



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

COMPARACIÓN ENTRE LA UTILIZACIÓN DE PROGESTERONA INTRAVAGINAL O INYECTABLE SUBCUTÁNEA EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN BOVINOS DE CARNE

ALFREDO IRAZABAL

TESIS DE MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

URUGUAY

2015



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**COMPARACIÓN ENTRE LA UTILIZACIÓN DE PROGESTERONA INTRAVAGINAL O
INYECTABLE SUBCUTÁNEA EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS E
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN BOVINOS DE CARNE**

ALFREDO IRAZABAL

RAQUEL PEREZ CLARIGET
Directora de Tesis

DANIEL CAVESTANY BÖCKING
Co-director

2015

iii

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

Jorge Gil; DMTV, MSc, PhD
Departamento de Sanidad en los Sistemas Pecuarios
EEMAC - Paysandú
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República ó Uruguay

Santiago Callejas; MV, MSc, PhD
Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil ó Argentina

Alejo Menchaca; DMTV, MSc, PhD
Instituto de Reproducción Animal del Uruguay y Programa de Posgrados de Facultad de Veterinaria (UdelaR)



FACULTAD DE VETERINARIA
Programa de Posgrados

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

DE MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

**“COMPARACIÓN ENTRE LA UTILIZACIÓN DE
PROGESTERONA INTRAVAGINAL O INYECTABLE
SUBCUTÁNEA EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE
CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN
BOVINOS DE CARNE”**

Por: Dr. Alfredo Irazábal Acosta y Lara

Directora de Tesis: Dra. Raquel Pérez

Codirector de Tesis: Dr. Daniel Cavestany

Tribunal

Presidente: Dr. Alejo Menchaca

Segundo Miembro: Dr. Santiago Callejas

Tercer Miembro: Dr. Jorge Gil

Fallo del Tribunal:

Aprobada con Mención

Salón de Posgrados

Miércoles 17 de junio de 2015

El Tribunal considera que el maestrando Dr. Alfredo Irazábal cumple con los aspectos de forma y contenido requeridos por el PPGFV de la UdelaR para una tesis de Maestría.

En general los resultados obtenidos son un aporte al conocimiento del efecto de diferentes tratamientos con progestágenos sobre la respuesta reproductiva en vacas de carne manejadas en condiciones típicas de Uruguay. Los resultados fueron publicados por el maestrando en diferentes medios científico o técnicos locales y regionales.

La presentación escrita de la tesis muestra que se ha realizado un trabajo de buen nivel científico, con objetivos claros y bien fundamentados con una revisión bibliográfica adecuada, con una estrategia de investigación que permitió responder a dichos objetivos, con una discusión en profundidad de los principales hallazgos, logrando finalmente alcanzar conclusiones robustas y bien fundamentadas.

La presentación oral y su defensa frente a este Tribunal muestran que el maestrando ha logrado incorporar en su formación aspectos metodológicos, técnicos y analíticos, así como un dominio general de la temática vinculada a la fisiología ovárica y su control para la inseminación artificial en bovinos, todos estos aspectos necesarios y que enriquecen la formación de posgrado. Se destaca la solvencia en la defensa del trabajo respondiendo a las preguntas planteadas con fluidez, conocimiento y amplitud de criterio.

Por lo anteriormente expresado el Tribunal por unanimidad califica el trabajo de Tesis de Maestría del Dr. Alfredo Irazábal como APROBADO CON MENCIÓN.



A. MENCHACA

AGRADECIMIENTOS

A Laura y mis hijos Facundo y Alfredo, por su aguante y motivación.

A la memoria de mi madre Julieta, que como buena profesora siempre me incentivó a mejorar mi formación profesional. A mi madre adoptiva Raquel, por su paciencia, por motivarme a continuar con la maestría en los momentos difíciles y por su apoyo incondicional.

A Guido, por facilitarnos el almuerzo cuando trabajamos con Raquel.

A mi familia, especialmente a la ñonaö y mis hermanos, que siempre fueron mi ñhotelö en Montevideo.

Al CAMD, por su paciencia y su dedicación, con lo que permiten que mejoremos el nivel académico.

A Carolina Viñoles, amiga y compañera de generación, por su llamada de apoyo y motivación en el momento que había decidido dejar los estudios.

A Rodolfo Ungerfeld (UNGE), por insistirme en que termine cuanto antes, por ser un buen profesor y por tener puesta la camiseta del PPFV.

A Daniel Cavestany, por su aporte y su apoyo. Por brindar la eCG y MAD-4 para el experimento 1 y todas las hormonas para el experimento 2.

A Laboratorio OVER por proporcionar la GnRH (Gestar®) para el experimento 1.

A Laboratorio CALIER por proporcionar la prostaglandina F2 (Veteglan®) para el experimento 1.

A la firma Sierra Austral S.A., por permitirme realizar en su establecimiento comercial los experimentos 1 y 3. A su personal, por la buena disposición y ayuda.

Al colega y amigo Edgardo Pereyra, por realizar todos los sangrados en el experimento 1.

Al amigo Federico Guerra (Sierra Austral S.A.), por el apoyo para realizar los experimentos en el establecimiento comercial.

A Juan Cavestany (Ä), por permitirme realizar en su establecimiento comercial el experimentos 2. A su personal, por la buena disposición y ayuda.

A Guillermo de Nava, por sus aportes y su ayuda en el experimento 2.

A Carmen de Olarte, por su ayuda en el experimento 2.

A Juan Bolivar Rodriguez-Blanquet, por sus aportes y su ayuda en el experimento 3. Además, por proporcionar las esponjas con MAP.

RESUMEN

Se realizaron tres experimentos para evaluar el efecto de diferentes vías de administración de progesterona (intravaginal o inyectable subcutánea) en protocolos de sincronización y/o inducción estral en bovinos de carne, basados en las combinaciones hormonales de: hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH), Benzoato de Estradiol (BE), Prostaglandinas (PG), Gonadotropina Coriónica equina (eCG) y Progesterona (P4): GnRH-PG (Select Synch; experimento 1), BE-P4-PG-eCG-GnRH (experimento 2) y GnRH-P4-PG-GnRH (experimento 3). En todos los experimentos se utilizaron vacas de carne pastoreando campo natural con Condición Corporal (CC) promedio de $3,51 \pm 0,02$ unidades (Media \pm EE; escala 1-8) y rango de días posparto entre 70 y 120 (experimentos 1 y 2) y 190 a 210 (experimento 3). En el experimento 1 el agregar P4 inyectable en base oleosa (200 mg de MAD-4) al protocolo Select Synch (SS) no evitó la ocurrencia de estros prematuros, por lo que no influyó en el grado de sincronización del estro (SS + eCG: 60,0% vs. SS + eCG + P4: 65,5%; $P = 0,40$) ni mejoró la tasa de preñez (SS + eCG: 46% vs. SS + eCG + P4: 54%, $P = 0,36$). En el experimento 2 el sustituir el dispositivo intravaginal (DIV) conteniendo 558 mg de P4 por MAD-4, disminuyó la tasa de preñez a la IATF en las vacas primíparas (DIV: 35% vs. MAD-4: 10%, $P = 0,0001$) y multíparas (DIV: 51% vs. MAD-4: 9%, $P = 0,0001$), pero no en las nulíparas (DIV: 51% vs. MAD-4: 42%, $P > 0,1$). En el experimento 3 la sustitución del dispositivo intravaginal con P4 por esponjas intravaginales artesanales conteniendo 250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) no afectó la tasa de preñez a la IATF en vacas ciclando (CO-SYNCH+P4: 50% vs. CO-SYNCH+MAP: 71%, $P = 0,109$). Sin embargo, tendió a disminuir la tasa de preñez en las vacas en anestro (CO-SYNCH+P4: 67% vs. CO-SYNCH+MAP: 31%, $P = 0,09$). Desde el punto de vista práctico, la MAD-4 fue más fácil de aplicar y de gestionar sus residuos en condiciones de establecimientos comerciales, sin embargo, teniendo en cuenta los resultados de tasa de preñez obtenidos, no se recomendaría el uso de MAD-4 en protocolos de sincronización de estros o de IATF, en la presentación que fue utilizada en la presente tesis.

SUMMARY

Three experiments were conducted to evaluate the effect of different routes of administration of progesterone (intravaginal or subcutaneous injection) in synchronization protocols and / or estrus induction in beef cattle, based on hormonal combinations: gonadotropin releasing hormone (GnRH) estradiol benzoate (BE), prostaglandins (PG), equine chorionic gonadotropin (eCG) and progesterone (P4): GnRH-PG (Select Synch, experiment 1), BE-P4-PG-eCG-GnRH (experiment 2) and GnRH -P4-PG-GnRH (experiment 3). In all experiments they were used beef cows grazing natural field with body condition (CC) average of 3.51 ± 0.02 units (Mean \pm EE; 1-8 scale) and postpartum range between 70 and 120 days (Experiments 1 and 2) and 190-210 (experiment 3). In Experiment 1, adding P4 injection in oil base (200 mg MAD-4) to protocol Select Synch (SS) did not prevent the occurrence of oestrus prematurely, so it did not influence the degree of synchronization of estrus (SS + eCG : 60.0% vs. SS + P4 + eCG: 65.5%; $P = 0.40$) and didn't improved pregnancy rates (SS + eCG: 46% vs. SS + eCG + P4: 54%, $P = 0.36$). In experiment 2 the substitute intravaginal device (DIV) containing 558 mg of P4 by MAD-4, it decreased pregnancy rate to TAI in primiparous cows (DIV: 35% vs. MAD-4: 10%, $P = 0.0001$) and multiparous (DIV: 51% vs. MAD-4: 9%, $P = 0.0001$), but not in nulliparous (DIV: 51% vs. MAD-4: 42%, $P > 0, 1$). In experiment 3 the replacement of intravaginal P4 device by artisanal intravaginal sponges containing 250 mg of medroxyprogesterone acetate (MAP) did not affect the pregnancy rate to TAI in cycling cows (CO-Synch + P4: 50% vs. CO- MAP SYNCH + 71%, $P = 0.109$). However, it tended to decrease the pregnancy rate in cows in anoestrus (CO-Synch + P4: 67% vs. MAP CO-Synch + 31%, $P = 0.09$). From a practical point of view, MAD-4 was easier to implement and manage their waste in terms of commercial farms, however, taking into account the results of pregnancy rate obtained using MAD-4, would not recommend the inclusion of it in estrus synchronization protocols or TAI, in the presentation that was used in this thesis.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En Uruguay, la cría de bovinos de carne involucra más de 25.464 establecimientos, 4,096 millones de vacas entoradas y aproximadamente 8 millones de hectáreas de campo natural (DIEA, 2013). Los rodeos de cría tienen una baja eficiencia reproductiva, que se manifiesta en la alta edad al primer entore y el bajo porcentaje de destete (de Nava, 2011). En efecto, el promedio de este último se ha mantenido alrededor del 64% desde hace más de 15 años (DIEA, 2013), con una tasa de preñez promedio del 73,4% (DIEA, 2011), observándose importantes diferencias entre años. En la actualidad, la ganadería compite con otros rubros de mayor rentabilidad como la agricultura y la forestación, por lo que la cría se ha visto desplazada a suelos de menor fertilidad lo que agrava la situación (de Nava, 2011).

En nuestro país la fuente principal de alimentación de las vacas de cría es el pastoreo de campo natural, cuyo aporte de nutrientes es insuficiente para cubrir los requerimientos de las vacas en el último tercio de la gestación e inicio de la lactancia, por lo que las mismas presentan un balance energético negativo durante ese periodo (Astessiano, 2010; Scarsi, 2012). Como consecuencia del mismo, el estado o condición corporal (CC) al parto y al inicio del entore es en general bajo a moderado, lo que influye negativamente en la eficiencia reproductiva de los rodeos (Quintans, 2005). Moderadas o bajas CC al parto se asocian a prolongados periodos de anestro posparto (APP), los que aún son más largos en las vacas primíparas que en las multíparas (Short et al, 1990; De Castro et al, 2002). En nuestro país, generalmente solo un 20 ó 50 % de las vacas de carne retornan a la ciclicidad a los dos meses después del parto (de Nava, 2011; Menchaca et al., 2013). Es así, entonces, que el principal factor que determina la baja performance reproductiva de los rodeos de cría es el largo periodo que demora la vaca después del parto en reiniciar su ciclicidad ovárica y manifestar estro.

El APP o periodo de aciclicidad ovárica y ausencia de manifestación de estro, puede considerarse como un período de transición durante el cual la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario- útero se recupera de la anterior gestación. Si bien durante el APP se observa desarrollo folicular, ninguno de los folículos que comienzan su crecimiento alcanza la ovulación debido a que sufren atresia antes de alcanzar la fase de maduración. La vaca de carne falla en ovular durante el APP no porque el folículo dominante no pueda desarrollarse, sino porque no puede ovular (Montiel y Ahuja, 2005). Esta incapacidad del folículo dominante en madurar está asociada a la baja pulsatilidad de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de la hormona luteinizante (LH) que se observa después del parto (Wiltbank et al., 2002). Durante las dos o tres primeras semanas del posparto, se produce la involución del útero, la recuperación de las reservas de LH de la adenohipófisis y el reinicio de las ondas de crecimiento folicular (Wiltbank et al., 2002). El contenido de hormona folículo estimulante (FSH) en la adenohipófisis al parto y durante el posparto temprano no difiere apreciablemente del que está presente en el posparto tardío o durante el ciclo estral (Williams, 1990). La liberación de la FSH y el crecimiento folicular se inician poco después del parto. Sin embargo, estos folículos no logran alcanzar una maduración terminal, requisito imprescindible para la ovulación, debido a la ausencia de pulsos adecuados de LH, por lo que los folículos cuando llegan a la etapa de divergencia (diámetro de 9 mm) se atresian (Wiltbank et al., 2002). La baja

frecuencia y/o la ausencia de pulsos de LH en las primeras etapas del posparto (Williams, 1990; Zalesky, 1990; Hoffman et al, 1996; Wiltbank et al., 2002) se debe al agotamiento de las reservas de LH en la adenohipófisis y es independiente del amamantamiento (Wiltbank et al., 2002). Se considera que todo aquel factor que retarde o interfiera con la restauración de la normal pulsatilidad de GnRH/LH tenderá a alargar el APP.

El APP está influido por varios factores como la raza, la estación del año, la presencia del toro y patologías uterinas. Sin embargo, se reconocen como los principales factores el amamantamiento y la inhibición que produce la presencia del ternero, la nutrición y la categoría (Short et al, 1990; Williams, 1990; Hoffman et al, 1996; Quintans, 2005). Se han planteado distintas alternativas para acortar el APP, como el manejo del amamantamiento, de la nutrición de la vaca gestante y tratamientos hormonales o métodos que combinan dos o más alternativas.

