes letras en la misma línea difieren ($P<0,01$)

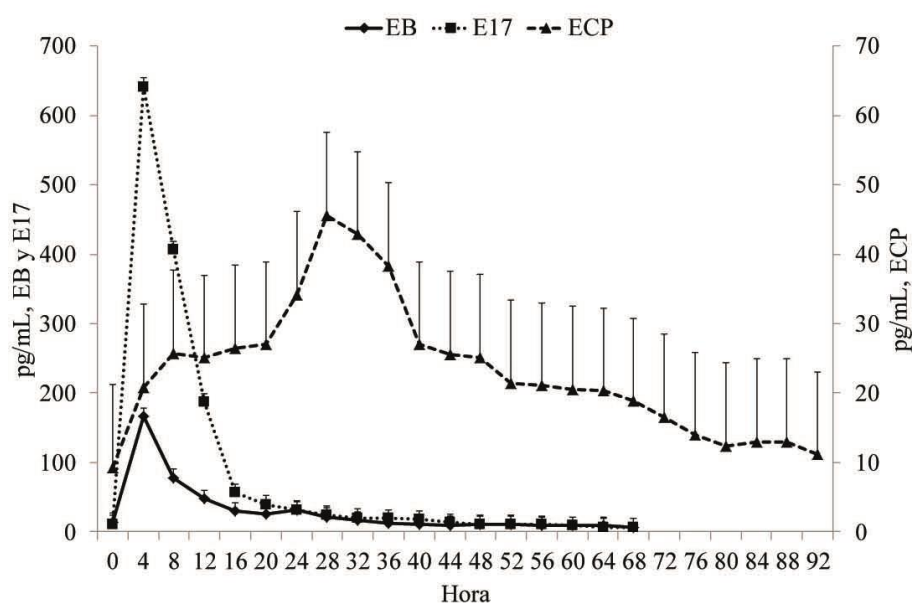


Figura 1: Niveles de estradiol luego de la administración de Estradiol 17 β (E17), Benzoato de estradiol (EB) o Cipionato de Estradiol (ECP).

Cuadro II: Características de los perfiles plasmáticos de progesterona (P_4) (media $\pm$ e.e.m) de acuerdo a los diferentes tratamientos

	DIV+EB	DIV+E17	DIV+ECP	MAD4+EB	MAD4+E17	MAD4+ECP
Vacas (n)	5	5	5	5	5	5
Niveles de P_4 al D0 (ng/mL)	5,2 $\pm$ 1,2 ^{ab}	6,5 $\pm$ 2,5 ^a	4,4 $\pm$ 0,7 ^{ab}	4,9 $\pm$ 1,2 ^{ab}	3,9 $\pm$ 3,6 ^b	5,0 $\pm$ 0,6 ^{ab}
Conc. Max. (ng/mL)	6,9 $\pm$ 1,2 ^a	9,8 $\pm$ 1,2 ^b	6,1 $\pm$ 1,2 ^a	10,4 $\pm$ 1,2 ^b	15,1 $\pm$ 1,2 ^{ab}	22,5 $\pm$ 1,2 ^{ac}
Conc. Media D0-D8 (ng/mL)	4,8 $\pm$ 1,3 ^a	5,9 $\pm$ 2,0 ^b	5,9 $\pm$ 0,5 ^b	6,1 $\pm$ 2,9 ^b	6,2 $\pm$ 4,1 ^b	8,4 $\pm$ 7,1 ^c
Área bajo la curva (ng/mL)	827,2 $\pm$ 5,8 ^{ab}	1064,7 $\pm$ 36,0 ^a	1193,4 $\pm$ 40,9 ^b	935,3 $\pm$ 27,7 ^{ac}	881,0 $\pm$ 28,0 ^{ab}	1034,1 $\pm$ 28,0 ^a

a, b, c: Diferentes letras en la misma línea difieren ($P<0,05$)

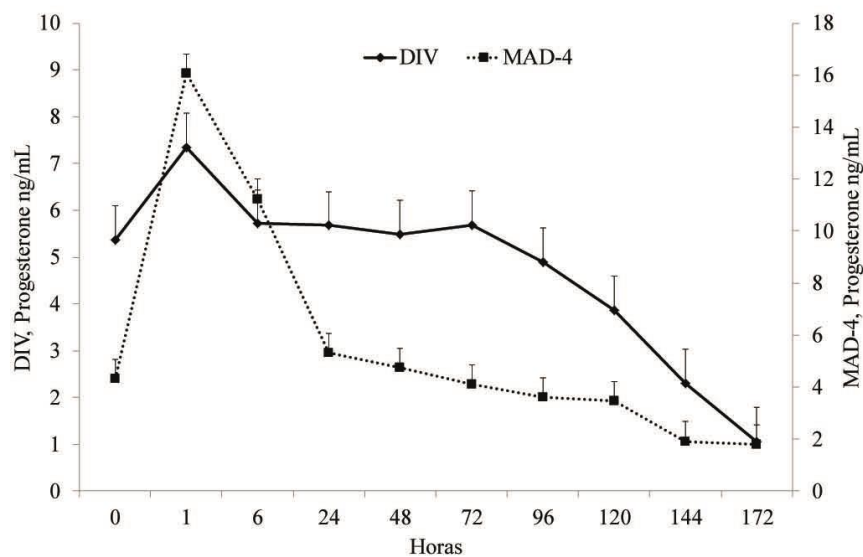


Figura 2: Concentraciones plasmáticas de progesterona (P_4) luego de la administración parenteral (MAD-4) o inserción de un dispositivo DIV).

mente manteniéndose en niveles similares hasta D8. Los niveles plasmáticos de P_4 descendieron hasta niveles basales más rápidamente en las vacas tratadas con MAD-4 que con DIV, con un promedio entre grupos de 164,4 $\pm$ 56,4 h para MAD-4 y 178,3 $\pm$ 46,4 h para DIV.

Desarrollo folicular, ovulación y manifestación estral

Las características de crecimiento folicular, celo y ovulación se presentan en el Cuadro 3. El diámetro folicular al inicio de los tratamientos de P_4 fue de 14,9 $\pm$ 1,4 mm y 14,4 $\pm$ 1,3 mm para EB y E17, y de 10,9 $\pm$ 1,4 para los

Cuadro III: Diámetro del folículo dominante (FD) en los días 0 y 8 del protocolo e intervalos de la administración de Prostaglandina al día 8 a la ovulación (media±e.e.m)

	DIV+EB	DIV+E17	DIV+ECP	MAD4+EB	MAD4+E17	MAD4+ECP
Vacas (n)	5	5	5	5	5	5
Diámetro del FD ¹ a D0:	13,8±2,3 ^a	12,7±2,1 ^a	12,9±2,1 ^a	15,8±2,1 ^b	8,9±2,3 ^c	16,0±2,1 ^a
Diámetro del FD ¹ al D8:	11,3±2,2 ^a	11,5±2,0 ^a	8,8±2,0 ^b	11,3±2,0 ^a	10,3±2,2 ^{ab}	9,3±2,0 ^b
Diámetro del FD ¹ al D9:	12,1±2,2 ^a	13,0±1,8 ^a	10,3±1,8 ^a	11,7±1,7 ^a	11,5±2,0 ^a	11,1±1,8 ^a
Horas PG ² (D8)						
a:						
Ovulación:	65,3±7,1 ^a	60,8±5,5 ^a	69,3±7,1 ^a	67,2±5,5 ^a	44,0±8,6 ^{ab}	80,0±8,6 ^a
Ovulan:	5/5	4/5	2/5	4/5	2/5	1/5
Estro ³ :	64,0±10,1 ^a	41,8±6,4 ^{ab}	45,3±8,3 ^{ab}	51,2±6,4 ^{ab}	35,0±7,2 ^b	46,7±8,3 ^{ab}
Celo ⁴ :	2/5	5/5	3/5	5/5	4/5	3/5

¹: FDF: Folículo Dominante (mm); ²: PG: Prostaglandina; ^{a,b}: Diferentes letras entre columnas difiere en ($P<0,05$); ³Determinado por ultrasonido; ⁴: Manifestaciones clínicas;

animales ECP ($P<0,05$). El diámetro folicular al momento del tratamiento con PG (D8) fue en promedio de 10,4±0,9 mm sin diferencias entre grupos y para el D9 (tratamientos E17 y EB) fue de 12,8±1,5 mm, 11,0±1,4 mm y 10,7 para EB, E17 y ECP respectivamente ($P>0,1$).

