

## USO DE LA TECNOLOGÍA DE IATF EN RODEOS LECHEROS

Lucas E. Cutaia<sup>1,2,3</sup> y Gabriel A. Bó<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>2</sup> Universidad Católica de Córdoba, <sup>3</sup> Syntex SA

### INTRODUCCIÓN

En las ganaderías de leche, la fertilidad de las vacas en lactancia es particularmente baja debido a la escasa eficiencia en la detección de celos y a la baja fertilidad de los mismos. A los efectos de mejorar la eficiencia de detección de celos, muchos productores lecheros utilizan programas de sincronización con PGF. La PGF lisa el CL maduro e induce celo y ovulación con sincronía variable. Esta sincronía, en vacas lecheras en lactancia, es insuficiente para lograr buenos resultados con IA a tiempo fijo (IATF). Estas hembras tienen durante el ciclo estral características foliculares diferentes a las de las vacas secas (12) y debido a la variabilidad del estado de desarrollo folicular, los resultados de preñez en los tratamientos de sincronización, son inferiores a los que se obtienen en vaquillonas (41).

La tasa de preñez del rodeo es el producto de la tasa de detección de celos por la tasa de concepción. La tasa de detección de celos es la relación entre los animales detectados en celo y el total de los que efectivamente están ciclando y la tasa de concepción es el porcentaje de preñez obtenido sobre las que se sirvieron. Esto significa que la relación es factorial y si tuviéramos una eficiencia de detección de celos del 80% y de concepción del 70%, el porcentaje de preñez sería del 56% ( $70\% \times 80\% = 56\%$ ). Cualquier disminución en uno de ellos afecta drásticamente el porcentaje de preñez. Por ejemplo, durante las estaciones más cálidas del año en Florida, aproximadamente el 80% de los celos no son detectados (38); en este caso, aun teniendo un 80% de eficiencia de los servicios, el resultado en preñeces sería de 16%. No cabe ninguna duda que la detección de celos es limitante de la eficiencia reproductiva.

Se han implementado varias estrategias para mejorar la detección de celos. Esto incluye el uso de detectores de monta con pintura o tiza sobre el anca, incremento de la frecuencia de las observaciones visuales, el uso de podómetros que registran automáticamente el incremento de la actividad locomotora o el registro de la monta sobre un transductor de presión (16). A pesar de estas estrategias, la precisa detección de celos es todavía un problema importante de manejo. El uso de un programa de IATF que elimine la necesidad de detección de celos podría revolucionar el manejo reproductivo en bovinos de leche. Por ejemplo, en los grandes rodeos tamberos comerciales, la detección de celos es el problema más limitante de la eficiencia reproductiva de las vacas en lactancia.

El desarrollo de un buen sistema de sincronización de la ovulación para IATF se basará en el entendimiento de las bases biológicas de la dinámica folicular ovárica y de la regresión del CL. En otras palabras, es preciso desarrollar un sistema que controle el crecimiento de los folículos ováricos preovulatorios, la regresión del CL, y la ovulación. Esto se puede lograr combinando inyecciones de un agonista de GnRH y de PGF (1,31,42,18) o tratamientos a base de progestágenos y estrógenos (2,19).

## **SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN CON GnRH+PGF+GnRH DESARROLLO DEL PROTOCOLO OVSYNCH**

El avance en el conocimiento de la fisiología del ciclo estral ha permitido en los últimos años encarar la sincronización de celos trabajando no sólo sobre la funcionalidad del CL, sino también sobre la dinámica folicular. La utilización de un tratamiento con GnRH induce la ovulación de los folículos dominantes y el posterior desarrollo de una nueva onda folicular (18) y la inyección de PGF 7 días después induce la regresión del CL. Esto se demostró monitoreando la dinámica folicular ovárica por ultrasonido y determinando los cambios hormonales (1,42). Este sistema indujo un estro más sincrónico que los animales tratados con PGF sola (18). Sin embargo no tenía suficiente precisión en el momento de la ovulación como para realizar la IATF.