Amamantamiento

Tras la restauración de las reservas de LH entre los días 15 y 30 posparto, la pulsatilidad de LH depende del amamantamiento (Williams, 1990; Zalesky, 1990). El amamantamiento inhibe los pulsos de LH mediante la inhibición de las descargas de la GnRH (Hoffman et al., 1996; Wiltbank et al., 2002). Así pues, al cabo de tres semanas, la vaca de carne está preparada para reiniciar la actividad cíclica, sin embargo, la percepción a nivel inguinal del ternero por parte de la vaca que lo amamanta incrementa la sensibilidad del generador hipotalámico de pulsos de GnRH al efecto de retroalimentación negativa del estradiol (E2) mediante la liberación de péptidos opioides endógenos (Wiltbank et al., 2002). Esto resulta en una supresión de la liberación pulsátil de GnRH y LH (Williams, 1990; Hoffman et al., 1996; Wiltbank et al., 2002), la incapacidad de ovular y la prolongación del APP. Es el estímulo del amamantamiento por sí mismo el que suprime la secreción de gonadotropinas, más que grandes concentraciones de prolactina asociadas con el amamantamiento (Williams, 1990).

En efecto, el amamantamiento es uno de los estímulos exteroceptivos que juega un rol mayor gobernando los ciclos reproductivos en la hembra. El amamantamiento prolonga el APP en vacas de carne y de leche; el aumento en la duración del APP es proporcional al número de terneros que maman y a la frecuencia del estímulo del amamantamiento. (Williams, 1990). La presencia de terneros que no maman prolonga el intervalo a la primera ovulación posparto de sus madres, pero el APP es más corto que en vacas que tienen sus terneros amamantando *ad libitum*. Estas observaciones indican que la sola presencia del ternero, sin amamantar, es un factor que limita el reinicio del ciclo estral en vacas con cría al pie (Hoffman et al, 1996). En vacas de carne amamantando, el intervalo entre el parto y el primer estro varía de 60 a 100 días (Yavas y Walton, 2000a; Quintans et al., 2009; Quintans et al., 2010; Scarsi, 2012).

Se han estudiado distintas alternativas de manejo del amamantamiento para acortar el APP. Se ha investigado sobre los efectos del destete precoz (DP) (Williams, 1990; de Castro et al., 2006), el amamantamiento limitado o destetes temporarios con separación o no del ternero, obteniéndose resultados positivos (de Nava, 1994; Quintans et al., 2005, 2009; de Castro et al., 2011). Con la remoción del ternero por medio del DP, la concentración, frecuencia pulsátil y amplitud de la LH aumentan y el período de APP se acorta (Williams, 1990; Hoffman et al., 1996). El DP implica la separación total y definitiva de los terneros de sus madres y por ende el fin del amamantamiento

(De Castro et al., 2006), por lo que, por un lado se elimina el efecto inhibitorio del amamantamiento sobre el eje reproductivo y por otro se eliminan las necesidades de nutrientes para la producción de leche. Generalmente se aplica alrededor de los 2-3 meses posparto cuando los terneros tienen un peso mayor de 65-70 Kg. El DP reduce el intervalo parto ó primer estro, aumenta la tasa de concepción (Williams, 1990; Quintans et al., 2009) y su efecto es más marcado en vacas con pobre CC (menor a 4) y en las primíparas (de Castro et al., 2002). La rapidez de respuesta en la manifestación de estro después de un DP depende principalmente de la CC de las vacas. En general, la primera ovulación, en un alto porcentaje de las vacas, es acompañada por un ciclo estral corto (alrededor de 7 a 10 días) y posteriormente se restablece la ciclicidad estral normal (Yavas y Walton, 2000a; Wiltbank et al., 2002; Quintans et al., 2009). Si los animales están en moderada CC y con más de 60 días posparto (DPP), a los 10 a 12 días comienzan a observarse vacas en estro. Quintans et al. (2009) y de Castro et al. (2011) observaron que vacas sometidas a DP a los 72 DPP, presentaban en promedio la primera ovulación entre los 91 - 94 DPP.

En Uruguay el control del amamantamiento es la tecnología más adoptada para aumentar las tasas de preñez y destete, con 53% de los establecimientos realizándola. De estos establecimientos el 84% aplican destete temporario (uso de tablilla nasal en los terneros), el 6 % DP y el 10% restante utilizan una mixtura entre ambos tipos de destete (Encuesta ganadera, DIEA, 2004).

Nutrición

La subnutrición durante el último tercio de gestación e inicio de la lactancia que se refleja en una baja CC al parto e inicio del entore, influye negativamente el reinicio de la ciclicidad ovárica (Stagg et al., 1995). La CC de las vacas al parto está altamente correlacionada con la duración del anestro y los porcentajes de preñez al siguiente servicio, así como con el desarrollo folicular temprano en el posparto, con el contenido de gonadotropinas a nivel hipofisario y con la pulsatilidad de LH (Yavas y Walton, 2000a). El incremento de la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa de estradiol está involucrado en el mecanismo por el cual la subnutrición alarga el APP (Wiltbank et al., 2002). Si bien a la fecha aún se desconoce el rol de nutrientes específicos sobre la reproducción, hay acuerdo en que para una óptima reproducción es necesaria una apropiada cantidad de nutrientes y que la alimentación pre-parto es fundamental en la determinación del APP (Hess et al., 2005). En nuestras condiciones de producción el último tercio de gestación de las vacas coincide con la menor disponibilidad y calidad de las pasturas naturales. Es así que las vacas sufren un balance energético negativo que se refleja en una pérdida de la CC, aumento de la concentración plasmática de los ácidos grasos no esterificados y de urea y una disminución de la concentración de colesterol, glucosa e insulina y un reinicio de la actividad ovárica que se prolonga más allá de los 110 días posparto (Quintans et al., 2010; Scarsi, 2012). Se han investigado los efectos de suplementaciones tanto en el preparto como en el periodo preentore con resultados alentadores (Pérez-Clariget et al., 2008; Scarsi, 2012; Astessiano et al., 2013; Soca et al., 2013).

Hormonas y tratamientos hormonales

El APP es consecuencia de la imposibilidad que presentan los folículos para completar su desarrollo debido a la inhibición de la pulsatilidad de la GnRH/LH por la elevada sensibilidad hipotalámica a la retroalimentación negativa del estradiol (Wiltbank et al., 2002). No es de sorprenderse, entonces, que con la finalidad de restaurar la pulsatilidad de LH necesaria para

culminar el desarrollo folicular y reanudar la ciclicidad ovárica, se hayan planteado distintos tratamientos hormonales para acortar el APP.

La GnRH fue utilizada en distintas formas de aplicación (inyección simple, intermitente y continua), sin embargo, estas metodologías fueron consideradas no viables en la práctica (Yavas y Walton, 2000b; Peters, 2005). La GnRH es un decapeptido sintetizado en el hipotálamo y que induce la síntesis y liberación de la LH en la adenohipófisis (Peters, 2005). La administración de GnRH induce un pico de LH inmediatamente después de su aplicación, induciendo 24 a 30 horas después la ovulación de los folículos preovulatorios que presentan receptores de LH (Twagiramungu, 1995). Se ha observado que a las 36 a 48 horas de su aplicación, emerge una nueva onda folicular (Pursley et al., 1995). La concentración de receptores de LH en las células de la granulosa aumenta al final del crecimiento folicular, por lo tanto la capacidad del folículo de ovular en respuesta al incremento de la concentración de LH está relacionada con el diámetro folicular (Sartori et al., 2001; Wiltbank et al., 2002). Este hecho explica porque la ovulación ocurre en la mayoría pero no en todas las vacas tratadas con GnRH (Twagiramungu, 1995). Por otra parte, el tratamiento con GnRH no cambia el destino de un folículo dominante ya sometido a atresia, y en consecuencia no rescata al folículo de la atresia (Twagiramungu, 1995). La GnRH es utilizada hoy en asociación con otras hormonas para protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).

Otras hormonas utilizadas sin éxito para disminuir el intervalo del APP fueron las gonadotropinas: FSH, gonadotropina coriónica humana (hCG) y gonadotropina coriónica equina (eCG), pero no tuvieron efectos consistentes (Yavas y Walton, 2000b). Estas hormonas pueden estimular el crecimiento del folículo dominante y eventualmente la ovulación, pero ninguna de ellas promueve la maduración terminal de los folículos dominantes, para lo cual es esencial una adecuada frecuencia pulsátil de LH (Yavas y Walton, 2000b; Robson et al, 2007). Actualmente, la eCG es la gonadotropina que se recomienda incluir en protocolos de IATF en vacas en anestro (Bó et al., 2003; Small et al., 2009; Mapletoft y Bó, 2013; Menchaca et al., 2013). La eCG es una glicoproteína de alto peso molecular sintetizada en los cálices endometriales de la yegua gestante y tiene una vida media larga de aproximadamente 40 horas (Bó et al., 2011). Se une a los receptores de LH y FSH estimulando así a las células de la teca y de la granulosa del folículo dominante; también estimula la secreción de P4 por el CL temprano. Al promover el crecimiento folicular, genera un ambiente endocrino más adecuado durante el proestro (más estradiol) y el diestro (más progesterona), lo que es favorable para aumentar la fertilidad (Baruselli et al., 2004; Sá Filho et al., 2010b).

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 estro desde hace mucho tiempo (Odde, 1990; Yavas y Walton, 2000b). 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 estro, eran de larga duración (9 a 14 días), con ellos se logró una

buena sincronización estral 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, 2000b; Wiltbank et al., 2002). El *õprimingö* o exposición a niveles elevados de P4 es necesario para la expresión de estro y para el desarrollo de una fase lútea de duración normal (Yavas y Walton, 2000b; 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, 2000b). 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 F₂ (PG), y c) reanudación de la ciclicidad posparto (Yavas y Walton, 2000b).

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.

El otro esteroide ovárico utilizado en tratamientos para sincronizar estros fue el E2 con el cual se inducía el estro, 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, 2000b). Sin embargo, esta hormona es utilizada asociada a otras hormonas en protocolos de IATF.

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 estros en vacas ciclando (Odde, 1990). El uso de la PG en cualquiera de sus metodologías (2 dosis separadas por 11 días; detección de estro durante 5 días + PG) es de los métodos de mayor difusión, sin embargo, tiene la desventaja de requerir necesariamente de la detección de estros. Luego de producida la luteólisis el intervalo hasta el inicio del estro 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 lisar el CL inducido en todos los protocolos de IATF, al momento de su inyección los animales con un folículo dominante en crecimiento presentaran estro 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 estro 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 ó sincronización estral (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 BE, 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 ó PG, se han desarrollado distintos protocolos de sincronización estral para realizar IA con detección de estro (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., 2001, 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 estro antes de la inyección de PG (estros 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.

Cuando la eCG se incorpora a protocolos de IATF incrementa la tasa de preñez en vacas y vaquillonas en anestro y con baja CC, 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 (\times 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 estral con la implementación de los protocolos para IATF es una alternativa interesante en los sistemas ganaderos, porque permiten acortar el 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, 2000b). 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 ó 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 estral. 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 estral 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 estro 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 estros.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

Los bajos porcentajes de destete y la baja adopción de la IA en los predios ganaderos son limitaciones de la cadena cárnica a resolver. Los métodos de IATF han dado muy buenos resultados en los protocolos que incorporan P4, sin embargo, subyacen inconvenientes a los que se debe dar respuesta si se pretende una difusión masiva de esta tecnología. Con los dispositivos de P4 disponibles en la actualidad se obtienen buenos resultados dependiendo de la CC, categoría y manejo de la lactancia a la que esté sometido el rodeo (Menchaca et al, 2013), sin embargo, la gestión de los residuos presenta cierto grado de dificultad. Uno de los aspectos que se debe tener en cuenta es el posible impacto ambiental que podría generar el uso de protocolos de IATF en forma masiva, por lo que la gestión de residuos es un tema a tener en cuenta. No existe en nuestro país información sobre posible contaminación de corrientes de agua por esteroides utilizados en las tecnologías reproductivas, sin embargo, en EEUU se encontró residuos de P4 y de acetato de melengestrol en cursos de agua (Kolok et al., 2007). La aparición en el mercado de una P4 oleosa de fácil acceso, plantea una posible alternativa para sustituir los dispositivos intravaginales (DIV), es más fácil, rápida y segura de aplicar, garantiza la dosis que cada vaca recibe, y sus residuos son de más fácil gestión. Sin embargo, para recomendar esta opción se debe testear que los resultados que se obtengan sean similares o mejores que los que se obtienen con los DIV. Por otro lado, el abaratamiento del costo de los tratamientos, podría ser un elemento que facilite la difusión de la IATF. En este sentido, se plantea como una opción a probar la utilización de esponjas intravaginales de fabricación casera impregnadas con Acetato de Medroxiprogesterona (MAP). Sea una fuente o la otra, es conveniente contar con alternativas que puedan adaptarse a distintas situaciones, si se quiere contribuir a la difusión de la técnica como una alternativa para disminuir el largo APP que sufren las vacas de carne con ternero al pie y difundir las bondades de la inseminación artificial y de la sincronización estral.

Hipótesis general:

Otras formas de administración de progesterona, como la inyectable en base oleosa o esponjas de poliuretano impregnadas con MAP, son alternativas para mejorar los resultados de inducción/sincronización estral o sustituir los DIV en protocolos de IATF.

Objetivo general:

Estudiar los efectos de la administración de una progesterona natural inyectable en base oleosa y de esponjas de poliuretano impregnadas con MAP en protocolos de inducción/sincronización estral o de IATF en vacas de carne.

3. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN

Para desafiar las hipótesis propuestas y cumplir con los objetivos, se realizaron tres experimentos que se presentan a continuación y en forma seriada.

3.1 EXPERIMENTO I. Efecto de la adición de progesterona inyectable en base oleosa a un protocolo de sincronización estral en vacas de carne sometidas a destete precoz.

Hipótesis: El agregado de P4 oleosa inyectable al protocolo Select Synch (SS) + eCG mejora los porcentajes de estro y preñez cuando se incluye en protocolos de inducción de ciclicidad

Objetivo: Comparar la adición de P4 oleosa inyectable a un protocolo Select Synch + eCG en vacas de carne en anestro sometidas a destete precoz e inseminadas artificialmente y evaluar su efecto en los porcentajes de estros, concepción y preñez obtenidos.

3.2 EXPERIMENTO II. Comparación de dos métodos de aplicación de progesterona en protocolos de inseminación a tiempo fijo en vacas de carne.