La luteólisis se determinó por la caída de P_4 a los niveles previos a la administración o colocación de los dispositivos y ocurrió en el 77,8% de las vacas del grupo EB (7/9), en el 33,3% de las del grupo E17 (3/9) y en el 20% de las del ECP (2/10) ($P>0,1$).

La ovulación (desaparición del folículo dominante a la ecografía) se detectó en el 9/10 de las vacas EB, 6/10 de las E17 y 3/10 de las ECP ($P<0,05$) y se produjo a las 60 horas después del tratamiento con PG, siendo de 63±3,7 h, 52±4,2 h y 66,6±6,0 h para las vacas en los grupos EB, E17 y ECP respectivamente ($P>0,05$). El tamaño del folículo dominante al momento de la PG fue significativamente más grande ($P<0,05$) en aquellos animales que ovularon, 10,8±2,3 mm vs. 8,8±2,5 en los animales en los

que no desapareció el FD.

El comportamiento estral se manifestó en el 70% de las vacas del grupo EB, el 100% de las del E17 y el 60% de las vacas del ECP ($P>0,1$).

Discusión

La adición de E_2 en tratamientos de inducción de ovulación produce un aumento rápido de la circulación de E_17 con lo que se inhibe de la liberación prematura de PG y por lo tanto la expectativa del mantenimiento normal en la vida del cuerpo lúteo en protocolos IATF (Mann y Lamming, 2000). En protocolos Ovsynch modificados la adición de 0,5 o 1 mg de E_17 8 h antes de la GnRH produce un aumento de esteroides circulante similar al natural, superior a las vacas control (Vynckier y col., 1990; Sartori y col., 2002; Wolfenson y col., 2004). Con estos supra niveles de concentración de E_17 se puede esperar que se produzca mayor motilidad uterina y del oviducto

(Hawk 1975), aumento del flujo sanguíneo uterino (Krzyszowski y col., 2004) y aumento de la inmunidad local por mayor fagocitosis (Frank y col., 1983). Estos cambios podrían mejorar el ambiente uterino y podrían resultar en efectos positivos sobre la fertilidad.

La respuesta a las diferentes formulaciones de estradiol varió de acuerdo a las mismas. En las vacas tratadas con EB y E17 se registró un pico plasmático de E_2 a las 4 horas del tratamiento, mientras que en las tratadas con ECP el mismo se observó a las 32 horas. El pico de E_2 en respuesta al tratamiento con E17 fue cuatro veces más grande que con EB, mientras que el pico luego de ECP fue sensiblemente menor. Esta disímil liberación plasmática dinámica se aprecia claramente en el área bajo la curva (ABC) donde asimismo se constata la relación entre dosis administrada y niveles globales encontrados (la dosis de E17 es 5 veces superior a EB y ECP), donde la correcta elección en la frecuencia y posición de los sangrados, permitió diferenciar claramente los distintos perfiles de liberación plasmática del estradiol. Las diferencias en los perfiles sanguíneos de estradiol luego de tratamientos con diferentes estrógenos son consistentes con resultados previos (Vynckier y col., 1990; Bo y col., 2000; Haughian y col., 2002; Burke y col., 2003; Martínez y col., 2005). Souza y col. (2005) reportan valores más bajos pero utilizaron animales de más del doble de producción de leche que en este trabajo. Estos autores también reportan diferencias en los niveles de esteroides según la presencia o no de folículos dominantes, eliminando su producción natural de estradiol. La diferencia con el presente trabajo podría deberse a la influencia de la secreción endógena, ya que se utilizaron vacas ciclando que generaría mayores picos en las concentraciones de esta hormona así como mantenimiento de los niveles por más tiempo. Muy diferente fue el comportamiento de ECP donde el pico fue de 45 pg/mL a las 32 horas, llegando a niveles basales recién entre las 84 a 90 h, con valores prácticamente constantes hasta ese punto. Contrariamente, Souza y col. (2005) utilizando la misma dosis pero efectuando la ablación de folículo mayores de 5 mm dirigida por ecografía no encontraron variaciones significativas desde los valores de base. Lammoglia y col. (1998) evaluaron las dosis de EB para inducir estro y ovulación en vacas en anestro en protocolos con P_4 y PG. Con 1 mg de EB obtuvieron el pico de concentración a las 11 h en vacas que volvieron a valores basales a las 28 h. Martínez y col. (2005) encontraron con-

centraciones de estradiol en plasma con pico máximo 6 h después del tratamiento con E17 que disminuyeron gradualmente a niveles basales a las 36 h. También se ha informado que las concentraciones de estradiol aumentaron drásticamente a las 2 horas (Bo y col., 2000) y 6 horas (Bo y col., 1994) después del tratamiento con E17. Vynckier y col. (1990) encontraron concentraciones de estradiol en plasma durante el estro inducido con PG en valores de 14 pg/mL (rango de 11 a 28 pg/mL), similares a los encontrados en este trabajo luego de una inyección de 1 mg de EB. En el estudio de Souza y col., (2005), el tratamiento con 1 mg de EB elevó las concentraciones circulantes de E17 a unos 10 pg/mL, relación mantenida con dosis menores. Por el contrario, Vynckier y col (1990) reportaron un aumento de 2 a 175 pg/mL después del tratamiento en vacas con 10 mg de EB o una elevación de aproximadamente 17 pg/mL por cada mg de EB. Martínez y col (2005) reportaron una elevación de aproximadamente 100 pg/mL después de 5 mg de EB o de 20 pg/mL para cada mg de EB en vacas ovariectomizadas, es decir en ausencia de estradiol endógeno. Se debe considerar diferencias a causa de la disminución de las concentraciones circulantes de E17 en algunos estudios (Souza y col 2005) debido al mayor metabolismo de los esteroides en vacas lecheras de alta producción (Sangsritavong y col 2002). Para evitar este efecto y sus posibles interferencias, nuestro diseño experimental utilizó animales en lactancias tardías, donde los animales en promedio presentaban sólo el 46% de su producción máxima diaria de la lactancia.