Hipótesis: Las tasas de preñez obtenidas cuando se sustituyó el DIV por una P4 oleosa inyectable en un protocolo de IATF en vacas de carne sometidas a destete precoz no son diferentes, y son independientes del estatus ovárico o categoría.

Objetivo: Comparar las tasas de preñez obtenidas cuando se utilizó P4 en forma oleosa inyectable o un DIV en un protocolo de IATF en vacas nulíparas, primíparas y multíparas sometidas a destete precoz y con diferente estatus ovárico.

3.3 EXPERIMENTO III. Comparación del uso de un dispositivo intravaginal de progesterona y esponjas intravaginales de medroxiprogesterona en un protocolo de IATF en ganado de carne.

Hipótesis: La tasa de preñez obtenida cuando se sustituye el DIV de silicona impregnado con P4 por esponjas de poliuretano intravaginales de producción artesanal impregnadas con MAP, en un protocolo de IATF en vacas de carne no es diferente.

Objetivo: Comparar las tasas de preñez obtenidas cuando la fuente de progesterona utilizada en un protocolo de IATF en ganado de carne fue un DIV de silicona impregnado con P4 o esponjas de poliuretano impregnadas con MAP.

3.1 EXPERIMENTO I

Materiales y Métodos

Los procedimientos con animales fueron aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.

Localización, animales, diseño experimental y tratamientos

El trabajo se llevó a cabo en un establecimiento comercial localizado en el Departamento de Flores, Uruguay, durante el periodo de entore (diciembre 2007 a febrero 2008). Se utilizaron 120 vacas Hereford primíparas (22) y multíparas (98), amamantando, que habían parido entre el 15 al 30 de setiembre del 2007. Cuando las vacas tenían entre 64 y 79 días posparto (DPP), todos los terneros fueron destetados de sus madres (Día - 10: destete precoz). En ese momento las vacas tenían una condición corporal (CC) de $3,40 \pm 0,03$ unidades (promedio \pm e.e.m; escala: 1-8; Vizcarra et al., 1986) siendo la mediana 3,5 unidades. Diez días después (Día 0: inicio de los tratamientos) las vacas fueron estratificadas por CC y categoría (primíparas y multíparas) formando dos grupos homogéneos de animales; los animales de cada grupo se asignaron al azar a los siguientes tratamientos: i) Grupo Select Synch + eCG (SS + eCG; n=59, 11 primíparas y 48 multíparas): estos animales recibieron el Día 0, 12 μ g de un análogo sintético de GnRH (Buserelina, Gestar, Laboratorio Over, Santa Fe, Argentina) intramuscular y el Día 7, 0,15 mg de un análogo sintético de PG (D-cloprostenol, Veteglan, Laboratorio Calier, Barcelona, España) y 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG; Biogón Plus, Laboratorio Biogénesis Bagó, Montevideo, Uruguay), intramuscular; ii) Grupo Select Synch + eCG + P4 (SS + eCG + P4; n = 61, 11 primíparas y 50 multíparas): estos animales recibieron similar tratamiento que el grupo anterior excepto que el Día 0, junto con la GnRH, recibieron también una dosis de 8 cc subcutánea de 200 mg de P4 inyectable (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

Todas las vacas pastoreaban en un mismo potrero de campo natural y fueron manejadas en forma similar.

Detección estral, IA y diagnóstico de gestación

Desde el Día 4 al 13 se detectó dos veces por día y se consideró que la vaca estaba en estro cuando se dejaba montar. Esas vacas fueron inseminadas 12 horas post detección, por el mismo técnico y utilizando semen de seis toros de calidad y fertilidad conocida. Los toros fueron balanceados de tal manera que quedaran uniformemente distribuidos entre los tratamientos. La preñez fue diagnosticada el Día 43 por medio de ultrasonografía (Agroscan ALR 575, Angoulême, Francia) con sonda lineal de uso transrectal de 5 MHz.

Muestras y determinaciones

Los Días -10, 0 y 7 se extrajeron muestras de sangre a todas las vacas por venipunción yugular, utilizando tubos con vacío. Las muestras fueron centrifugadas y el suero almacenado a -20 °C hasta su procesamiento. La concentración de P4 fue determinada por radioinmunoanálisis de fase sólida (Coat-a-Count, Medlab SA, Montevideo, Uruguay) en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria. Todas las muestras fueron analizadas en un solo ensayo, con una sensibilidad de 0,01 ng/mL. El coeficiente de variación intraensayo para los controles bajo (0,7 ng/mL), medio (2,1 ng/mL) y alto (7,7 ng/mL), fue 9,6%, 6,9% y 10,3%, respectivamente.

Análisis Estadístico

Los datos de estro y preñez fueron analizados utilizando modelos generalizados (procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EEUU) especificando la distribución binomial y la transformación logit de los datos. El modelo incluyó los efectos del tratamiento, la CC y el número de partos como efectos fijos y sus interacciones y la vaca como efecto aleatorio. Para analizar el efecto de la CC las vacas fueron categorizadas en $CC \times 3,5$ y $CC < 3,5$. También se estudió el efecto de la concentración de P4 los Días 0 y 7 sobre los porcentajes de estro y preñez. Para ello, las vacas fueron categorizadas de acuerdo a los niveles de P4 en: Alta - Alta (AA): progesterona $\times 1$ ng/mL los Días 0 y 7; Alta - Baja (AB): progesterona $\times 1$ ng/mL el Día 0, progesterona < 1 ng/mL el Día 7; Baja - Alta (BA): progesterona < 1 ng/mL el Día 0, progesterona $\times 1$ ng/ml el Día 7, y Baja - Baja (BB): progesterona < 1 ng/mL ambos días. La separación de medias se realizó por el test de Tukey-Kramer cuando el efecto principal fue significativo. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P \leq 0,05$ y se consideró que existía una tendencia cuando $0,05 < P \leq 0,10$. Los resultados se expresan como media \pm EE cuando corresponde.

Resultados

Antes de realizar el destete solo dos vacas (2%) presentaban niveles de P4 compatibles con un CL funcional. Diez días después del destete al iniciar los tratamientos, 93% presentaban valores de P4 por encima de 1 ng/mL por lo que se definió que las vacas ya habían reiniciado su ciclicidad ovárica cuando se aplicaron los tratamientos.

La aplicación de la progesterona inyectable no afectó el intervalo tratamiento - estro detectado (SS + eCG: $6 \pm 0,13$ vs SS + eCG + P4: $7 \pm 0,13$ días; $P = 0,42$). En el grupo SS + eCG + P4, las seis vacas que manifestaron estro habían tenido niveles de progesterona compatibles con un CL funcional el Día 0. En el Grupo SS + eCG de las nueve vacas seis presentaron progesterona $\times 1$ ng/mL el Día 0 y tres por debajo de esa concentración. De las primeras, 5 quedaron gestantes y de las segundas solo una quedó gestante (P Alta: 83% vs. P Baja: 33%; $P = 0.135$). Los resultados se presentan en los cuadros 1 y 2.

Cuadro I. Tasas de estros, concepción y preñez en los periodos de detección estral en vacas sometidas a un protocolo Select Synch + gonadotropina coriónica equina que recibieron (SS + eCG + P4) o no (SS + eCG) progesterona oleosa.

	Tratamiento ¹	
	SS+eCG n (%)	SS+eCG+P4 n (%)
<i>Período 0-7 días</i>		
n	59	61
Estro	9 (15)	6 (10)
Concepción	6 (67)	4 (67)
<i>Período 7-13 días</i>		
n	50	55
Estro	30 (60)	36 (65)
Concepción	21 (70)	29 (81)
<i>Periodo 0-13 días</i>		
n	59	61
Estro	39 (66)	42 (69)
Preñez	27 (46)	33 (54)

¹SS + eCG= los animales recibieron el Día 0, 12 µg de un análogo sintético de GnRH intramuscular y el Día 7, 0,15 mg de un análogo sintético de PG + 400 UI de eCG; SS+ eCG + P4 = los animales recibieron similar tratamiento que el grupo anterior excepto que el Día 0 junto con la GnRH recibieron también una dosis subcutánea de 200 mg de P4 inyectable.

Cuadro II. Tasas de estro y preñez de acuerdo al momento de la manifestación estral y el nivel sérico de p4 en vacas sometidas a un protocolo Select Synch + gonadotropina coriónica equina que recibieron (SS + eCG + P4) o no (SS + eCG) progesterona oleosa

	Tratamiento ¹					
	SS+eCG			SS+eCG+P4		
	n	Estro n (%)	Preñez n (%)	n	Estro n (%)	Preñez n (%)
Período 0-7 días						
Nivel de P4 Día 0						
Alto	6	6 (100)	5 (83)	6	6 (100)	4 (67)
Bajo	3	3 (100)	1 (33)	0		
Período 7-13 días						
Nivel de P4 Día 0 y 7						
Alto - Alto	25	19 (76) ^a	12 (48)	40	30 (75) ^a	23 (58)
Alto ó Bajo	20	9 (45) ^b	7 (35)	14	6 (43) ^b	6 (43)
Bajo ó Alto	3	2 (67) ^{ab}	2 (67)	0	0	0
Bajo - Bajo	2	0	0	1	0	0

¹SS + eCG= los animales recibieron el Día 0, 12 µg de un análogo sintético de GnRH intramuscular, y el Día 7 0,15 mg de un análogo sintético de PG + 400 UI de eCG; SS + eCG + P4= los animales recibieron similar tratamiento que el grupo anterior excepto que el Día 0 junto con la GnRH recibieron también una dosis subcutánea de 200 mg de P4 inyectable.

Literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,001).

La PG fue, entonces, aplicada a 50 y 55 animales del grupo SS + eCG y SS + eCG + P4, respectivamente. El agregar la P4 inyectable al tratamiento SS no aumentó el número de vacas detectadas en estro (P = 0,40), ni el porcentaje de concepción (P = 0,48), ni la de estros totales (P = 0,74), ni la tasa de preñez (P = 0,36). Los resultados se presentan en el Cuadro 1. La aplicación de la progesterona inyectable tampoco afectó el intervalo fin del tratamiento - estro (SS + eCG: 3 ± 0,26 vs SS + eCG +P4: 3 ± 0,26 días; P = 0,38).

No se contaba con la información de la concentración de progesterona al momento de asignar los tratamientos. El azar determinó que 86% y 98% (P = 0,009) de las vacas que presentaron valores > 1 ng/mL de progesterona fueran asignadas a los grupos SS + eCG y SS + eCG + P4, respectivamente. El Día 7, previo a la aplicación de la PG, una mayor (P = 0,005) proporción de vacas del grupo SS + eCG + P4 presentaron valores de P4 > 1 ng/mL los Días 0 y 7 (72%) que las vacas del grupo SS + eCG (50%). No se observó diferencia (P = 0,36) entre grupos en la proporción de vacas que mostraron valores de P4 > 1 ng/mL el Día 0 y P4 < 1 ng/mL el Día 7 (SS + eCG: 40% vs. SS + eCG + P4: 25%).

Independientemente de los tratamientos, la ocurrencia de estros fue afectada (P = 0,001) por los niveles de P4 los Días 0 y 7, sin embargo, ello no afectó la tasa de concepción (P = 0,33). Los resultados se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro III. Tasas de estro y preñez de acuerdo a los niveles séricos de progesterona el día de inicio de los tratamientos hormonales (Día 0) y el día de la aplicación de la prostaglandina (Día 7)

Niveles de P4 ¹	n	Estro		Preñez	
		n	%	n	%
AA	65	49	75 ^a	35	54
AB	34	15	44 ^b	13	38
BA	3	2	67 ^{ab}	2	67
BB	3	0	0 ^c	0	

¹AA= P4 alta el Día 0 y alta el Día 7; AB= P4 alta el Día 0 y baja el Día 7; BA= P4 baja el Día 0 y alta el Día 7; BB= P4 baja el Día 0 y baja el Día 7.

Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.001$).

Independientemente de los tratamientos, la categoría afectó la presentación de estros luego de la aplicación de PG ($P = 0,0097$) y durante el total del periodo ($P = 0,0042$) pero no la presencia de estros prematuros ($P = 0,16$). Sin embargo, no se encontraron diferencias ($P = 0,66$) entre categorías en el porcentaje de vacas que presentaron niveles de P4 $\times 1$ ng/mL los Días 0 y 7. A pesar que 15% más de vacas primíparas presentaron niveles de P4 < 1 ng/mL el Día 7 esta diferencia no fue estadísticamente significativa. El porcentaje de concepción no fue afectado por la categoría ($P = 0,36$), pero la tasa de preñez fue mayor ($P = 0,05$) en las múltiparas que en las primíparas. Los resultados se presentan en el Cuadro 4. No se encontró interacción tratamiento y categoría ni para la presentación de estros ni tasa de preñez ($P > 0,9$).

Cuadro IV. Tasas de estro, concepción y preñez de acuerdo a la categoría y periodo de detección

Categoría	Período de detección Estral ¹				Concepción		Preñez n (%)
	Post GnRH		Total	Post PG			
	n	n (%)		n (%)	n (%)	n (%)	
Múltiparas	98	14 (14)	58/84 (69) ^a	72/98 (73) ^a	9/14 (64)	44/58 (76)	53/98 (54) ^a
Primíparas	22	1 (5)	8/21 (38) ^b	9/22 (41) ^b	1/ 1 (100)	6/8 (75)	7/22 (32) ^b

¹Post GnRH = Período 0 - 7 días; Post PG = Período 7-13 días.

Literales diferentes (a, b) en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

La CC fue similar entre las vacas múltiparas y las vacas primíparas ($P = 0,85$) y entre tratamientos ($P = 0,70$). Independientemente de los tratamientos y la categoría, la CC afectó el porcentaje de estros ($p = 0,009$) y de preñez ($P = 0,04$) pero no el de concepción (CC $\times 3,5$: 76% vs CC $< 3,5$: 72%; $P = 0,80$). El porcentaje de vacas en estro y preñadas fue mayor en las vacas con CC $\times 3,5$ que en vacas con CC $< 3,5$ (CC $\times 3,5$: 76% y 58% vs CC $< 3,5$: 54% y 39%, porcentaje de estros y preñez respectivamente). No se encontró interacción entre tratamiento y CC ni para la presentación de estros ni tasa de preñez ($P > 0,5$).

Discusión

Agregar subcutáneamente 200 mg de P4 en base oleosa al protocolo SS +eCG el mismo día de la aplicación de la GnRH a vacas de carne destetadas 10 días antes y que habían re-iniciado su ciclicidad ovárica, no resultó en una mayor tasa de estro o preñez, ni disminuyó la presentación de estros prematuros, por lo que no mejoró el grado de sincronización. Independientemente de los tratamientos, es posible que las vacas que presentaron niveles de P4 \times 1 ng/mL presentaran un CL (Meikle et al, 2004) el día de la aplicación de la PG, lo que podría explicar la mayor proporción de vacas manifestando estro, sin que ello influyera la tasa de preñez. Por otra parte, las vacas multíparas y las que presentaban una CC \times 3,5, al comienzo de los tratamientos, independientemente de la categoría, tuvieron un mejor desempeño tanto en la presentación de estro como en el porcentaje de preñez, sin que la tasa de concepción fuera diferente.