Los animales del presente ensayo fueron seleccionados tomando el criterio de inclusión según ciclicidad reproductiva lo que se constató hormonalmente con posterioridad y fueron presincronizados de modo que al empezar el protocolo se encontraran en fase luteal, con lo que los niveles de P_4 fueron superiores a 3 ng/mL. Luego del tratamiento se registró un aumento en los niveles plasmáticos de P_4 el cual fue mayor luego de la administración de MAD-4, que además presentó el pico de concentración antes que los dispositivos intravaginales. A partir de dicho momento los niveles de P_4 cayeron más drásticamente en vacas tratadas con MAD-4 que con DIV; considerando que ambos productos contienen P_4 natural, es muy posible que la vía parenteral no logre mantener niveles plasmáticos elevados por más de 24 h aunque esto también debería ser evaluado tratando animales en anestro o en fase folicular, de manera de evitar interferencia con P_4 endógena de CL en vacas ciclando. Rogan y col. (2007) diseñaron un ex-

perimento con el fin de caracterizar perfiles de liberación de P_4 plasmática de distintos dispositivos intravaginales con cantidades variables de hormona. Emplearon vacas lactantes ciclando, presincronizadas con PG. Encontraron gran equivalencia entre los picos de concentración (ng/mL) entre grupos (Cue-Mate: $5,0 \pm 1,1$; DIB: $3,9 \pm 0,6$; CIDR-1,9 g: $4,6 \pm 0,6$; CIDR-1,38 g: $3,7 \pm 0,4$; $P=0,51$). Estos valores son similares a los valores máximos en el presente ensayo con el DIV pero muy diferentes a los obtenidos luego con MAD-4. Burke y col. (1999) registraron niveles de progesterona de 10 ng/mL a las 2 h después de la inserción del CIDR que se mantuvo elevado durante 2-3 días. De modo similar Mann y col. (2000) obtuvieron niveles de $10,3 \pm 0,8$ ng/mL como media con estos dispositivos. Martínez y col. (2005) obtuvo niveles similares a una fase luteal media (5-7 ng/mL) 24 horas después de la inserción del dispositivo vacas ovariectomizadas, disminuyendo a 2-3 ng/mL a los 2-3 días manteniendo esos niveles hasta su retiro el día 7. La dosis experimental ensayada para MAD-4 de 200 mg mostró niveles sanguíneos, aunque dinámicamente distintos en muchos momentos de la determinación sanguínea, equiparables a los obtenidos con los dispositivos y su ABC tomando todos los grupos fue similar globalmente y poco variable.

Los porcentajes de vacas que registraron luteolisis son coincidentes con aquellos encontrados por Callejas y col. (2008) con EB donde con 2 mg encontró 73,7% de regresión del CL y con 5 mg 85,6% y expresan la necesidad de inclusión de PG en protocolos con esteroides. Más dramáticas fueron los hallazgos en los casos de E17 y ECP no superando en ninguno de estos casos porcentajes de regresión del CL del 35%.

Se ha descrito la importancia de una concentración mínima circulante de E_2 para la causar expresión del estro (Lammoglia y col., 1998). Lyimo y col. (2000) reportan una alta correlación entre los niveles séricos de E_2 y la conducta estral en vacas Holando en lactancia. La adición de esteroides en protocolos de sincronización colabora en la expresividad conductual y es claramente diferencial acorde a los perfiles de liberación de las formulaciones. En nuestro ensayo encontramos gran diferencia en las demostraciones conductuales con un 100% de animales con expresión de para E17, mientras que esta cifra desciende a 70% y 60% en EB y ECP, respectivamente, que coincide asimismo con los niveles máximos plasmáticos

obtenidos y también se corresponden con el tiempo para alcanzar la máxima concentración sanguínea, así en promedio las vacas E17 ya a las 4 h alcanzan su mayor concentración sanguínea de E_2 con valores cercanos a 650 pg/mL y en su totalidad demuestran celo, mientras que las vacas EB y ECP logran el cenit plasmático a las 32 h con valores promedio de 170 y 45 pg/mL respectivamente que se relativiza en su menor expresión estral. En todos los casos los niveles de P_4 al momento de la segunda dosis de E_2 se hallaba por debajo de 1 ng/mL, luego de la remoción de los dispositivos a las 192 h (en los grupos correspondientes) y la aplicación de PG, siendo valorados promedio y no disímiles entre grupos de $1,4 \pm 0,7$ ng/mL entre la remoción y la hora 202. Lammoglia y col. (1998) demostraron que las dosis que resultaron en celo inducido transitoriamente superaron los rangos fisiológicos lo que se relaciona directamente con los niveles plasmáticos, tal cual se vio en los resultados de este ensayo. Souza y col. (2005) mostraron que con dosis de 0,5 mg (EB, ECP y E17) el comportamiento estral no se manifestaba, excepto con E17, mientras que con 1 mg la respuesta conductual con montas e hiperactividad se presentaba entre las 12 y 36 horas en una proporción alta de los animales tratados, particularmente en aquellos tratados con E17 y EB. En la ocurrencia de la ovulación también se encontraron diferencias importantes entre los esteroides evaluados con diferencias significativas entre el EB con 89% de ovulación, frente a 67% y 30% para E17 y ECP respectivamente. Existe una relación de tendencia entre las horas al pico de concentración plasmática y los niveles encontrados con el momento de la ovulación, siendo anterior en E17, seguido de EB y finalmente ECP.

Cutaia y col. (2003) trabajando en vacas de carne con EB encontraron porcentajes de ovulación similares aplicando ECP tanto al momento de retirar el DIV como 24 h después y por los antecedentes encontrados con esta sal se procedió a administrar al mismo momento que la PG en vez de hacerlo al día siguiente como se efectuó con EB y E17.

El primer tratamiento con ECP podría no ser efectivo en sincronizar de la nueva onda folicular ya que al momento del segundo tratamiento con ECP la maduración del folículo sería variable o no completa y por lo tanto con escasa la respuesta ovulatoria (Bo y col, 2000). Las concentraciones plasmáticas por mayor tiempo en los animales

ECP podrían haber suprimido la liberación endógena de FSH por intervalos más prolongados (Colazo y col., 2003) y de forma más variable en comparación con E17 y EB que conduciría a una aparición tardía de la onda folicular al inicio del tratamiento y menor tasa ovulatoria a la inducción con estradiol.

Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que, en las condiciones de este ensayo, el E17 sería el compuesto que genera mejor respuesta conductual al estro, mientras que el EB sería ligeramente más efectivo en promover la ovulación y ambos mejores que el ECP. Hay que tener presente que éstos resultados pueden tener relación con las formulaciones de E₂ administradas al inicio del protocolo. En cuanto a la P₄, los dispositivos intravaginales generan respuestas más moderadas, estables y prolongadas que la P₄ inyectable. Más investigación con estos productos en diferentes condiciones es necesaria para determinar estos efectos.

Referencias

1. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Tribulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. (1994). Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41:1555-1569.
2. Bo GA, Bergfelt DR, Brogliatti GM, Pierson PA, Adams GP, Mapletoft RJ. (2000). Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 beta on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. *Anim Reprod Sci* 31:141-157.
3. Burke CR, Mussard ML, Gasser CL, Grum DE, Day ML. (2003). Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* 60:647-658.
4. Callejas S, Echevarría S, Zapiola A. (2008). Uso de benzoato de estradiol y un dispositivo intra-vaginal con progesterona en vacas cola de parición con servicio natural. *Rev Arg Prod Anim* 28 (Supl. 1):149-150.
5. Cavestany D, Fernández D, Salazar E, Sanchez A, Leyton L, Crespi D. (2008). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holstein ovariectomizadas. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
6. Chebel RC, Al-Hassan MJ, Fricke PM, Santos JE, Lima JR, Martel CA, Stevenson JS, García R, Ax RL. (2010). Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 93:922-931.
7. Colazo MG, Martínez MF, Whittaker PR, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (2002). Estradiol cypionate (ECP) in CIDR-B-based programs for fixed time AI in beef heifers. *Theriogenology* 57:371 abstr.
8. Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (2003). Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 60:855-865.
9. Cutaia L, Chesta P, Moreno D, Bó GA. (2003). Efecto del momento de la aplicación de benzoato de estradiol sobre la sincronía, el tiempo de ovulación y los porcentajes de preñez en vacas tratadas con un dispositivo DIB y PGF. V Simposio Int Reprod Anim. Córdoba. Argentina. Abstr. 386
10. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72:68-78.
11. Frank T, Anderson KL, Smith AR, Whitmore HL, Gustafsson BK. (1983). Phagocytosis in the uterus: a review. *Theriogenology* 20:103-111.
12. Haughian JM, Sartori R, Guenther JN, Gumen A, Wiltbank MC. (2002). Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. *J Dairy Sci* 85:3238-3249.

13. Hawk HW. (1975). Hormonal control of changes in the direction of uterine contractions in the estrous ewe. *Biol Reprod* 12:423-430.
14. Krzymowski T, Stefanczyk-Krzymowska S. (2004). The oestrous cycle and early pregnancy - a new concept of local endocrine regulation. *Vet J*:168, 285-296.
15. Lammoglia MA, Short RE, Bellows SE, Bellows RA, MacNeil MD, Hafs HD. (1998). Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. *J Anim Sci* 76:1662-1670.
16. Littell RC, Henry PR, Ammermann CB. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J Anim Sci* 76:1216:1231.
17. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 81:209-223.
18. Lucy MC. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 84:1277-1293.
19. Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, van Eerdenburg FJCM. (2000). Relationships among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology* 53:1783-1795.
20. Macmillan KL. (2010). Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *J Reprod Dev* 56:S42-S47.
21. Mann GE, Lamming GE. (2000). The role of suboptimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Anim Reprod Sci* 64:171- 180.
22. Martinez MF, Kastelic JP, Bo GA, Caccia M, Mapletoft RJ. (2005). Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 86:37-52.
23. Matthews JN, Altman DG, Campbell NJ, Royston P. (1990). Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ* 27;300:230-235.
24. Meikle A, Sahlin L, Ferraris A, Masironi B, Blanc JE, Rodríguez-Iraozqui M, Rodríguez-Piñón M, Kindahl H, Forsberg M. (2001). Endometrial mRNA expression of oestrogen receptor α , progesterone receptor and insulin-like growth factor-I (IGF-I) throughout the bovine oestrous cycle. *Anim Reprod Sci* 68:45-56.
25. Murugavel K, Yántiz JL, 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.
26. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 Alfa and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
27. Rogan D, Martinez MF, Bó GA, Chesta P, Feresin F, Mapletoft RJ. (2007). Progesterone release patterns from Cue-Mate in comparison to other intravaginal progesterone-releasing devices in lactating dairy cows. *Reprod Fert Dev* 19:126-127.
28. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Wiltbank MC. (2002). High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:2831-2842.
29. Sartori R, Rosa GJ, Wiltbank MC. (2002). Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating cows and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 85:2813-2822.
30. Souza AH, Cunha AP, Caraviello, Wiltbank MC. (2005). Profiles of circulating estradiol-17 β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2-4:224-232.
31. Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA, Fricke PM, Kesler DJ, Ottobre JS, Wiltbank MC. (2006). Treatment of cycling and

noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J Dairy Sci* 89:2567-2578.

32. Vynckier L, Debackere M, de Kruif A, Coryn M. (1990). Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate-a preliminary study. *J Vet Pharmacol Ther* 13:36-42.

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

34. Wolfenson D, Inbar G, Roth Z, Kaim M, Bloch A, Braw-Tal R. (2004). Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology* 62:1042-1055.

Evaluación de dos formulaciones de progesterona en protocolos HeatSynch en vacas Holando lactando en sistemas pastoriles

Evaluation of two formulations of progesterone in HeatSynch protocols in lactating Holstein cows in a pasture-based system

Martínez-Barbitta M¹, Gil J², Costa G³, Pombo I³, Peñagaricano J³, Lutz M⁴, Freire A⁴, Cavestany D^{5*}

1: DCV, Programa de Posgrados, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay

2: Departamento Producción en los Sistemas Pecuarios, Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica, Paysandú, Uruguay

3: Doctor en Ciencias Veterinarias, Ejercicio Liberal, Uruguay - 4: Doctor en Veterinaria, Ejercicio Liberal, Paysandú y Río Negro, Uruguay

5: DV, MSc, PhD, Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacés 1620, 11600 Montevideo, Uruguay

*: Autor para correspondencia: daniel.cavestany@gmail.com

Veterinaria (Montevideo) Volumen 51
Nº 200 (2015) 26-35

Recibido: 29/10/2014
Aceptado: 10/8/2015

Resumen

Para evaluar dos formulaciones de progesterona (inyectable: MAD-4, o impregnada en un dispositivo intravaginal: DIV) incluidas en el protocolo de sincronización de celos HeatSynch, se utilizaron 377 vacas Holando en producción, primíparas y multíparas, ciclando y en anestro, ubicadas en tres tambos. El protocolo consistió en: Día 0: GnRH y administración de MAD-4 o DIV; Día 7: Prostaglandina (PG); Día 8: Benzoato de estradiol (BE); Día 9: detección de celo e IA; Día 10: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) a vacas que no mostraron celo. Se realizó el diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía a 45 días del inicio de los tratamientos. Se extrajeron muestras de leche los Días -7 y 0 para determinación de actividad ovárica mediante la dosificación de progesterona. Los porcentajes de preñez a la primera inseminación fueron: 20,5% en el tambo 1, 30,8% en el tambo 2, y 43,3% en el tambo 3 ($P<0,05$). La fertilidad del tratamiento no fue afectada por la fuente de progesterona (DIV: 33,0, MAD-4: 33,1%; $P>0,01$) la ciclicidad

Summary

To evaluate two formulations of progesterone (injectable: MAD-4, or intravaginal: DIV) included in the estrus synchronization protocol HeatSynch, 377 lactating Holstein cows, primiparous and multiparous, cycling and in anestrus, located in three dairies were used. The Protocol consisted of: Day 0: GnRH and administration of MAD-4 or DIV; Day 7: Prostaglandin (PG); Day 8: (BE) Estradiol Benzoate; Day 9: heat detection and AI; Day 10: Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) to cows that did not show heat; Day 45: pregnancy diagnosis using ultrasound. Milk samples were obtained at Days -7 and 0 for determination ovarian activity according to levels of progesterone. First service pregnancy rates were: 20.5% in Farm 1, 30.8% in Farm 2, and 43.3% in Farm 3 ($P<0.05$). Fertility of treatment was not affected by progesterone formulation (DIV: 33.0%, MAD-4: 33.1%; $P>0.01$) cyclicity (Cycling: 32.3%, Anestrus: 35.3%; $P>0.01$) or parity (Primiparous: 36.1%, Multiparous: 30.2%; $P>0.01$). An interaction was found between farm and cyclicity ($P<0.05$). Pregnancy

(Ciclando: 32,3%, Anestro: 35,3%; $P>0,01$) ni la paridad (Primíparas: 36,1%, Multíparas: 30,2%; $P>0,01$). Se encontró una interacción entre tambo y ciclicidad ($P<0,05$). El porcentaje de preñez fue menor en las primíparas del tambo 1 que las de los tambos 2 y 3 (12,9% vs. 49,8% y 33,3%; $P<0,05$). No se observaron diferencias entre los tratamientos, concluyéndose que es posible sustituir los dispositivos intravaginales por progesterona inyectable, como una presentación más fácil de aplicar y que no genera residuos hormonales contaminantes.