Los porcentajes de estro y preñez observados en ambos tratamientos, independientemente de la categoría de las vacas, son similares a los reportados por otros autores que utilizaron protocolos a base a GnRH ó PG (Stevenson et al., 2000; Dejarnette et al., 2001; Richardson et al., 2002; Larson et al., 2006).

Una de las ventajas que tiene asociar una fuente de P4 a protocolos de sincronización estral a base a GnRH ó PG, es prevenir la incidencia de estros prematuros que se presentan luego del GnRH y antes de la PG (Lamb et al., 2010). En efecto, agregar MGA (Dejarnette et al., 2001) o CIDR (Larson et al., 2006) disminuye o inhibe la presentación de estros luego de la aplicación de GnRH. En el presente trabajo, contrariamente a lo reportado por estos autores, la aplicación de MAD-4 no impidió o disminuyó la incidencia de estros prematuros. Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por autores que utilizaron el protocolo SS sin P4 asociada (Geary et al., 2000). Estos estros anticipados disminuyen el grado de sincronización y por lo tanto la cantidad de vacas inseminadas pos aplicación de la PG y afectan los resultados. Los estros prematuros obligan a detectar estro durante los 7 días que transcurren entre la aplicación de la GnRH y la PG con los perjuicios que ello implica en tiempo, personal y movimiento de animales.

La aplicación de GnRH induce la liberación de LH que es responsable de la ovulación de folículos dominantes (Twagiramungu et al., 1995). Altas concentraciones plasmáticas de P4 interfieren con la pulsatilidad de LH (Bergfeld et al, 1996), por lo que una alta concentración de P4 al momento de aplicar la GnRH interfiere con la respuesta ovulatoria inducida por la gonadotropina (Colazo et al., 2008; Perry y Perry, 2009). Es posible que la fuente de P4 utilizada en el presente trabajo no fuera capaz de mantener concentraciones altas del esteroide durante el tiempo suficiente para inhibir la ovulación y los estros prematuros. Existe evidencia que los niveles de P4 circulantes disminuyen a las 52 h (Cavestany et al., 2008b) o 96 h (Corrêa Rocha et al., 2011) post-inyección de dosis entre 250 a 400 mg de la misma P4 utilizada en este trabajo. Por lo que, los niveles altos de P4 que presentaban las vacas el día 7 provendrían no de la fuente de P4 utilizada sino que sería P4 endógena proveniente de un CL.

Si bien este trabajo no fue diseñado para evaluar el impacto del destete precoz sobre el re-inicio de la ciclicidad ovárica, los resultados sugieren que el destete 10 días antes del inicio de los tratamientos indujo el re-inicio de la ciclicidad ovárica en la mayoría de las vacas. Es frecuente que vacas de carne con CC similar a la del presente trabajo, se encuentren en anestro a los 70 DPP, tal como lo estaban previo al destete (Quintans et al., 2009; Astessiano et al., 2011, 2013; Mechaca et al., 2013). Por otra parte, los resultados obtenidos son similares a los reportados por Mechaca et al.

(2013) cuando asocian un tratamiento de IATF utilizando sales de estradiol, P4, PG y eCG al destete precoz (56,5%), pero fueron superiores a cuando el mismo tratamiento fue aplicado a las vacas con ternero al pie (34,8%).

Hay que tener en cuenta que, independientemente del tratamiento hormonal, la aplicación de la PG indujo el estro solo en 63% de las vacas. La mayoría de ellas (77%) presentaban niveles altos de progesterona el día de la aplicación. Es posible que las vacas que se identificaron en estro y presentaron valores de $P4 < 1$ ng/mL se encontraran al final de la fase luteal. Independientemente de los niveles de P4 presentados por las vacas, los resultados de presentación de estro pos aplicación de PG coinciden con los que se reportan cuando se aplica una sola dosis de PG en animales ciclando (Odde, 1990). Se podría asumir, entonces, que la GnRH aplicada el día de inicio de los tratamientos, no logró inducir la ovulación y la subsiguiente formación de un CL en la tercera parte de las vacas tratadas. Es posible que, los niveles elevados de progesterona el día de la aplicación de la GnRH, como consecuencia de la inducción de la ovulación por el destete realizado 10 días antes, interfirieran con la liberación de LH y disminuyeran la respuesta ovulatoria en las vacas (Colazo et al., 2008). Quizás, protocolos que comienzan con la aplicación de la GnRH el Día 0, no serían los más adecuados para asociar a la técnica de destete. Por otra parte, la diferencia en la cantidad de animales que presentaron niveles séricos de $P4 \times 1$ ng/ml entre los días 0 y 7 podría ser explicada por la presencia de cuerpos lúteos de vida media corta inducidos por el DP realizado el día 0 ó 10. Es frecuente que la primera ovulación pos parto vaya seguida de un CL de vida media corta (Odde et al., 1980).

La falla en la sincronización de estro se hizo más evidente en las vacas primíparas que en las multíparas lo que determinó que el resultado de preñez final fuera menor en esta categoría. Se suele tener mejores resultados de preñez cuando los tratamientos hormonales son aplicados a vacas multíparas que a primíparas (Stevenson et al., 2000).

Como era esperable, la CC afectó la tasa de preñez; las vacas con $CC \times 3,5$ tuvieron 19% más de preñez que las vacas con CC inferior. La probabilidad de preñez está condicionada por la CC al parto y comienzo del entore (Orcasberro et al., 1992). En el presente trabajo todas las vacas, tanto multíparas como primíparas estaban en CC subóptima (Orcasberro et al., 1992), sin embargo, la asociación de destete precoz con los protocolos estudiados permitió preñar al 50% de las hembras al primer servicio.

Conclusión

En el presente trabajo el agregar P4 inyectable oleosa al protocolo SS + eCG, no mejoró el porcentaje de animales que presentaron estro, ni el porcentaje de preñez. Independientemente del tratamiento, se obtuvieron mejores resultados de preñez en las vacas multíparas y en vacas con $CC > 3,5$.

3.2 EXPERIMENTO II

Material es y Métodos

Localización, animales, diseño experimental y tratamientos

Se realizaron dos experimentos, cada uno en un establecimiento comercial, Flores, Uruguay, (Latitud Sur: 34° 31' 22"; Longitud Oeste: 56° 16' 40") durante la temporada reproductiva (noviembre - marzo).

En el Establecimiento 1 se utilizaron 308 animales de la raza Aberdeen Angus, 178 nulíparas con un peso corporal de $298,4 \pm 1,8$ Kg (media \pm error estándar de la media [EEM]) y 130 vacas primíparas, de la misma raza, con una condición corporal (CC) al inicio de los tratamientos de $3,9 \pm 0,04$ unidades (escala: 1-8; Vizcarra *et al.*, 1986), siendo la mediana 4 unidades. Las vacas primíparas fueron sometidas a destete precoz (DP) un mes antes, cuando tenían entre 60 y 90 días posparto (DPP). Todas las vacas pastorearon en el mismo potrero de campo natural durante todo el experimento. Al momento de iniciar los tratamientos (día 0), se evaluó el estatus ovárico por medio de palpación rectal de los ovarios, clasificando a los animales en: ciclando (se palpaba un cuerpo lúteo; CL), en anestro superficial (se palpaban folículos de 10 mm o más y no CL) y anestro profundo (no se palpaban estructuras ováricas y los ovarios eran lisos y pequeños) (Wiltbank *et al.*, 2002). El día 0 los animales fueron asignados al azar de acuerdo a la categoría, estatus ovárico, a uno de los siguientes tratamientos: i) Grupo DIV (n=89 vacas nulíparas y 66 primíparas): cada animal recibió un dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P₄, (Cronipres M-24, Laboratorio Biogénesis Bagó, Montevideo, Uruguay), y ii) Grupo MAD-4 (n= 89 vacas nulíparas y 64 primíparas): cada animal recibió una dosis s-c de 200 mg de P₄ oleosa (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). La totalidad de los animales, independientemente de los tratamientos, también recibió ese mismo día 0, 2 mg de benzoato de estradiol (BE; Estradiol 10, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) vía im y el día 7,5 se les administró vía im 0,15 mg de un análogo sintético de PGF₂ (D-cloprostenol, Prostaglandina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG; Biogón Plus, Laboratorio Biogénesis Bagó, Uruguay). Dos días después, en la tarde (día 9,5), se aplicó vía i-m 8 µg de un análogo sintético de GnRH (Buserelina, GnRH, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). En el Establecimiento 2, se utilizaron 161 vacas multíparas, de la raza Aberdeen Angus con una CC promedio, al inicio de los tratamientos, de $3,1 \pm 0,03$ unidades, siendo la mediana 3 unidades. Las hembras habían sido destetadas 30 días antes, cuando tenían entre 60-90 DPP. El día 0 se evaluó el estatus ovárico en forma similar a como se hizo en las vacas del Establecimiento 1, las vacas fueron asignadas al azar teniendo en cuenta su CC y estatus ovárico a uno de los mismos tratamientos descritos anteriormente: i) Grupo DIV (n=80) y ii) Grupo MAD-4 (n=81).

Detección estral, IA y diagnóstico de preñez

En ambos establecimientos, el día 9 en la mañana se detectó estro, observando la monta homosexual para registrar los estros prematuros, es decir estros posteriores a la aplicación de PG y previos a la IATF. Se consideró vaca en estro aquella que aceptaba la monta. Las vacas detectadas en estro fueron inseminadas 12 h después. A las vacas que no se habían detectado en estro se les aplicó la dosis de GnRH en la tarde (día 9,5) y el día 10 en la mañana temprano, 60 h después de aplicada la PG, recibieron la IATF. Las inseminaciones en ambos establecimientos fueron realizadas por el mismo técnico, utilizando semen de tres toros de fertilidad previamente conocida, que fueron distribuidos al azar entre las categorías y tratamientos.

La preñez fue diagnosticada por medio de ultrasonografía transrectal (Agroscan ALR 575, Francia, equipado con sonda lineal rectal de 5 MHz) el día 40 luego de la IA.

Análisis Estadístico

Los datos de preñez fueron analizados utilizando modelos generalizados (procedimiento GENMOD del programa SAS, SAS Institute, Inc., Cary, NC, EE. UU.) especificando la distribución binomial y la transformación logit de los datos. Los modelos utilizados para analizar los datos obtenidos en el Establecimiento 1 incluyeron los efectos de tratamiento (DIV y MAD-4), categoría (nulíparas y primíparas), tipo de IA (a estro visto o IATF) y estatus ovárico (ciclando, anestro superficial o profundo) y las interacciones correspondientes. También se analizó el efecto de la categoría sobre estatus ovárico (presencia o ausencia de CL) y se estimó la correlación de Spearman entre estatus ovárico y categoría (PROC CORR).

Los datos obtenidos de las vacas del Establecimiento 2 se analizaron incluyendo en el modelo los efectos de tratamiento, estatus ovárico, tipo de IA, CC (CC \times 3,5 vs. CC $<$ 3,5) y las interacciones correspondientes. Se analizó la correlación de Spearman entre estatus ovárico y CC (PROC CORR). Se consideró que un efecto influía significativamente o las medias eran diferentes si $P \leq 0,05$ y que existía una tendencia si $0,05 < P \leq 0,10$.

Resultados

En el Cuadro 1 se presentan los valores de probabilidad (P) de los efectos estudiados sobre la tasa de preñez en el Establecimiento 1 y Establecimiento 2.

Cuadro V. Valores de probabilidad (P) de los efectos del tratamiento hormonal, categoría, estatus ovárico, tipo de IA, condición corporal y sus interacciones sobre la tasa de preñez en el Establecimiento 1 y Establecimiento 2

Efecto	Establecimiento 1	Establecimiento 2
Tratamiento hormonal	0,0001	0,0001
Categoría	0,48	
Estatus ovárico	0,0001	0,0834
Tipo de IA	0,83	0,0006
Condición Corporal	0,31	0,28
Interacción tratamiento x categoría	0,0056	
Interacción tratamiento x estatus ovárico	0,61	0,68
Interacción tratamiento x tipo de IA	0,77	0,76

Establecimiento 1

Al iniciar los tratamientos (día 0), un mayor porcentaje de vacas nulíparas presentaban CL comparado con las vacas primíparas (nulíparas: 65% vs. primíparas: 6%; $P < 0,0001$). El resto de las vacas nulíparas (35%) y 48% de las primíparas fueron diagnosticadas en anestro superficial. No se observaron vacas nulíparas en anestro profundo, mientras que 46% de las primíparas fueron clasificadas dentro de esa categoría. Como se esperaba, se encontró una alta correlación entre categoría y estatus ovárico ($r = 0,69$; $P < 0,0001$).

A pesar de que 24% más de vacas nulíparas que primíparas resultaron gestantes, esta diferencia no fue significativa (nulíparas: 46% vs. primíparas: 22%; $P = 0,48$). La tasa de preñez tampoco fue afectada por el tipo de inseminación (IA: 47% vs. IATF: 34%; $P = 0,83$). Sin embargo, se debe tener en cuenta que las hembras que se inseminaron a estro visto (IA) fueron solo 51, mientras que 257 recibieron IATF. No se encontró interacción entre tratamiento y estatus ovárico ($P = 0,61$) (Cuadro 2). La tasa de preñez fue afectada por el tratamiento hormonal (DIV: 44% vs. MAD-4: 28%; $P = 0,0001$; Cuadro 2) y el estatus ovárico previo al tratamiento ($P = 0,0001$). Independientemente de la categoría, las hembras clasificadas como ciclando al momento de iniciar los tratamientos tuvieron mayor ($P < 0,05$) tasa de preñez (54%) que las hembras en anestro superficial (30%) o en anestro profundo (13%; $P < 0,05$). La diferencia en la tasa de preñez entre las hembras que fueron clasificadas en anestro profundo y superficial fue también significativa ($P < 0,05$; Cuadro 2). También se encontró una interacción entre la categoría y el tratamiento ($P = 0,0056$). Un mayor porcentaje ($P < 0,05$) de vacas primíparas del grupo DIV quedó gestante (35%) comparado con el grupo MAD-4 (10%), sin embargo, no se encontraron diferencias entre tratamientos en el grupo de nulíparas (DIV: 51%; vs. MAD-4: 42%, $P > 0,1$; Cuadro 2). Aún más, el porcentaje de vacas nulíparas del tratamiento MAD-4 fue mayor ($P < 0,05$) que el de las vacas tratadas de igual manera (nulíparas: 42% vs. primíparas: 10%; Cuadro 2).

Cuadro VI. Efecto de la fuente de progesterona, estatus ovárico, categoría y el tipo de IA sobre la tasa de preñez (%) en vacas nulíparas y primíparas (Establecimiento 1).

	DIV¹	MAD-4²	TOTAL
Tratamiento	44 ^a (68/155)	28 ^b (43/153)	36 (111/308)
Estatus ovárico			
Anestro profundo	20 (7/35)	4 (1/25)	13 ^c (8/60)
Anestro superficial	45 (25/56)	17 (12/69)	30 ^b (37/125)
Ciclando	56 (36/64)	51 (30/59)	54 ^a (66/123)
Categoría			
Nulíparas	51 ^a (45/89)	42 ^a (37/89)	46 (82/178)
Primíparas	35 ^a (23/66)	10 ^b (6/64)	22 (29/130)
Tipo de IA			
Estro observado	47 (17/36)	47 (7/15)	47 (24/51)
IATF	43 (51/119)	26 (36/138)	34 (88/257)

¹DIV: dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P₄

²MAD-4: 200 mg vía s-c de P₄ oleosa.

Entre paréntesis el número de observaciones. Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$)

Establecimiento 2

Al momento de aplicar los tratamientos (día 0), 35% de las vacas multíparas se encontraba en anestro profundo, 63% en anestro superficial y solo 2% estaba ciclando. La CC de 113 vacas (70%) era < 3,5 y de las restantes 48 (30%) era CC × 3,5, solo dos vacas tenían una CC de 4. Es posible que esta distribución sea responsable, al menos en parte, de no haber efecto de la CC sobre la tasa de preñez (P = 0,28) en este trabajo. El estatus ovárico fue influido por la CC (P = 0,0002) encontrándose una correlación positiva (r=0,28) y significativa (P = 0,0003) entre estatus ovárico y CC. La tasa de preñez fue afectada por el tratamiento hormonal (DIV: 51% vs MAD-4: 9%; P = 0,0001; Cuadro 3). Independientemente de los tratamientos (interacción tratamiento x estatus ovárico: P = 0,68), se encontró una tendencia (P = 0,0834) del efecto del estatus ovárico previo al tratamiento sobre los resultados de preñez. En efecto, las vacas que se clasificaron como ciclando al momento de aplicar los tratamientos tendieron a presentar una tasa de preñez similar (P > 0,1) al de las vacas consideradas en anestro superficial, pero mayor (P < 0,05) al de las vacas catalogadas en anestro profundo. También la tasa de preñez de las vacas consideradas en anestro superficial fue mayor (P < 0,05) al de las vacas diagnosticadas en anestro profundo (ciclando: 33%; anestro superficial: 33%; anestro profundo: 25%; Cuadro 3). Sin embargo, se debe tener en cuenta que en este establecimiento solo tres vacas presentaban un CL en uno de los ovarios al iniciar los tratamientos. Independientemente del tratamiento (interacción tratamiento x tipo de IA: P = 0,7608), el tipo de IA afectó el porcentaje de preñez (IA: 55% vs. IATF: 21%; P = 0,0006; Cuadro 3).

Cuadro VII. Efecto de la fuente de progesterona, estatus ovárico, condición corporal y tipo de IA sobre la tasa de preñez (%) en vacas multíparas (Establecimiento 2)

	DIV¹	MAD4²	TOTAL
Tratamiento	51 ^a (41/80)	9 ^b (7/81)	30 (48/161)
Estatus ovárico			
Anestros profundo	48 (12/25)	6 (2/32)	25 ^y (14/57)
Anestros superficial	52 (28/54)	11 (5/47)	33 ^x (33/101)
Ciclando	100 (1/1)	0 (0/2)	33 ^x (1/3)
CC			
< 3,5	56 (31/55)	9 (5/58)	32 (36/113)
× 3,5	40 (10/25)	9 (2/23)	25 (12/48)
Tipo de IA			
Estro observado	66 (21/32)	25 (3/12)	55 ^a (24/44)
IATF	42 (20/48)	6 (4/69)	21 ^b (24/117)

¹DIV: dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P₄

²MAD-4: de 200 mg vía s-c de P₄ oleosa.

Entre paréntesis el número de observaciones.

Literales diferentes a y b indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) y x e y (P = 0,0834).

Discusión

Cuando en un protocolo de IATF se sustituyó como fuente de P_4 el dispositivo intravaginal (DIV) conteniendo 558 mg, por la aplicación de 200 mg vía s-c, de una dosis de P_4 oleosa inyectable (MAD-4) en vacas primíparas posparto (Establecimiento 1) y multíparas (Establecimiento 2), la tasa de preñez fue menor. Estos resultados coinciden con los publicados por de Olarte *et al.* (2013). Sin embargo, en el presente trabajo los resultados de preñez obtenidos con ambos tratamientos en las vacas nulíparas (Establecimiento 1) no fueron diferentes. En vacas en anestro, es imprescindible incluir un *priming* de P_4 en los protocolos de IATF para lograr buenos resultados, pero se puede prescindir del mismo cuando las vacas están ciclando (Lamb *et al.*, 2001; Stevenson *et al.*, 2002; Baruselli *et al.*, 2004). Es posible que el MAD-4 como fuente de P_4 no es capaz de mantener concentraciones altas del esteroide durante los 7 días de tratamiento, fallando en lograr el *priming* necesario para permitir que el folículo dominante finalizara su crecimiento y ovulara, condición imprescindible para que las vacas reiniciaran su actividad cíclica ovárica (Yavas y Walton, 2000). Existen evidencias que los niveles de P_4 circulantes disminuyen a las 52 h (Cavestany *et al.*, 2008b) o 96 h (Corréa Rocha *et al.*, 2011) post-administración de dosis entre 250 a 400 mg de MAD-4. También fue reportado que MAD-4 no fue capaz de mantener concentraciones séricas de P_4 capaces de inhibir la expresión de estros anticipados al período sincronizado (Cavestany *et al.*, 2008a).

Más aún, los resultados globales de tasa de preñez logrados en el Grupo DIV (46%), a pesar de la baja CC que presentaban las vacas paridas en el presente trabajo que pudo haber afectado los resultados (Baruselli *et al.*, 2004), están en el entorno de los reportados a nivel nacional (Menchaca *et al.*, 2013; asociado a destete precoz: 56,5%), regional (Sá Filho *et al.*, 2009: 49,6%, asociado a destete temporario; Vittone *et al.*, 2011: 55,6% asociado a destete precoz) o a nivel internacional (Lamb *et al.*, 2001: 54%) utilizando el mismo dispositivo o uno similar. Por otra parte, cuando se utilizó MAD-4 como fuente de P_4 , en la categoría nulíparas, la tasa de preñez obtenida (42%) no fue diferente al obtenido en el Grupo DIV y similar a los resultados publicados por Busch *et al.* (2007; 47%) y Cavestany *et al.* (2008a; 48%). Sin embargo, los resultados del Grupo MAD-4 en las vacas primíparas (Establecimiento 1) y multíparas (Establecimiento 2) fueron inferiores a los obtenidos en el Grupo DIV y a los reportados en la literatura antes mencionada. Se debe tener en cuenta, que en el presente trabajo, el 65% de las vacas nulíparas estaban ciclando, en esa situación es posible que la P_4 endógena cubriera la deficiencia de aporte de la hormona por parte del MAD-4. Mientras que, sorprendentemente, más del 90% de las vacas primíparas (Establecimiento 1) y las vacas multíparas (Establecimiento 2) fue diagnosticado en anestro al momento de iniciar los tratamientos, a pesar de haber sido destetadas 30 días antes. En estas categorías, entonces, el *priming* de P_4 era crítico para lograr el reinicio de la actividad cíclica ovárica.

El estatus ovárico influyó sobre la tasa de preñez, con las vacas ciclando presentando los valores más altos y las vacas en anestro profundo los más bajos, pero no se pudo detectar una interacción entre estatus ovárico y el tratamiento, a pesar de las diferencias aritméticas observadas, posiblemente porque el número de observaciones no fue suficiente, considerando la naturaleza binomial de la variable de respuesta. Es posible que al realizar el examen ovárico una sola vez se corrió el riesgo de aumentar los falsos negativos, sobre-estimando el número de vacas en anestro superficial, pero difícilmente el número de vacas en anestro profundo. Otros autores también han reportado diferencias de preñez en vacas de distinto estatus ovárico (Larson *et al.*, 2006; de Olarte *et al.*, 2013) o en función del diámetro del folículo mayor presente en el ovario (Sá Filho *et al.*,

2010a) cuando utilizan protocolos de sincronización de estral. Por su parte, el estatus ovárico estuvo asociado a la categoría (Establecimiento 1) y a la CC (Establecimiento 2), siendo las vacas nulíparas y las vacas con $CC \times 3,5$ las que en mayor proporción presentaban un CL en uno de sus ovarios. En el presente trabajo no se encontraron diferencias de acuerdo a la categoría cuando se utilizó el DIV como fuente de P_4 , a pesar de que la tasa de preñez de las primíparas fue 16% menor al obtenido con las nulíparas (Establecimiento 1). El efecto de la categoría y/o edad sobre la tasa de preñez obtenida en protocolos de IATF, no está claro. En la literatura se reportan diferencias a favor de las vacas multíparas (Kasimanickam *et al.*, 2006; Larson *et al.*, 2006), mientras que otros autores no reportan diferencias (Lamb *et al.*, 2001; Saldarriaga *et al.*, 2007).

Conclusión

De acuerdo a los resultados se puede concluir que en las condiciones en que este trabajo se realizó, la sustitución del DIV por la MAD-4 en un protocolo de IATF en vacas de carne, disminuyó la tasa de preñez en las vacas primíparas y multíparas pero no en las nulíparas. Los resultados de preñez con ambas fuentes de P_4 dependieron del estatus ovárico al inicio de los tratamientos, con las vacas ciclando presentando los mayores resultados y las vacas en anestro profundo los más bajos.

3.3 EXPERIMENTO III

Materiales y Métodos

Localización,

El trabajo se llevó a cabo en un establecimiento comercial localizado en el Departamento de Flores, Uruguay, latitud: 34° 31' 22" S. longitud: 56° 16' 40" O., durante la temporada reproductiva (noviembre de 2010- febrero de 2011).

Animales, diseño experimental y tratamientos

Se utilizaron 60 vacas primíparas, Aberdeen Angus (19) y sus cruizas con Hereford (41), con una condición corporal (CC de $4,03 \pm 0,07$ unidades (promedio \pm eem; escala: 1-8; Vizcarra et al., 1986) al momento de iniciar los tratamientos (Día 0), siendo la mediana 4 unidades. Las vacas habían parido en otoño y fueron destetadas 32 días antes de iniciar el trabajo, cuando tenían entre 160 y 180 días pos parto (DPP). El Día 0, antes de la aplicación de los tratamientos, las vacas fueron clasificadas de acuerdo a la estructura presente en los ovarios, CL (ciclando) o fólículo (anestro superficial) utilizando la palpación rectal (Wiltbank et al., 2002; Bó et al., 2003; Cassal Brauner et al., 2009). Posteriormente fueron asignadas al azar teniendo en cuenta la estructura predominante en el ovario y la CC a uno de los siguientes tratamientos: i) Grupo CO-SYNCH + P4 (n = 30): Cada vaca recibió un DIV conteniendo 750 mg de P4, (Pro-Ciclar®, Laboratorio Zoovet, Santa Fé, Argentina), y ii) Grupo CO-SYNCH + MAP (n = 30): Cada animal recibió un DIV artesanal (esponja de poliuretano) conteniendo 250 mg de MAP, previamente tratadas con 50 mg de oxitetraciclina para prevenir infecciones locales. También el Día 0, la totalidad de las vacas recibieron 8 μ g de un análogo sintético de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH; Buserelina, Gestar®, Laboratorio Over, Santa Fe, Argentina) i/m y el Día 7,5, al momento de la extracción de los DIV, se les inyectó i/m 0.15 mg de un análogo sintético de PG (D cloprostenol, Enzaprost®, Laboratorio Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina). El Día 9 se detectó estro observando la monta homosexual. Se consideró vaca en estro aquellas que se dejaban montar. Las vacas detectadas en estro fueron inseminadas 12 horas post detección (Día 9,5), por el mismo técnico y utilizando semen de un toro de calidad y fertilidad conocida. Las restantes vacas que no se detectaron en estro recibieron una segunda dosis de 8 μ g GnRH el Día 10, cuando fueron inseminadas a tiempo fijo (IATF) por el mismo técnico y utilizando el mismo semen de calidad y fertilidad conocida.

La preñez fue diagnosticada por medio de ultrasonografía (Agroscan ALR 575, Angoulême, Francia, equipado con sonda lineal rectal de 5 MHz) el Día 40.

Análisis estadístico

Los datos de preñez fueron analizados utilizando modelos generalizados (PROC GENMOD del paquete estadístico SAS; SAS Institute, Inc., Cary, NC, EEUU) especificando la distribución binomial y la transformación logit de los datos. El modelo utilizado incluyó los efectos de tratamiento, tipo de IA (a estro visto o IATF), estatus ovárico (ciclando y anestro), la CC (CC = 3,5 vs CC \times 4) y las interacciones correspondientes. Se analizó la correlación de Spearman entre estatus ovárico y CC (PROC CORR).

Resultados

Al inicio de los tratamientos, 58% de las vacas presentaban un CL y no se encontraron vacas en anestro profundo.

La tasa de preñez no fue influida ni por el tratamiento ($P=0,84$), ni por el estatus ovárico ($P=0,22$), ni por el tipo de IA ($P=0,49$) (Cuadro 1), ni por la CC categorizada ($P=0,73$; Cuadro 2). Tampoco se encontró una interacción tratamiento*tipo de IA ($P=0,50$), sin embargo la interacción entre el tratamiento y el estatus ovárico fue significativa ($P=0,015$). No se observaron diferencias en la tasa de preñez de acuerdo al estatus ovárico cuando se utilizó el tratamiento CO-SYNCH + P4 ($P=0,49$), sin embargo, la tasa de preñez fue diferente ($P=0,018$) cuando se utilizó el tratamiento CO-SYNCH + MAP en vacas ciclando comparado con vacas en anestro superficial (Cuadro 1). Por otro lado, la tasa de preñez lograda en vacas ciclando con el tratamiento CO-SYNCH + MAP fue 21% superior al obtenido con el CO-SYNCH + P4, esta diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa ($P=0,109$). Sin embargo, en las vacas en anestro se encontró una tendencia ($P=0,09$) a que mayor porcentajes de vacas quedaran preñadas con el tratamiento CO-SYNCH + P4 que con el CO-SYNCH + MAP. Los resultados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro VIII. Porcentaje de estro y tasa de preñez según los tratamientos, el estatus ovárico y el tipo de IA.