Palabras clave: vacas para leche, progesterona, sincronización de celos, anestro posparto

Introducción

El aumento de tamaño en los rodeos en sistemas pastoriles de Uruguay, la intensificación, así como la mayor producción individual, ha llevado a una creciente disminución en los parámetros reproductivos, anestros pospartos más largos, con pérdidas en la detección de celo, disminución o ausencia en la expresión del mismo y menor reflejo de aceptación de la monta (Roelofs y col., 2004), menor duración de celos e inseminaciones realizadas a destiempo por la pobre y breve expresión de celos. Asimismo, la presencia de mayor incidencia de enfermedades en el posparto y una mayor posibilidad de mortandad embrionaria temprana y tardía (Lopez et al, 2004) contribuyen a un descenso en la eficiencia reproductiva (Cavestany y col., 2009). Cavestany y Galina (2001) reportaron que un 8,5% de vacas ciclando al comienzo de la estación reproductiva invernal en tambos uruguayos nunca fueron detectadas en celo y reportan un porcentaje de detección de celos del 46,9%. En la región, la tasa de detección de celos promedio reportada para tambos de la cuenca de Santa Fe y Córdoba en Argentina también es baja, situándose en el entorno de 42% (Capitaine Funes, 2005). Esto resulta en una disminución del porcentaje de preñez (Yamada, 2005). Las vacas de alta producción tienen un mayor metabolismo hepático del estradiol, lo que repercute en una menor duración y por lo tanto expresión de celo (Lopez y col., 2004). Esta situación ha llevado a la aplicación cada vez más frecuente de programas de manejo reproductivo con el fin de sincronizar el desarrollo folicular a través de la administración de estradiol y/o GnRH, control del cuerpo

rate was lower in Primiparous of farm 1 than in farms 2 and 3 (12.9% vs. 49.8% and 33.3%; $P<0.05$). Based on the lack of differences between treatments it was concluded that it is possible to replace intravaginal devices with injectable progesterone, as a presentation easier to apply and that does not generate wastes of hormonal pollutants.

Keywords: dairy cows, progesterone, estrus synchronization, postpartum anestrus

lúteo utilizando PG y sincronización de la ovulación con o sin expresión de celo aplicando estradiol o GnRH, asociados además a inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) con resultados similares al manejo tradicional (Cavalieri y col., 2006). La progesterona (P4) aplicada en protocolos de sincronización ha demostrado ser efectiva ya sea concentrando los celos, previniendo ovulaciones prematuras (Andringa y col., 2013) o aportando el priming necesario para el reinicio de la actividad ovárica en vacas en anestro (Cutaia y col., 2007). Muchos trabajos han reportado efectos beneficiosos de la adición de dispositivos intravaginales de P4 en protocolos de sincronización aplicados en vacas ciclando, como asimismo en animales en anestro (Cavestany y col., 2000; El-Zarkouny y col., 2004; Stevenson y col., 2006; Chebel y col., 2010), pero hay poca información respecto a la administración de P4 por otras vías. El objetivo de este trabajo fue comparar la respuesta a la administración de progesterona, inyectable (MAD-4) o en un dispositivo intravaginal de P4 (DIV), en protocolos HeatSynch (GnRH-PG-E2) en vacas primíparas y multíparas, ciclando o en anestro.

Materiales y métodos

Predios y Animales

El mismo diseño experimental se aplicó en 377 vacas lactando en tres tambos, ubicados en los departamentos de Colonia (1), Río Negro (2) y Paysandú (3). Todos los

animales eran de la raza Holando y la producción de leche por día promediada para los tres tambos en la semana del comienzo del tratamiento fue de $20,7 \pm 0,5$ L ($P > 0,1$). En el tambo 1 se utilizaron 88 vacas, 56 primíparas y 32 multíparas, con 64 ± 20 días posparto (DPP), y un estado corporal (EC) al día del comienzo del ensayo de $2,7 \pm 0,2$ (escala del 1 a 5 según Ferguson y col., 1994). En el tambo 2 se utilizaron 196 vacas, 98 primíparas y 98 multíparas, con 76 ± 25 DPP y EC al inicio del ensayo de $2,8 \pm 0,3$ y. En el tambo 3 se emplearon 93 vacas, 34 primíparas y 59 multíparas, 84 ± 40 DPP y con EC al comenzar el ensayo de $2,6 \pm 0,2$. La ciclicidad al comienzo del tratamiento se determinó por progesterona (P4) en leche en base a muestras obtenidas los Días -7 y 0 (comienzo del tratamiento), junto a esta última se realizó una palpación rectal de los ovarios; se definió en anestro a aquellos animales que no tenían estructuras palpables al tacto y menos de 1 ng/mL de P4 en ambas muestras de leche.

Tratamientos

Se aplicó el protocolo de sincronización de celos HeatSynch, variando la fuente de progesterona: dispositivo intravaginal (DIV, Cronipres; 558 mg de progesterona natural, Biogenesis Bagó, Montevideo, Uruguay) o progesterona inyectable s/c (MAD-4; 200 mg en una dosis única de 8 mL en solución oleosa, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Todas las hormonas fueron administradas a las 16 horas luego del ordeño. El protocolo HeatSynch consistió en: D0, administración i/m de 8 µg de un análogo sintético de la GnRH (GnRH: Acetato de Buserelina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y aplicación de la fuente de progesterona; D7, administración i/m de 500 µg de un análogo sintético de prostaglandina F2α (PG) (Prostaglandina: d-cloprostenol, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y retiro del DIV; D8, administración i/m de 1 mg de benzoato de estradiol (BE, Estradiol 10: Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina), a partir de este momento se detectó celo de mañana y de tarde durante 30 minutos cada vez, inseminando 12 horas más tarde; D10, IATF a las 8 de la mañana a aquellas vacas que no mostraron celo. En el tambo 2 se realizó solamente IA a celo detectado por decisión de manejo. En todos los casos se utilizó semen previamente evaluado de reproductores de probada fertilidad. El inseminador fue un integrante del grupo de trabajo y fue el mismo para los 3 tambos.

Diagnóstico de gestación

A los 45 días de iniciado el experimento se realizó el diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía transrectal con transductor lineal de 5 MHz en modo B.

Determinaciones hormonales

Las muestras de leche fueron obtenidas en el ordeño matinal los días -7 y 0 en tubos con azida de sodio, que fueron refrigerados 30 minutos más tarde. Dentro de la semana siguiente a la obtención, las muestras se centrifugaron a 3000 RPM durante 10 minutos y el suero fue almacenado a -20 °C hasta su análisis. Los niveles de progesterona se determinaron por un RIA en fase sólida (¹²⁵I Progesterona CAC, Siemens SA, Montevideo, Uruguay) en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria (Universidad de la República). La sensibilidad del ensayo fue de 0,02 ng/mL y los coeficientes de variación intraensayo para controles bajo (0,8 ng/mL), medio (8,0 ng/mL) y alto (15 ng/mL) fueron de 6,5%, 9,8% y 6,1%, respectivamente. La variación interensayo fue de 8,9%, 10,9% y 6,4% para los mismos controles.

Análisis estadístico

Los porcentajes de preñez por tratamiento, actividad ovárica y paridad se analizaron por Chi cuadrado y por regresión logística (SAS). Para estudiar interacciones entre variables se realizó un análisis de varianza (Proc GLM, SAS) utilizando el porcentaje de preñez como variable independiente continua (0,0 a 1,0) y como variables dependientes tambo, tratamiento, ciclicidad y estado corporal. Se determinó el nivel de significancia en 5%.

Resultados

La distribución de animales entre tambos fue homogénea en cuando a días posparto y producción de leche, pero se registraron diferencias en paridad, actividad ovárica y estado corporal (Cuadro I).

En el tambo 2, donde no se realizó IATF, el porcentaje de vacas inseminadas fue del 75% en cada grupo (Figura 1). Aunque en un número muy bajo para detectar diferencias

Cuadro I. Distribución porcentual por tambo de vacas primíparas y multíparas, con diferente estado corporal (EC) y según actividad ovárica (Anestro o Ciclando)

Parámetro	Tambo			
	N	1	2	3
Primíparas	188	50,0	36,6	63,4
Multíparas	189	50,0	63,4	36,6
EC $\leq$ 2,5	122	7,1	67,7	51,4
2,5 < EC < 3,5	81	18,9	32,3	38,6
EC $\geq$ 3,5	154	74,0	0	10,2
Anestro	148	33,2	58,1	33,0
Ciclando	229	66,8	41,9	67,0

estadísticas, se registraron vacas en celo en los días 5 y 6 del tratamiento, todas del grupo MAD-4.