Tratamiento ¹	n	Estatus ovárico		Tipo de inseminación			Total
		Ciclando	Anestro	IA	IATF	Total	
				Estro (%)	Preñez (%)	Preñez (%)	Preñez (%)
CO-SYNCH+P4	30	50 ^a (9/18)	67 ^{ax} (8/12)	27 (8/30)	50 (4/8)	59 (13/22)	57 (17/30)
CO-SYNCH+MAP	30	71 ^a (12/17)	31 ^{by} (4/13)	47 (14/30)	50 (7/14)	56 (9/16)	53 (16/30)
TOTAL	60	60 (21/35)	48 (12/25)	37 (22/60)	50 (11/22)	58 (22/38)	55 (33/60)

¹ CO-SYNCH + P4= los animales recibieron el Día 0, 8 µg de un análogo sintético GnRH i/m + un dispositivo intravaginal con 750 mg de P4, el Día 7,5 recibieron 0.15 mg de un análogo sintético de PG, el Día 10 los animales que no se detectaron en estro recibieron 8µg de un análogo sintético de GnRH i/m, al momento de realizar la IATF; CO-SYNCH + MAP= los animales recibieron similar tratamiento que el grupo anterior excepto que el Día 0 junto con la GnRH recibieron también un dispositivo intravaginal artesanal (esponja de poliuretano) conteniendo 250 mg de MAP. Literales diferentes a y b indican diferencias estadísticamente significativas ($p=0,018$) entre columnas. Literales diferentes x e y indican una tendencia ($p=0,09$) entre filas.

También se encontró que la interacción entre el estatus ovárico y la CC categorizada presentara una tendencia estadística ($P=0,06$). Cuando las vacas tenían una CC \times 4 unidades no se observaron diferencias ($P=0,61$) en la tasa de preñez de acuerdo al estatus ovárico, sin embargo, cuando la CC fue 3,5 se tendió a obtener una mayor tasa de preñez en las vacas ciclando comparado con la obtenida en las vacas en anestro superficial. Los resultados se presentan en el Cuadro 2. La correlación de Spearman entre CC y estatus ovárico fue significativa ($r=0,32$; $p=0,0125$).

Cuadro IX. Tasa de preñez según el estatus ovárico y la CC categorizada.

estatus ovárico	CC	
	3,5	× 4
Ciclando	78 ^x (7/9)	54 (14/26)
Anestro	38 ^y (5/13)	58 (7/12)
Total	55 (12/22)	55 (21/38)

Literales diferentes entre filas, indican una tendencia (p=0,0605)

Discusión

Si bien no se encontró efecto del tratamiento ni del estatus ovárico sobre la tasa de preñez, cuando se utilizó las esponjas de MAP en vacas en anestro los resultados obtenidos fueron menores a los observados en vacas ciclando. Aún más, existió una tendencia a obtener mejores tasas de preñez en esta categoría con el dispositivo intravaginal con P4 que con las esponjas de MAP.

Las tasas de preñez logradas en vacas ciclando y en vacas en anestro con el dispositivo intravaginal con P4 están acordes a las reportadas a nivel nacional (Menchaca et al., 2013), regional (Vittone et al., 2011) e internacional (Lamb et al., 2001; Larson et al., 2006). La literatura sobre esponjas de MAP en ganado de carne no es abundante. De Nava et al. (2009) en Uruguay, compararon tres fuentes de progesterona: CIDR®, DIB® reutilizado y esponjas intravaginales artesanales conteniendo 350 mg de MAP en un protocolo de IATF en vaquillonas de carne cíclicas sin encontrar efecto del tratamiento sobre la tasa de preñez, la que en todos los casos superó el 60%. Estos datos coinciden con los observados en el presente trabajo en las vacas cíclicas. Kruegel Borges et al. (2009), en vacas amamantando compararon la tasa de preñez cuando esponjas conteniendo 250 mg de MAP eran retiradas a los 7 días (la IA se realizaba a estro visto) con el retiro a los 8 días (se utilizaba IATF) en un protocolo que incluía BE, PG, eCG, GnRH y se aplicaba un destete durante 88h sin observar diferencias y reportando tasas de preñez entre 52 y 58%. Mientras que, Bragança et al. (2013), reportan 46% de tasa de preñez cuando utilizaron esponjas intravaginales conteniendo 250 mg. de MAP durante 7 días como fuente de P4 en un protocolo de sincronización estral en vaquillonas cruza cebú.

La disponibilidad de información sobre resultados de tasas de preñez utilizando protocolos a base de esponjas intravaginales de MAP comparando vacas cíclicas o en anestro es aún más escasa. Es ampliamente conocida la ventaja de incluir una fuente de P4 en los protocolos de sincronización estral en vacas en anestro (Thompson et al., 1999; Lamb et al., 2001; Stevenson et al., 2002; Baruselli et al., 2004). Por lo que llama la atención la menor tasa de preñez cuando se aplicaron las esponjas de MAP en vacas que fueron categorizadas como en anestro.

El porcentaje de vacas categorizadas como ciclando en este trabajo pudo haber sido subestimado debido a que la clasificación se realizó mediante un solo examen de ovarios. Considerando que los resultados de preñez entre vacas con CC × 4 ciclando y en anestro no difieren y que hay una correlación entre estatus ovárico y CC, es posible pensar que en este grupo se podrían haber diagnosticado vacas en anestro que en realidad estaban ciclando. Las vacas en anestro y con menor CC (3,5 unidades) fueron las que presentaron las menores tasas de preñez.

Conclusión

Los resultados permiten sugerir que no sería conveniente sustituir los DIV de P4 por esponjas intravaginales artesanales conteniendo 250 mg de MAP en protocolos de IATF en vacas en anestro, aunque se requerirían más estudios antes de llegar a una conclusión definitiva.

4. DISCUSIÓN GENERAL

La sincronización de estros en ganado bovino es una herramienta fundamental que facilita la implementación de programas de IA y permite una mejor organización del manejo del rodeo de cría. La sincronización de la ovulación permite la IATF evitando la detección estral y obteniendo similares resultados. Independientemente del protocolo que se utilice, la inclusión de una fuente de P4 es necesaria para disminuir la presencia de estros prematuros asociados a protocolos GnRH ó PG (Dejarnette et al., 2001; Lamb et al., 2001) y cuando se trabaja con vacas en anestro (Yavas y Walton 2000b; Wiltbank et al., 2002; Baruselli et al., 2004; Mapletoft et al., 2009; Lamb et al., 2010; Patterson et al., 2013). La fuente de P4 debe garantizar similar dosis entre animales que induzca elevados niveles séricos de la hormona durante 7 días y luego descender rápidamente a niveles subluteales para no interferir con el fenómeno de la ovulación (Bó et al., 2003; Long et al., 2009; Martínez et al., 2012). También debe ser inocua para la hembra, fácil de utilizar, estar disponible a un precio accesible, y sus residuos deben ser de fácil gestión (Cavestany et al., 2008b; Maarten et al., 2013; Irazabal et al., 2014). Los dispositivos intravaginales de liberación lenta (DIV) es la fuente de P4 más frecuentemente utilizada en la región (Baruselli et al., 2013; Bó et al., 2013; Menchaca et al., 2013). Sin embargo, la aparición en el mercado de una fuente de progesterona oleosa inyectable, la MAD4, plantea algunas ventajas: es más fácil y rápida de utilizar, su aplicación presenta menos riesgos de daño al animal, se evitan pérdidas por mala colocación de los DIV y sus residuos son más fáciles de gestionar (Cavestany et al., 2008b; Maarten et al., 2013; Irazabal et al., 2014). Sin embargo, cuando se incluyó MAD-4 en un protocolo a base de GnRH-PG y se aplicó a vacas que habían reiniciado la ciclicidad ovárica como consecuencia del destete, la presencia de estros prematuros no se evitó y las tasas de preñez entre tratamientos no fueron diferentes (experimento 1). Tampoco se observaron diferencias en la tasa de preñez cuando se comparó la MAD4 con el DIV en un protocolo de IATF en vacas nulíparas, la mayoría de las cuales estaban ciclando. Sin embargo, cuando el mismo protocolo fue aplicado a vacas primíparas y multíparas la diferencia en tasa de preñez a favor del DIV fue 25% y 42% respectivamente (experimento 2).

Estos resultados en conjunto estarían sugiriendo que la dosis de MAD-4 utilizada no logra mantener los niveles séricos de P4 durante los 7 días que transcurren entre la dosis de la hormona utilizada para re-iniciar la onda folicular (GnRH o BE) y el agente luteolítico (PG), tal como fue demostrado a posteriori de estos experimentos por Cavestany et al. (2008b) y Corréa Rocha et al. (2011). Por otra parte, dosis más altas pueden provocar interferencias con la ovulación porque luego de 7 días los niveles no descienden a dosis subluteales (Corréa Rocha et al., 2011). El intervalo fin de tratamiento a presentación de estro es más prolongada en protocolos que utilizan 200 mg de MAD-4 que cuando se utiliza P4 en DIV (Maarten et al., 2013).

El estatus ovárico es uno de los factores que influyen los resultados de los protocolos de sincronización estral ó IATF (De Olarte et al., 2013; Menchaca et al., 2005, 2013). El estatus de las vacas en los tres experimentos que incluyen esta tesis era diferente y se utilizaron diferentes protocolos de inducción/sincronización estral. En el experimento 1, las vacas habían re-iniciado su ciclicidad ovárica y se utilizó el protocolo SS que fue diseñado para realizar la IA con detección de estro. En el experimento 2, con una alta proporción de vacas en anestro, se aplicaron protocolos

para realizar la IATF a base de P4, BE y eCG, recomendados para estas situaciones (Menchaca et al., 2013). Sin embargo, teniendo en cuenta las regulaciones de EEUU y Europa (mercados compradores de nuestras carnes) que prohíben el uso de los estrógenos (Mapletoft y Bó, 2013), en el experimento 3, también con presencia de vacas en anestro, se utilizó un protocolo para IATF basado en GnRH- PG-GnRH (CO-SYNCH), al que se le agregó una fuente de P4 entre la inyección de GnRH y la de PG. Coincidiendo con la literatura (Bó et al., 2003; De Olarte et al., 2013; Menchaca et al., 2005, 2013), se observó que las vacas ciclando presentaron los mejores resultados de tasa de preñez y las vacas en anestro los peores, mientras que las vacas en anestro superficial presentaron resultados intermedios. En efecto, los resultados globales de preñez en los experimento 1 y 3 (50% y 55%) son numéricamente superiores a los obtenidos en el experimento 2 (34%). Sin embargo, si solo se tienen en cuenta las vacas ciclando, la tasa de preñez en los tres experimentos fue del orden del 50%. Las tasas de preñez en las vacas categorizadas como en anestro superficial fueron comercialmente aceptables (experimento 2: 31%; experimento 3: 48%), no así los resultados obtenidos en vacas en anestro profundo. Sería deseable no incluir esta categoría de vacas en programas de IATF considerando el impacto negativo que tienen sobre la tasa de preñez global. Además, las vacas categorizadas en anestro profundo eran las que presentaron la menor CC (correlación entre estatus ovárico y CC). Esta menor CC refleja un déficit nutricional y un manejo de la pastura que dista de ser el óptimo y compromete la sustentabilidad del sistema pastoril en que las vacas se encontraban (Orcasberro et al., 1992). Sin embargo, de ser necesario incluirlas en un programa de IATF, se aconsejaría utilizar el DIV como fuente de P4.

Categorizar las vacas de acuerdo a su estatus ovárico y tomar decisiones en base a la información obtenida puede mejorar los resultados y bajar los costos de los protocolos de IATF. En base a la duración de la fase luteal del ciclo estral de la vaca, se recomienda determinar el estatus ovárico realizando dos exámenes de los ovarios, ya sea por ultrasonografía o palpación rectal separados por 8-10 días. La posibilidad de realizar dos exámenes ováricos en cada vaca antes de iniciar los tratamientos hormonales no siempre resulta posible en condiciones de campo y en el ejercicio liberal de la profesión. Una palpación rectal el día del comienzo de los tratamientos es considerada por técnicos entrenados como el método más simple y rápido cuando se trabaja en predios comerciales. Tanto en el experimento 2 como en el 3, el estatus ovárico fue determinado utilizando una sola palpación rectal de los ovarios al inicio de los tratamientos por lo que es posible que se haya podido incurrir en el error de categorizar como en anestro superficial (presencia de tono uterino, presencia de folículos a la palpación de los ovarios) a animales que estaban ciclando (Wiltbank et al., 2002). Este error es especialmente frecuente en vacas al final de la fase lútea o inicio de fase folicular. Sin embargo, difícilmente los animales en anestro profundo pudieron ser mal categorizados, porque a la palpación rectal no presentaban tono uterino, los ovarios eran pequeños y no se palpaban estructuras en la superficie del ovario. El criterio para categorizar las vacas empleado en esta tesis es similar al utilizado por Cassal Brauner et al. (2009), quienes emplearon la mixtura de la palpación rectal y el ultrasonido. Mediante la palpación rectal determinaron la presencia o ausencia de tono uterino, y por ultrasonido el diámetro del folículo dominante. Con esta información categorizaron a las vacas en anestro superficial cuando encontraban tono uterino y folículos \times 10 mm, y en anestro profundo cuando no se palpaba tono uterino y los folículos eran menores a 10 mm. Este método combinado de categorización también es utilizado para evaluar el score del tracto reproductivo en vaquillonas (Gutiérrez et al., 2014). Por otra parte, los resultados logrados en los experimentos 2 y 3 en vacas categorizadas como ciclando,

en anestro superficial y en anestro profundo son consistentes con la literatura. En efecto, Bo et al. (2003) utilizaron similar técnica (una sola palpación rectal al inicio de los tratamientos) y criterio de clasificación del estatus ovárico en vacas *Bos indicus* paridas y reportaron similares tasas de preñez que en la presente tesis (vacas ciclando 33 y 34%; vacas en anestro superficial: 29 y 33% y vacas en anestro profundo: 17 y 38%; dependiendo del tratamiento utilizado). Por su parte, Menchaca et al. (2013), trabajando con vaquillonas de carne, utilizaron el mismo criterio de clasificación pero emplearon como técnica una sola ultrasonografía al inicio de los tratamientos; las tasas de preñez obtenidas fueron, nuevamente, similares a las obtenidas en los experimentos 2 y 3 (ciclando: 41 y 61%; anestro superficial: 26 y 40% y anestro profundo: 15 y 19%; dependiendo del tratamiento utilizado).