La preñez al primer servicio fue del 34,1% (Cuadro II) y no estuvo afectada por la fuente de progesterona, pero sí por el tambo y el estado corporal al inicio del tratamiento. Un 47,3% de las vacas primíparas estaban en anestro al inicio

del tratamiento y se registraron diferencias entre tambos. En los tambos 1 y 3 el porcentaje de animales en anestro fue de 33,2% y 33,0% respectivamente, mientras que en el tambo 2 este fue de 58,1% ($P < 0,001$). Sin embargo, la preñez de vacas en esta categoría fue menor solamente en el tambo 1 (12,9% vs. 49,8% y 33,3%; $P < 0,05$).

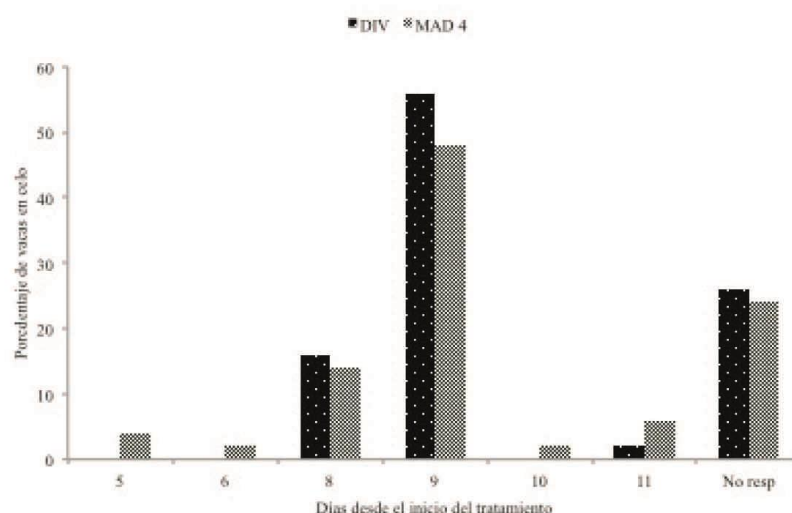


Figura 1: Distribución porcentual diaria de celos registrada en el tambo 2, en vacas tratadas con MAD-4 (barra gris) o DIV (barra negra) entre el día 5 y 11 del tratamiento y porcentaje de animales no detectados en celo

Como se presenta en el Cuadro I, en el tambo 2 no se registraron vacas con EC mayor a 3,5 por lo que no se pudo analizar esta variable, pero como se muestra en la Figura

2, las vacas con menor EC al momento del tratamiento registraron un menor porcentaje de preñez.

Cuadro II. Porcentaje de preñez según la fuente de progesterona administrada (DIV o MAD-4), tambo, estado corporal (EC), actividad ovárica y paridad de los animales

Porcentaje de preñez				
Tratamiento	N	PP ¹	OR ²	IC ³
DIV	193	33,0 ^a	0,591	0,946-1,513
MAD-4	184	33,1 ^a	1,0	Referente
Tambo				
1	196	20,5 ^a	0,1740	0,388-0,862
2	93	30,8 ^a	0,326	0,946-1,952
3	88	43,3 ^b	1,0	Referente
Estado corporal				
≤ 2,5	123	26,5 ^c	0,526	0, 218-1,270
2,5 > 3,5	101	26,7 ^c	0,776	0,378-1,595
≥ 3,5	153	37,7 ^d	1,0	Referente
Actividad ovárica				
Anestro	148	34,3 ^a	1,021	0,609-1,713
Ciclando	227	32,3 ^a	1,0	Referente
Paridad				
Primíparas	188	36,1 ^a	1,381	0,820 – 2,325
Múltiparas	189	30,2 ^a	1,0	Referente

¹: Porcentaje de Preñez; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ^{a,b}: P<0,05;

Cuadro III. Porcentaje de preñez de acuerdo a actividad ovárica y tambo al inicio del experimento

Tambo	Actividad ovárica	Porcentaje de preñez
1	Anestro	12,9±0,09 ^a
1	Ciclando	26,2±0,06 ^a
2	Anestro	49,8±0,08 ^b
2	Ciclando	33,0±0,05 ^c
3	Anestro	33,3±0,08 ^a
3	Ciclando	49,1±0,10 ^a

^a: NS; ^{b,c}: P<0,05

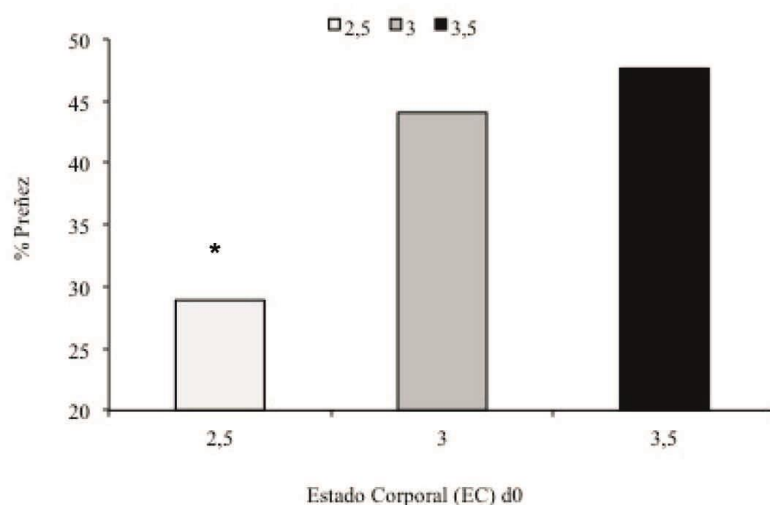


Figura 2: Porcentajes de preñez, independiente de tambo y tratamiento, según condición corporal al inicio del tratamiento (*: $P < 0,05$)

Discusión

Un mayor porcentaje de vacas multíparas que de primíparas se encontraban ciclando al comenzar el experimento. Este dato concuerda con Santos y col. (2009) quienes evaluaron los factores que tienen mayor incidencia en el reinicio de la actividad ovárica posparto, en un estudio que abarcó una muestra de más de 6.000 animales pertenecientes a varios establecimientos lecheros. Los investigadores observaron que más vacas multíparas retornaron a la ciclicidad luego del parto y más vacas cíclicas fueron diagnosticadas preñadas a los 30 y 58 días pos inseminación. En esta línea de trabajo Zhang y col. (2010) realizaron un experimento donde se evaluó la relación entre paridad, involución uterina postparto y reinicio de la actividad ovárica y concluyeron que las vacas multíparas tuvieron una involución uterina más rápida y un periodo más corto entre el parto y el reinicio de la actividad ovárica cíclica. El porcentaje de preñez al primer servicio, determinado por ultrasonografía a los 45 días de iniciado el experimento, fue diferente entre tambos. No varió la fertilidad entre

los tratamientos DIV y MAD-4, considerando la totalidad de condiciones reproductivas, lo que resulta un dato positivo considerando una posible sustitución de los dispositivos intravaginales por una presentación inyectable de fácil aplicación, que no requiere remoción y genera menores contaminantes para el medio ambiente. Esta variación entre tambos, reflejo de la dependencia multifactorial de la reproducción, implica que es muy difícil predecir el éxito o fracaso de programas de manejo reproductivo en los sistemas productivos pastoriles de Uruguay (Cavestany y col., 2007). A nivel nacional, entre los años 2004 y el 2007 de Nava y col. (2010) inseminaron a tiempo fijo 2659 vacas ciclando en 5 de establecimientos lecheros logrando una preñez de 45,5%, promedio comparada con los resultados obtenidos en este trabajo entre los animales en este estado reproductivo de los tambos 2 y 3.