En rodeos de baja CC donde la incidencia de anestro profundo es alta, la aplicación de otra técnica para inducir el re-inicio de la ciclicidad sería una alternativa para mejorar los resultados de los protocolos de IATF. Se ha reportado que la asociación del DP y los protocolos de IATF mejoran los resultados de ambas técnicas en forma individual (Vittone et al., 2011; Menchaca et al., 2013). Si bien, el experimento 1, no fue diseñado para evaluar el efecto del destete previo al inicio de los tratamientos hormonales, se debe destacar que 10 días después de la separación del ternero, 93% de las hembras habían reiniciado la ciclicidad ovárica, confirmando que el amamantamiento/presencia del ternero alarga el APP (Williams, 1990; Hoffman et al., 1996; Wiltbank et al., 2002; Zalesky, 1990). Sin embargo, en el experimento 2 a pesar de que las vacas habían sido destetadas 30 días antes, la presencia de vacas en anestro y aún más, en anestro profundo fue alta (primíparas: 46%; multíparas: 35%). Es posible, que el prolongado anestro posparto que presentaron las vacas primíparas y multíparas estuviera asociado a la baja CC que presentaban las vacas.

5. CONCLUSIONES GENERALES

Cuando se agregó MAD-4 al protocolo SS + eCG, la MAD-4 no inhibió la presentación de estros prematuros, por lo que no influyó el grado de sincronización estral ni mejoró la tasa de preñez.

Cuando en un protocolo de IATF se utilizó MAD-4 en sustitución de DIV con P4 la tasa de preñez disminuyó en las primíparas y multíparas pero no en las nulíparas.

Desde el punto de vista práctico, la MAD-4 fue más fácil de aplicar y de gestionar sus residuos en condiciones de establecimientos comerciales, sin embargo, teniendo en cuenta los resultados de tasa de preñez obtenidos, no se recomendaría el uso de MAD-4 en protocolos de sincronización estral o de IATF, en la presentación que fue utilizada en el presente trabajo.

La tasa de preñez obtenida con DIV de P4 o esponjas artesanales de MAP fueron similares en vacas ciclando, sin embargo, la tendencia observada a que el MAP disminuyera los resultados de preñez en vacas en anestro superficial, plantea que si bien los resultados son alentadores, se requiere más información antes de recomendar su uso.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Astessiano AL. (2010). Perfiles metabólicos, endócrinos y de expresión génica hepática asociados a cambios en el balance energético de vacas de carne primíparas en condiciones de pastoreo. Tesis de maestría de la Facultad de Agronomía. P78.
- Astessiano AL, Pérez-Clariget R, Quintans G, Soca P, Carriquiry M. (2011). Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96:535-544.
- Astessiano AL, Pérez-Clariget R, Espasandín AC, López-Mazz C, Soca P, Carriquiry M. (2013). Metabolic, productive and reproductive responses to postpartum short-term supplementation in primiparous beef cows. *R. Bras. Zootec.*, v.42, n.4, p.246-253.
- Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF and Bó GA. (2004). The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83: 479-486.
- Baruselli PS, Sá Filho MF, Ferreira RM, Sales JNS, Gimenes LU, Vieira LM, Guerreiro BM, Mendanha MF, Bó GA. (2013). Manipulación del desarrollo folicular para mejorar la calidad del ovocito y las tasas de concepción en el ganado bovino. X Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 221-250.
- Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Mariscal V, Sanchez T, and Kinder JE. (1996). Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 estradiol in bovine females. *Biol Reprod* 54:546-553.
- Bó GA., Adams GP, Pierson RA, and Mapletoft RJ. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31 ó 40.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. (2003). Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78:307-326.
- Bó GA, Cutaia LE, Bartolomé J. (2011). Uso de la eCG asociada a programas reproductivos en vacas lecheras. IX Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 127-148.
- Bó GA, Coelho Peres L, Pincinato D, Baruselli PS, Mapletoft RJ. (2013). Programas de sincronización de receptoras de embriones bovinos. X Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 269-282.
- Bragança JFM, Bastos GM, Oliveira JFC, Borges LFK, Goncalves PBD. (2013). Avaliação do emprego do eCG em um programa hormonal de indução/sincronização de estro e ovulação em novilhas de corte entre 12 e 14 meses de idade. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 37: 59 ó 63.
- Burke CR, Day ML, Bunt CR and Macmillan KL. (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 ó 151.
- Busch DC, Wilson DJ, Schafer DJ, Leitman NR, Haden JK, Ellersieck MR, Smith MF, and Patterson DJ. (2007). Comparison of progestin-based estrus synchronization protocols before fixed-time artificial insemination on pregnancy rate in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:

1933-1939.

- Cassal Brauner C, Alvez Pimentel M, Schneider Lemes J, Alvez Pimentel C, Ferrugem Moraes JC. (2009). Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte submetidas a indução/sincronização de cio. *R. Bras. Zootec.*, V 38, n.1, p.99-103.
- Cavestany D, Fernandez D, Salazar E, Sanchez A, Leyton L, Crespi D, and Meikle A. (2008)a. Evaluation of slow-release parenteral natural progesterone and its effects in a modified Ovsynch protocol in Holstein Dairy heifers. *Reprod. Dom. Animal* 43 (Sup 3):34, 16th International Congress on Animal Reproduction (ICAR). Budapest, Hungría.
- Cavestany D, Fernández D, Salazar E, Sánchez A, Leyton L, Crespi D. (2008)b. Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. *XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú*, pp. 218-219.
- Colazo MG, Kastelic JP, Davis H, Rutledge MD, Martínez MF, Small JA, Mapletoft RJ. (2008). Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. *Domest Anim Endocrinol* 34:109-117.
- Corrêa Rocha D, Beskow A, Mc Manus Pimentel CM, Costa Mattos R, Macedo GR. (2011). Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4 com diferentes concentrações e vias de administração. *Acta Scientiae Veterinariae* 39: 974.
- De Castro T, Ibarra D, Valdez L, Rodríguez M, Garcia Lagos F, Benquet N y Rubianes E. (2002). Medidas para acortar el anestro postparto en la vaca de cría. *Premio Academia Nacional de Veterinaria*.
- De Castro T, Valdez L, Rodríguez M, Benquet N, García Lagos F, Ibarra D, and Rubianes E. (2006). Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anoestrus beef cows. *Anim. Reprod.* 3: 396 ó 402.
- De Castro T, Ibarra D, Rodríguez M, Valdez L, Benquet N, and Rubianes E. (2011). Resumption of postpartum ovarian cyclicity after different suckling manipulation treatments in primiparous beef cows. *Animal Production Science* 51: 111 ó 114.
- Dejarnette JM, Wallace RW, House RB, Salverson RR, Marshall CE. (2001). Attenuation of premature estrous behaviour in postpartum beef cows synchronized to estrus using GnRH and PGF2 . *Theriogenology* 56:493-501.
- De Nava GT. (1994). The effect of restricted suckling and prepartum nutritional level on reproductive performance of primiparous crossbred beef cows. Thesis of Master of Agricultural Science in Animal Science. Massey University, New Zealand, pp: 136.
- 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 inseminación a tiempo fijo. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina, Disponible en CD.
- De Nava GT. (2011). Reproducción en los rodeos de cría pastoriles: el enfoque de un veterinario de campo. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, pp. 68-77.
- De Olarte C, Cavestany D, y de Nava G. (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.
- DIEA. (2004). Encuesta ganadera, MGAP, Uruguay. Algunos aspectos de la cría vacuna,

serie encuestas N° 226.

- DIEA. (2011). Encuesta de preñez, MGAP, Uruguay.
- DIEA. (2013). Anuario Estadístico Agropecuario. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, MGAP, Uruguay.
- Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 211-228.
- Geary TW, Whittier JC. (1998). Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist* 14:217-220.
- Geary TW, Downing ER, Bruemmer JE, Whittier JC. (2000). Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the Select Synch estrous synchronization protocol. *The Professional Animal Scientist* 16:1-5.
- Gutiérrez K, Kasimanickam R, Tibary A, Gay JM, Kastelick JP, Hall JB, Whittier WD. (2014). Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural service. *Theriogenology* 81: 918-924.
- Hess BW, Lake SL, Scholljegerdes EJ, Weston TR, Nayigihugu V, Molle JDC, Moss GE. (2005). Nutritional controls of beef cow reproduction. *J Anim Sci*, 83:E90-E106.
- Hoffman DP, Stevenson JS, and Minton E. (1996). Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 74: 190 ó 198.
- Irazabal A, Pérez Clariget R, Cavestany D. (2014). Efecto de la adición de progesterona inyectable en base oleosa a un protocolo de sincronización de celos en vacas de carne sometidas a destete precoz. *Veterinaria (Montevideo)* 50: 17 - 31.
- Kasimanickam R, Collins JC, Wuenschell J, Currin JC, Hall JB, and Whittier DW. (2006). Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal rug release removal and gonadotrophin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. *Theriogenology* 66:166-172.
- Kojima FN, Salfen BE, Bader JF, Ricke WA, Lucy MC, Smith MF, and Patterson DJ. (2000). Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 Synch. *J Anim Sci* 78:2186-2191.
- Kolok AS, Snow DD, Kohno S, Sellin MK, Guillette Jr LJ. (2007). Occurrence and biological effect of exogenous steroids in the Elkhorn River, Nebraska, USA. *Sci Total Environ* 388:1-3, pp.104-115.
- Kruegel Borges LF, Ferreira R, Carvalho Siqueira L, Camponogara Bohrer R, Borstmann JW, Coelho de Oliveira JF, Dias Gonçalves PB. (2009). Artificial insemination system without estrous observation in suckled beef cows. *Cienc. Rural* 39(2):496-501.
- Lamb G C, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HA, Brown DR, and Salfen BE. (2001). Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F₂ for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79: 2253 - 2259.
- Lamb GC, Larson JE, Geary TW, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Ansotegui RP, Kesler DJ, Dejarnette JM, and Landblom DG. (2006). Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂, and progesterone. *J.Anim.Sci.*84: 3000 ó 3009.

- Lamb GC, Dahlen CR, Larson JE, Marquezini G, Stevenson JS. (2010). Control of the estrus cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: A review. *J Anim Sci* 88 (E Suppl.):E181-E192.
- Larson JE, Lamb GC, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Geary TW, Kesler DJ, Dejarnette JM, Schrick FN, Dicostanzo A, Arseneau JD. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂, and progesterone. *J Anim Sci* 84:332-342.
- Long ST, Yoshida C and Nakao T. (2009). Plasma progesterone profile in ovariectomized beef cows after intra-vaginal insertion of new, once-used or twice-used CIDR. *Reprod. Dom. Anim.* 44: 80-82.
- Maarten FAA, Van Eerdenburg FJCM, Fernández E, García S, Cavestany D. (2013). Comparison between two progesterone sources and two oestradiol formulations in a Heatsynch protocol for postpartum cycling dairy cows in pasture. *J. Vet. Sci.* 14 (2): 161 ó 166.
- Mapletoft RJ, Bó GA, Baruselli PS. (2009). Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Anim Reprod* 6:114-124.
- Mapletoft RJ and Bó GA. (2013). Avances recientes en inseminación artificial a tiempo fijo en el Ganado vacuno de razas de carne. X Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 91-102.
- Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, and Mapletoft RJ. (2002). The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J.Anim.Sci.*80: 1746-1751.
- Martínez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, and Mapletoft RJ. (2005). Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR ó treated beef cattle. *Animal Reproduction Science* 86: 37 ó 52.
- Martínez MF, de Nava G, Demmers KJ, Tutt D, Rodriguez Sabarrós M, Smaill B, Corti M and Juengel J. (2012). Intravaginal progesterone devices in synchronization protocols for artificial insemination in beef heifers. *Reprod. Dom. Anim.* 47: 230-237.
- Meikle A., Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127:727-737.
- Menchaca A, Lopez G, Chifflet N. (2005). Respuesta a la IATF en vacas primíparas con distinto status ovárico. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. pp: 409.
- 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.
- Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. (2009). Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72: 179 ó 189.
- Montiel F, Ahuja C. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science* 85: 1-26.
- Odde KG, Wood HS, Kiracofe GH, McKee RM and Kittock RJ. (1980). Short estrous

- cycles and associated serum progesterone levels in beef cows *Theriogenology* 14: 105-112.
- Odde KG. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 817-830.
 - Orcasberro R, Soca P, Beretta V, Trujillo A. (1992). Estado corporal de vacas Hereford y comportamiento reproductivo. 1era Jornada de Producción Animal. Evaluación física y económica de alternativas tecnológicas en predios ganaderos. Paysandú, Facultad de Agronomía. pp. 32-36.
 - Patterson DJ, Kojima FN, Smith MF. (2003). A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *J. Anim. Sci.* 81 (no. 14 suppl 2): 166 ó 177.
 - Patterson DJ, Thomas JM, Martin NT, Nash JM, Smith MF. (2013). Control of estrus and ovulation in beef heifers. *Vet. Clin. Food Anim.* 29: 591-617.
 - Pérez-Clariget R, Carriquiry M, Soca P. (2008). Estrategias de manejo nutricional para mejorar la reproducción en ganado bovino. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* Vol. 15 (Supl. 1): 114-119.
 - Perry GA, Perry BL. (2009). Effect of the timing of controlled internal drug-releasing hormone induced luteinizing hormone surge and ovulatory response. *J Anim Sci* 87: 3983-3990.
 - Peters AR. (2005). Veterinary clinical Application of GnRH-questions of efficacy. *Animal Reproduction Science* 88: 155-167.
 - Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ and GnRH. *Theriogenol* 44:915-923.
 - Quintans G.(2005). Control del amamantamiento. *Revista INIA N°5*, diciembre 2005: 9 ó 11.
 - Quintans G, Vázquez AI, Weigel KA. (2009). Effect of suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrous interval in primiparous cows under range conditions. *Anim Reprod Sci* 116: 10-18.
 - Quintans G, Banchemo G, Carriquiry M, López-Mazz C and Baldi F. (2010). Effect of body condition and suckling restriction with and without presence of the calf on cow and calf performance. *Animal Production Science* 50: 931-938.
 - Richardson AM, Hensley BA, Marple TJ, Johnson SK, Stevenson JS. (2002). Characteristics of estrus before and after first insemination and fertility of heifers after synchronized estrus using GnRH, PGF₂, and progesterone. *J Anim Sci* 80:2792-2800.
 - Robson C, Aller JE, Callejas S, Cabodevila J y Alberio RH. (2007). Factores que afectan el anestro posparto en bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal.* 1-16.
 - Sá Filho OG, Meneghetti M, Perez RFG, Lamb GC, and Vasconcelos JLM. (2009). Fijó time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72: 210-218.
 - Sá Filho OG, Crespilho AM, Santos JEP, Perry GA, and Baruselli PS. (2010)a. Ovarian follicle diameter at time insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone and progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cow. *Anim. Reprod. Sci.* 120: 23-30.
 - Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marque MO, Reis EL, Silva RCP, Rodrigues CA, Madureira EH, Bó GA and Baruselli PS. (2010)b. Equine chorionic gonadotropin-releasing

- hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos Indicus*) cows. *Theriogenology* 73: 651 ó 658.
- Saldarriaga JP, Cooper A, Cartmill JA, Zuluaga JF, Stanko RL, and Williams GL. (2007). Ovarian, hormonal, and reproductive events associated with synchronization of ovulation and time appointment breeding of *Bos indicus* ó influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F2 . *J. Anim. Sci.* 85: 151-162.
 - Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, Souza JC, Nogueira GP, Baruselli PS. (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 ó 516.
 - Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. (2001). Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod* 65:1403-1409.
 - Scarsi A. (2012). Efecto de una suplementación corta parto en variables metabólicas, productivas y reproductivas en vacas multíparas y primíparas para carne. Tesis MSc. Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.
 - Schafer DJ, Bader JF, Meyer JP, Haden JK, Ellersieck MR, Lucy MC, Smith MF, Patterson DJ. (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.
 - Schmitt EJP, Drost M, Diaz T, Roomes C, and Thatcher WW. (1996). Effect of a GnRH agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:154 ó 161.
 - Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG and Custer EE. (1990). Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 799 ó 816.
 - Small JA, Colazo MG, Kastelic JP and Mapletoft RJ. (2009). Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH ó based, timed ó AI in beef cattle. *Theriogenology* 71: 698 ó 706.
 - Soca P, Carriquiry M, Keisler DH, Claramunt M, Do Carmo M, Olivera-Muzante J, Rodríguez M and Meikle A. (2013). Reproductive and productive response to suckling restriction and dietary flushing in primiparous grazing beef cows. *Animal Production Science*, 53: 2836291.
 - Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. (1995). Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science* 38: 49 ó 61.
 - Stevenson JS, Thompson KE, Forbes WL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR. (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2 with or without timed insemination. *J Anim Sci* 78: 1747-1758.
 - Stevenson JS, Johnson SK, and Milliken GA. (2002). Incidence of postpartum anestrus in beef cattle: Treatments to induce estrus, ovulation and conception. *The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop*, September 5-6, Manhattan, Kansas.
 - Thompson KE, Stevenson JS, Lamb GC, Grieger DM, Loest CA. (1999). Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, Norgestomet, and prostaglandin PGF2 . *J Anim Sci* 77:1823-1832.

- Twagiramungu H, Guilbault LA, and Dufour JJ. (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 ó 3151.
- Viñoles C, Quintans G, Paiva N, Cavestany D. (2004). Treatment of suckling beef cattle with a progestagen sponge and oestradiol benzoate or equine chorionic gonadotrophin. *Vet. Rec.* 154:106-109.
- Vittone JS, Aller JF, Otero G, Scena C, Alberio RH, y Cano A. (2011). Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. *Arch. Zootech.* 60 (32): 1065-1076.
- Vizcarra JA, Ibañez W, Orcasberro R. (1986). Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la Condición Corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 7:45-47.
- Williams GL. (1990). Suckling as a regulador of postpartum rebreeding in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 68: 831 ó 852.
- Wiltbank MC, Gumen A, and Sartori R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21652.
- Wilson DJ, Mallory DA, Busch DC, Leitman NR, Haden JK, Schafer DJ, Ellersieck MR, Smith MF and Patterson DJ. (2010). Comparison of short-term progestin-based protocols to synchronize estrus and ovulation in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 88: 2045 ó 2054.
- Yavas Y, Walton JS. (2000)a. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54: 25-55.
- Yavas Y, Walton JS. (2000)b. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54:1-23.
- Zalesky DD, Forrest DW, Mc Arthur NH, Wilson JM, Morris DL and Harms PG. 1990. Suckling inhibits release of luteinizing hormone ó releasing hormone from the bovine median eminence following ovariectomy. *J. Anim. Sci.* 68: 444 ó 448.

7. ANEXOS

Publicación I.

IX SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL ó IRAC 2011 ó

Evaluación comparada de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (Pro-Ciclar) y una esponja vaginal artesanal con progestágeno (MAP)

Guerra, F²; A. Irazábal² y J.B. Rodríguez Blanquet¹

¹ Facultad de Agronomía, UdelaR y ² Actividad privada.

Email: jbolivar@adinet.com.uy

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta biológica de 2 diferentes dispositivos intravaginales determinado como preñez al primer servicio a los 30 días luego de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y porcentaje de preñez final. Un dispositivo es de uso comercial (Pro-Ciclar, 750 mg de progesterona) contra una esponja artesanal (250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona). Para esto se utilizaron 60 vacas de primera cría, paridas en otoño y destetadas 32 días antes de aplicar los tratamientos. Se realizaron 2 grupos teniendo en cuenta la presencia de cuerpo lúteo (CL), folículos mayores de 8 mm y la raza (AA, 19; cruzas AA x He, 30 y Montana, 8). La determinación de estructuras ováricas se hizo una sola vez, previa a la realización de los tratamientos. El número de estructuras ováricas por tratamiento se muestran en el cuadro 1. Se determinó estado corporal al momento de la colocación de los dispositivos intravaginales (1- muy flaca; 8 ó muy gorda). Los dispositivos utilizados estuvieron en la vagina de las vacas por espacio de 7,5 días. Previo a la colocación de la esponja artesanal se inyectó a la misma 50 mg de oxitetraciclina para prevenir infecciones locales. Al momento de la aplicación de ambos dispositivos se inyectaron 10 g de busarelina (GnRH, Gestar, Laboratorio Over). Al momento de la extracción se aplicó 0,150 mg de D-Cloprostenol (Enzaprost, Biogénesis Bagó S.A., Uruguay). A las 48 horas (Día 9), luego de la extracción de los dispositivos, se inyectó nuevamente 10 g de busarelina (GnRH, Gestar, Laboratorio Over) y se realizó IATF a las 12 horas siguientes de la última dosis de GnRH. Se usó semen de un solo toro de probada fertilidad. Se detectó celo hasta el Día 9 y se inseminó con la regla Am/Pm (IACD). Al resto se les realizó IATF. Se colocaron toros a los 15 días de haber realizado la IATF que continuaron hasta el final del servicio. Los porcentajes fueron comparados utilizando la prueba X^2 considerándose como significativa una diferencia $p < 0,05$. No hubo pérdidas en ninguno de los 2 dispositivos intravaginales así como tampoco infecciones vaginales detectables. No se encontró diferencia significativa en los estados corporales de los 2 tratamientos con un promedio general de $4,03 \pm 0,52$. Los resultados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tipo (n°) de estructuras ováricas y porcentaje (n°) de preñez en vacas secas.

Trat.	Con C.L. n°	Con Folículos >8 mm	% (n°) Celos (IACD)	% (n°) Preñez 30 días (IACD)	% (n°) Preñez 30 días (IATF)	% (n°) Preñez Total a 30 días	% (n°) Preñez Final
Prociclar	18	12	27 (8/30)a	50 (4/8)a	59 (13/22)a	57 (17/30)a	87 (26/30)a
Esponja	17	13	47 (14/30)a	50 (7/14)a	56 (9/16)a	53 (16/30)a	90 (27/30)a

a Los valores de las columnas con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí ($p < 0,05$)

No se obtuvieron diferencias estadísticas en las distintas variables estudiadas. En conclusión, los 2 dispositivos intravaginales presentaron resultados similares (no estadísticamente significativos) en las distintas variables reproductivas estudiadas.

Publicación II.

Trabajo publicado en el IV Congreso AUPA (Asociación Uruguaya de Producción Animal), Montevideo, Uruguay; 29 al 30 de octubre 2012.

Efecto de la inclusión de progesterona inyectable en base oleosa en un protocolo Select Synch en vacas de cría

Irazábal A.¹, Pérez-Clariget R.^{2*} Cavestany D.³

¹Estudiante de Posgrado Facultad de Veterinaria, UdelaR; ²Facultad de Agronomía, UdelaR

³Facultad de Veterinaria, UdelaR.

*Correo electrónico: raquelpc@fagro.edu.uy

Con el objetivo de evaluar el efecto de la inclusión de una progesterona inyectable en base oleosa al protocolo de sincronización de celos Selectsynch sobre los porcentajes de celo y concepción de vacas de cría, 22 vacas Hereford primíparas y 98 multíparas con 74-89 d posparto, $3,4 \pm 0,03$ de condición corporal (CC) y destetadas 10 d antes, fueron asignadas al azar teniendo en cuenta la CC y la paridad a uno de los siguientes tratamientos: i) Select Synch (SS, n=59): Día 0: GnRH (8 g i/m, Buserelina, Gestar, Over, Santa Fe, Argentina), día 7: Prostaglandina F2 (PG; 0,15 mg i/m, D-cloprostenol, Veteglan, Calier, Montevideo, Uruguay) y gonadotropina coriónica equina (eCG, 400 UI i/m, Biogón Plus, Biogénesis Bagó, Montevideo, Uruguay); ii) Select Synch + P4 (SSP4; n=61): similar protocolo más 200 mg de progesterona natural vía s/c (MAD-4; Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) aplicada junto con la GnRH. El celo se detectó dos veces por día los días 4 a 13, las vacas en celo se inseminaron 12 h después. Se determinó la concentración de P4 en muestras de sangre extraídas los días -10, 0 y 7, niveles $\times 1$ ng/ml se consideraron como luteales. La preñez se diagnosticó por ultrasonografía el día 43. Los efectos del tratamiento, la CC ($CC \times 3,5$ vs $CC < 3,5$) y la paridad fueron analizados por modelos generalizados especificando la distribución binomial y la transformación logit de los datos. El porcentaje de vacas con niveles de P4 $\times 1$ ng/ml fue 2% antes y 93% 10 días después del destete por lo que los tratamientos se aplicaron en vacas que ya habían reiniciado la ciclicidad ovárica. El porcentaje de celos prematuros (previo a la PG) fue 15% (9/59) y 10% (6/61) en SS y SSP4, respectivamente ($P=0,36$); el porcentaje de concepción de éstos fue 67% (6/9 y 4/6, SS y SSP4, respectivamente) en ambos grupos. Entre el día 8 y 13 el porcentaje de celo

fue 60% (30/50) y 65% (36/55), el de concepción 70% (21/30) y 81% (29/36) en SS y SSP4, respectivamente ($P=0,48$) y el intervalo aplicación de PG-celo detectado: $3\pm 0,26$ d en ambos grupos. El mayor porcentaje de celos fue observado en las vacas con niveles de $P4 \times 1$ ng/ml en los Días 0 y 7 (75%; $P<0,001$), en las vacas multíparas (Multíparas: 69% vs Primíparas: 38%; $P=0,01$) y en las vacas de mayor CC ($\times 3,5$: 76% vs $<3,5$: 54%; $P=0,009$), sin diferencias en los porcentajes de concepción. Se concluye que la inclusión de MAD-4 al protocolo Select Synch no evitó celos prematuros ni mejoró la ocurrencia de celos ni el porcentaje de concepción.

Publicación III.

Trabajo publicado en la XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, La Habana, Cuba; 18 al 22 de noviembre 2013. (CD)

Comparación entre progesterona inyectable o intravaginal en protocolos de IATF en vacas de carne

Alfredo Irazábal¹, Raquel Pérez-Clariget^{2*}, Carmen de Olarte³, Guillermo de Nava⁴, Daniel Cavestany³

¹Estudiante de Posgrado Facultad de Veterinaria, UdelaR; ²Facultad de Agronomía, UdelaR;

³Facultad de Veterinaria, UdelaR; ⁴Ejercicio liberal de la profesión-

*raquelpc@fagro.edu.uy

Con el objetivo de comparar dos formulaciones de progesterona (P_4), 308 vacas Angus, 178 vacas nulíparas, pesando $298,4 \pm 1,8$ Kg, y 130 primíparas, $3,9 \pm 0,04$ de condición corporal, destetadas 30 días antes (60-90 días posparto) fueron clasificadas (Día 0) por palpación transrectal en: ciclando (CE; cuerpo lúteo), anestro superficial (AS; folículos palpables) y profundo (AP; sin estructuras palpables y ovarios pequeños) y asignadas a: i) Grupo-DIV: Dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P_4 , (Cronipres M-24, Biogénesis Bagó, Uruguay); ii) Grupo-MAD4: 200 mg s/c de P_4 en suspensión oleosa (MAD-4, Río de Janeiro, Argentina) y sometidas al siguiente protocolo: Día 0: 2 mg i/m de benzoato de estradiol (Estradiol 10, Río de Janeiro, Argentina); Día 7 pm: retiro de los DIV, 0.15 mg i/m de cloprostenol (Prostaglandina, Río de Janeiro, Argentina) y 400 UI de gonadotropina coriónica equina (Biogón Plus, Biogénesis Bagó, Uruguay); Día 9: detección de celo en la mañana e inseminación 12 h después; las restantes recibieron pm 8 g de GnRH i/m (Buserelina, Río de Janeiro, Argentina); Día 10: IATF. Día 40: diagnóstico de gestación por ultrasonografía. El Día 0, 65% y 0% y 6% y 46% de nulíparas y primíparas, respectivamente estaban CE y en AP ($p<0,0001$). No se encontró efecto ni de la paridad, ni interacción tratamiento*estatus ovárico ($p>0,4$). La tasa de preñez fue afectada ($p = 0,0001$) por el tratamiento (Grupo-DIV: 44% vs. Grupo-MAD4: 28%) y el estatus ovárico (CE: 54%, AS: 30% y AP: 13%; $p<0,05$). La interacción paridad*tratamiento fue significativa ($p=0,0056$); mayor ($p<0,05$) porcentaje de primíparas del Grupo-DIV (35%) resultó preñado comparado con el Grupo-MAD4 (10%), pero no hubo diferencia en las nulíparas (Grupo-DIV: 51%; vs. Grupo-MAD4: 42%; $p>0,1$). Se concluye que el dispositivo intravaginal tiene ventajas sobre el MAD4 en este protocolo de sincronización.

Publicación IV.

Artículo publicado en la Revista VETERINARIA (Montevideo) - Vol. 50; N° 195 - Año 2014. El mismo será adjuntado a la tesis en fotocopias (en hoja A4), según las pautas del PPFV.

Publicación V.

Artículo publicado en la Revista Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. Vol. 22, Núm. 3, 4:93-100. El mismo será adjuntado a la tesis en fotocopias (en hoja A4), según las pautas del PPFV.