El porcentaje de preñez obtenido en este experimento fue mayor que el reportado por Kasimanickam y col. (2005) quienes utilizaron protocolo similar, aunque sin suplementación con P4, y obtuvieron 15,5% de preñez al primer servicio. Estos resultados justificarían la adición de P4 no sólo en animales en anestro por el aporte del “pri-

ming” necesario para reiniciar la actividad ovárica posparto (Cutaia y col., 2007), sino también por su beneficio en la sincronización del desarrollo folicular y el bloqueo de ovulaciones prematuras (Cavestany y col., 2000; Andringa y col., 2013).

Aunque casi el 50% de las vacas de primer parto (47,3%) se encontraban en anestro al inicio de los tratamientos, presentándose grandes diferencias entre tambos, incidencia superior a los trabajos publicados a nivel nacional (de Nava y Cavestany, 1996; de Nava y Cavestany, 2000) e internacional (Chebel et al, 2009) justifica, sin duda la intervención en la prevención y eventualmente en el tratamiento del anestro. En el tambo 2, donde no se practicó IATF la inseminación sólo alcanzó el 75% lo que afectó el porcentaje de preñez. Esta incidencia en las tasas de preñez obtenidas con diferentes tratamientos de inducción de la ovulación en vacas lecheras en anestro asociados con detección de celo han sido bajas en nuestras condiciones de explotación (de Nava y Cavestany, 1996; de Nava y Cavestany, 2000). Para el tambo 2 del ensayo con un 75% de animales inseminados, se logró una concepción de 37,4%. A pesar de ello, los tratamientos pueden estar igualmente justificados ya que muchos animales que no se preñan ante la IATF, reinician la ciclicidad luego de la inducción, aumentando notablemente su posibilidad de gestación.

En el tambo 1 la condición corporal de las vacas al comenzar el experimento fue en promedio de $2,7 \pm 0,2$ para ambos tratamientos, en el tambo 2 la condición corporal fue de $2,8 \pm 0,3$ y en el tambo 3 fue de $2,6 \pm 0,4$ puntos siendo el valor más bajo y variable de los tres tambos. De acuerdo a la revisión realizada por Crowe (2008) sobre el retorno de la actividad ovárica posparto en vacas para carne y leche, para lograr un óptimo retorno a la ciclicidad lo ideal es lograr una condición corporal al parto que se ubique entre 2,75 y 3,0. En este trabajo las vacas que iniciaron el tratamiento con una condición corporal menor a 3 obtuvieron una preñez inferior. De modo similar, Pancarci y col. (2002) observaron que las vacas múltiparas tuvieron una fertilidad más baja a una condición corporal por debajo de 3,0. Es posible que la condición corporal de los animales al comienzo del experimento haya influido negativamente en los resultados de fertilidad en el tambo 1 y 3, no así en el 2, donde la preñez lograda en tres niveles de condición corporal ($\leq 2,5$, entre 2,5 y 3,5 y $\geq 3,5$) no mostró diferencias significativas.

En los tambos 1 y 3, las vacas que estaban ciclando al inicio del tratamiento mostraron una tendencia a tener mejores resultados de preñez, independientemente del tratamiento utilizado. Esta observación concuerda con lo publicado por Chebel y col. (2010) en el que las vacas clasificadas como cíclicas de acuerdo a sus concentraciones plasmáticas de P4 mostraron mejores resultados de preñez a los 40 días que las clasificadas como en anestro (38,2 vs 29,3%; $P < 0,05$) y esta diferencia se mantuvo a los 60 días pos IA (35,1 vs 26,1% para las cíclicas y en anestro respectivamente). Por otro lado, Stevenson y col. (2006) trabajando con vacas cíclicas y en anestro registraron mayores pérdidas embrionarias entre los días 28 y 56 pos IA en estas últimas, lo que podría explicar en parte la menor fertilidad de las mismas y la influencia hormonal en el mantenimiento de la preñez. En el tambo 2 las vacas primíparas tuvieron una preñez significativamente mayor que las múltiparas.

También debe considerarse en los resultados de fertilidad con IATF con semen congelado el efecto asociado a diferencias en la longevidad de los espermatozoides en el tracto genital de la vaca por la posible dispersión de las ovulaciones y probablemente debido a diferencias en el proceso de capacitación de los espermatozoides (Kasimanickam y col., 2008).

Se encontró en los tambos 1 y 2 una mayor eficiencia reproductiva de las vacas primíparas en comparación con las múltiparas, mientras en el tambo 3 se obtuvo un mejor desempeño de las vacas múltiparas aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En este sentido hay reportes de una mejor respuesta de las vacas primíparas a protocolos de sincronización de la ovulación (de Nava et al., 2010). Probablemente el mayor estrés productivo y metabólico al que están sometidas las vacas de más lactancias sea la causa de una disminución en su eficiencia reproductiva. Martins y col. (2011) propusieron que la ineficacia en la lisis del CL de los programas reproductivos con PG en vacas lactantes produciría un descenso importante en la preñez final. Para evaluar las diferencias en el comportamiento de estas categorías Tenhagen y col. (2004) realizaron un estudio sobre 1584 vacas (583 primíparas y 1001 múltiparas) pertenecientes a 3 tambos comerciales. El porcentaje de concepción a la IATF resultó mayor en las primíparas que en las múltiparas (37,9% vs. 31,6%) de igual manera la preñez a los 200 días de lactancia fue mayor para las primíparas (81,8% vs 75,4%

para primíparas y multíparas respectivamente). También de Nava y col. (2010), en un estudio que recopiló los resultados obtenidos sobre 2659 vacas ciclando, durante cuatro años de aplicación de un programa de IATF iniciado al primer día de la estación reproductiva invernal, observaron que la preñez se vio afectada por el número de lactancia, disminuyendo de 48,8%, 48,2%, 43,1% y 40,5% para vacas de 1, 2, 3 y 4 o más lactancias respectivamente ($P<0,05$). Esta diferencia se mantuvo en las tasas de preñez acumuladas (incluyendo los servicios realizados durante un periodo de 30 días pos IATF), siendo de 63,7%, 62,9%, 59,8% y 56,7% para las vacas de 1, 2, 3 y 4 o más lactancias respectivamente ($P<0,05$).

Pancarci y col. (2002) comparando dos protocolos de sincronización de ovulación observaron que para ambos tratamientos los porcentajes de concepción en las vacas primíparas eran más altos que en las multíparas. Notaron también que a una condición corporal menor a 3,0 las vacas multíparas tuvieron menores porcentajes de concepción, mientras que las primíparas se mantuvieron en parámetros constantes cuando su condición corporal oscilaba entre 2,5 y 3,0. En el tambo 3 a diferencia de lo ocurrido en los dos tambos anteriores se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en las vacas multíparas que en las primíparas. Tal vez la baja condición corporal que presentaba el grupo de primíparas impactó negativamente en su fertilidad determinando que tuvieran un peor desempeño reproductivo comparado con el grupo de multíparas. Cerri y col. (2004) realizaron un trabajo en el que se evaluó la fertilidad obtenida al aplicar un protocolo Heatsynch con IATF o un protocolo SelectSynch (sin empleo de estradiol post PG) con detección de celo sobre vacas primíparas y multíparas de alta producción. Los valores de preñez registrados a los 58 días fueron en el grupo IATF 42,2% para las multíparas y 34,4% ($P<0,01$) para las primíparas mientras que en el grupo bajo detección de celo los resultados fueron de 20,8 y 18,8% para multíparas y primíparas respectivamente. Es interesante que en nuestro trabajo, los porcentajes de preñez no varían para el tambo 2 que no hizo IATF respecto al tambo 3 en el que casi la totalidad de los animales fueron inseminados a tiempo fijo. Lo que sí es destacable, es que en el tambo 2 un 25% de las vacas no fueron detectadas en celo y por consiguiente tampoco inseminadas, lo que pudo afectar el resultado. Stevenson y Phatak (2005) reportan niveles de preñez mayores en vacas inseminadas luego de ser detectadas en celo en el mar-

co de un protocolo Heatsynch (44,6% vs 21,6% para celo visto y tiempo fijo respectivamente); y la misma tendencia fue apreciada en el grupo asignado al protocolo Ovsynch (48,7% vs 24,4% para vacas inseminadas bajo detección de celo y a tiempo fijo respectivamente). Kasimanickam y col. (2005) observaron también mejores resultados de fertilidad en aquellos animales inseminados luego de ser detectados en celo utilizando tanto un protocolo Heatsynch como un Ovsynch. En el tratamiento Heatsynch los valores obtenidos por estos autores fueron 36% vs 15,5% para las vacas inseminadas bajo detección de celo e IATF respectivamente ($P<0,001$), y en el tratamiento Ovsynch se registraron porcentajes de preñez de 35,3 vs 21% para vacas inseminadas a celo visto y a tiempo fijo respectivamente ($P<0,05$). En contraposición con lo expresado por estos autores el trabajo realizado por Cerri y col. (2004) obtuvieron mejores resultados con IATF que con inseminación bajo detección de celo.

Conclusiones

No se observaron diferencias en el porcentaje de preñez entre los dos tratamientos en ninguno de los tres tambos, lo que deja planteada la alternativa de sustituir los dispositivos intravaginales por una presentación inyectable de liberación lenta, de más fácil aplicación, que no genera residuos contaminantes ambientales y obtiene similares resultados en cuanto a fertilidad. La variación entre tambos refleja que existen otros factores de manejo, ambientales y nutricionales que afectan la fertilidad independiente de protocolos de sincronización utilizados.

Bibliografía

1. Andringa MFA, Cavestany D, van Eerdenburg FJCM. (2013). Relaciones entre la expresión de celo, tamaño del folículo y ovulación en vacas de leche en pastoreo. *Veterinaria (Montevideo)* 49:4-15.
2. Capitaine Funes, A. (2005). Factores que afectan la tasa de preñez en rodeos lecheros en Argentina. *Simpósio Internacional de Reproducción Animal IRAC*

- 5:179-196.
3. Cavalieri J, Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shephard RW, Macmillan KL (2006). Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows *Theriogenology* 65:45-64.
 4. Cavestany D, Betancour H, Blanc E, Lemaire C, Slavica J, Moreira F, Piaggio J, Risco C. (2007). Reproductive efficiency in grazing lactating dairy cows under a programmed reproductive management. *Aust Vet J* 85:141-147.
 5. Cavestany, D.; de Nava, G.; Galina, C. (2000). Sincronización de celos con inseminación artificial a tiempo fijo como alternativa para incrementar la eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo. *Congreso Mundial de Buiatría* 21:37.
 6. Cavestany, D; Galina, C.S. (2001). Factors affecting the reproductive efficiency of artificial insemination programs in a seasonal breeding pasture-based dairy system with the aid of milk progesterone. *Reprod. Domestic. Animals*. 36(2): 85-89.
 7. Cavestany D, Kulcsár M, Crespi D, Chilliard Y, La Manna A, Valgo O, Keresztes B, Delavaud C, Huszenicza G, Meikle A. (2009). Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive parameters, and metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions. *Reprod Domest Anim* 44:663-671.
 8. Cerri RL, Santos JE, Juchem OL, Galvao KN, Chebel RC. (2004). Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 87:3704-3715.
 9. Chebel R, Al-Hassan M, Fricke P, Santos JE, Lima J, Martel C, Stevenson J, García R. (2010). Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 93:922-931.
 10. Chebel, R. (2009). Enfermedad y Reproducción. *Dairy Cattle Reproduction Conference*. 137-146
 11. Crowe MA. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reprod Domest Anim* 43 Suppl 5:20-28.
 12. Cutaia L, Caccia M, Bo GA. (2007). Dinámica follicular ovárica en el ganado bovino: implicancias prácticas en programas de sincronización de celos. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
 13. de Nava GT, Rodríguez Sabarrós M, Corti M, Tutt D, Martínez MF. (2009). Efecto de diferentes fuentes de progesterona y análogos de GnRH sobre la fertilidad de vaquillonas en un programa de tiempo fijo. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC Corboba Argentina.
 14. de Nava GT, Rodríguez Sabarrós M, Romero D, Rodríguez Galluzzo J, Gil A. (2010). Resultados de cuatro años de aplicación de un programa de inseminación a tiempo fijo en vacas lecheras coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal. *Jornadas Uruguayas de Buiatría*; 38: 106-107
 15. de Nava, G.; Cavestany, D. (1996). Efecto de la utilización de dos fuentes de progesterona en el tratamiento del anestro posparto en vacas Holando en producción (Resultados Preliminares). *Primer Congreso Uruguayo de Producción Animal* 1:210-212
 16. de Nava, G.; Cavestany, D. (2000). Respuesta a la administración de progesterona en vacas Holando de primera lactancia en anestro posparto. *Congreso Mundial de Buiatría* 21:47.
 17. El-Zarkouny SZ, Cartmill JA, Hensley BA, Stevenson JS. (2004). Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J Dairy Sci* 87:1024-1037
 18. Ferguson J, Galligan D, Thomsen N. (1994). Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci* 77:2695-2703.
 19. Kasimanickam R, Cornwell JM, Nebel LR. (2005). Fertility following fixed time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 63:2550-2559.
 20. Kasimanickam, R.; Hall, J.B.; Currin, J.F.; Whitter, W.D. (2008). Sire effect on the pregnancy outcome in beef cows synchronized with progesterone based Ovsynch and Co-synch protocols. *Anim. Reprod. Sci.*104:1-8.

-
21. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating. *Anim Reprod Sci* 2004;81:209-2023.
 22. Martins JPN, Policelli RK, Neuder LM, Raphael W, Pursley JR. 2011. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F2 α of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 2815-2824.
 23. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW. (2002). Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:122-131
 24. Roelofs JB, Bouwman EG, Dieleman SJ, van Eerdenburg FJCM, Kaal-Lansbergen LMTE, Soede NM, Kemp B. (2004). Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 62:1337–1352.
 25. Santos JE, Rutigliano HM, Sá Filho MF. (2009). Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 110:207-221.
 26. Stevenson JS, Phatak AP. (2005). Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. *J Dairy Sci* 88:399-405.
 27. Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA, Fricke PM, Kesler DJ, Ottobre JS, Wiltbank MC. (2006). Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J Dairy Sci* 89:2567-78.
 28. Tenhagen BA, Surholt R, Wittke M, Vogel C, Drillich M, Heuwieser W. (2004). Use of Ovsynch in dairy herds-differences between primiparous and multiparous cows. *Anim Reprod Sci*; 81:1–11.
 29. Yamada K. (2005). JSAR Innovative Technology Award. Development of ovulation synchronization and fixed time artificial insemination in dairy cows. *Jf Reprod Dev* 51:177-186.
 30. Zhang J, Deng LX, Zhang HL, Hua GH, Zhu Y, Meng XJ, Yang LG. (2010). Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 93:1979–1986.

ACTA DE EXAMEN

CURSO: Defensa de Tesis de Maestría

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: Montevideo, 28 de junio de 2018

TRIBUNAL: Dra. Raquel Pérez Clariget (Presidente), Dra. Carolina Viñoles, Dra. Daniela Crespi

CI ESTUDIANTE	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
3.651.998-0	MARTÍNEZ BARBITTA, Marcelo	B B B	06

PRESENTADOS	NO PRESENTADOS	APROBADOS	APLAZADOS	INSCRIPTOS
1	0	1	0	1

TRIBUNAL

Dra. Raquel Pérez Clariget (Presidente)

Dra. Carolina Viñoles

Dra. Daniela Crespi

FIRMA

NOTA: Las calificaciones de aprobación de la Tesis de Maestría pueden ser:
B.B.B. - 6 , o S.S.S. - 12