En trabajos posteriores se demostró que el folículo dominante en crecimiento podía ser ovulado de manera más precisa utilizando una segunda inyección de GnRH, 1,6 a 2,0 días después de la PGF (26). Esta información se utilizó para desarrollar programas de manejo reproductivo para vacas en lactancia y el protocolo para sincronizar la ovulación se hizo conocido como “Ovsynch”. Este protocolo requiere tres inyecciones. Después de la segunda inyección de GnRH, las vacas son servidas sin detectar celos.

Se demostró que este protocolo induce la ovulación en el 97% de las vacas ciclando en lactancia (26). Sin embargo, este programa sincronizó la ovulación sólo en el 50 % de las vaquillonas tratadas. En un estudio, Pursley (29) utilizó 310 vacas y 155 vaquillonas para comparar el programa Ovsynch con el tratamiento con PGF. El grupo Ovsynch recibió 100 µg de GnRH (Cystorelin, Merial), 25 mg de Dinoprost (Lutalyse, Upjohn) 7 días más tarde, una segunda dosis de GnRH 30 a 36 h después de la PGF y fueron IATF 16 a 20 h después de la segunda GnRH. El grupo control recibió 25 mg PGF en el Día 0 y fueron observadas para detectar celo e IA de acuerdo a la rutina AM/PM. Las vacas que no fueron detectadas en celo fueron nuevamente tratadas con PGF 14 d después y las que no entraron en celo recibieron una tercera dosis de PGF 14 días más tarde y si no se observó celo fueron IATF 72 a 80 h después del tratamiento. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez (%) de vaquillonas y vacas (divididas de acuerdo al intervalo posparto) y servidas después del tratamiento con PGF (grupo control) o del esquema Ovsynch (Adaptado de 29).

	n	Control	Ovsynch	Prob.
Vaquillonas	155	74,4	35,1	<0,01
Vacas lactando				
60 a 75 d	83	39,4	26,0	>0,1
>75 d	227	38,8	43,4	>0,1
Total	310	38,9	37,8	>0,2

En este estudio, el porcentaje de preñez de las vacas del grupo Ovsynch no fue significativamente diferente del grupo control pero fue significativamente menor para las vaquillonas. Además, los porcentajes de preñez de las vacas tratadas en el grupo Ovsynch fueron mayores ( $P < 0.04$ ) en las vacas con más de 75 días de posparto comparada con las que tenían 60 a 75 días de paridas. En el momento de la primera dosis de GnRH (en el grupo Ovsynch), 61,2% de las vacas y 63,5% de las vaquillonas tuvieron concentraciones de progesterona  $> 1$  ng/ml. En el momento de la aplicación de PGF, el porcentaje se había incrementado en las vacas pero no en las vaquillonas (86,2 vs 59,5%). De esta forma la primera dosis de GnRH fue más efectiva para formar tejido luteal en las vacas que en las vaquillonas.

Varios trabajos han estudiado en rodeos lecheros la tasa de concepción y de preñez en vacas lactantes comparando un protocolo de Ovsynch con uno a celo detectado (7,33,4,13,25,27,24,32,36). La tasa de concepción fue definida como el número de vacas preñadas sobre el número de vacas inseminadas a celo detectado. El porcentaje de preñez fue definido como el número de vacas preñadas sobre el número de vacas en el grupo en estudio. Debido a que en los grupos de Ovsynch todas las vacas fueron inseminadas sin detectar celo, la tasa de concepción y de preñez fueron iguales. Las vacas en los grupos de celo detectado fueron sincronizadas con PGF solamente o con la combinación de GnRH y PGF y fueron inseminadas entre 60 y 289 días posparto. En general, es factible en rodeos lecheros alcanzar un porcentaje de preñez entre un 35 y 40 % con la aplicación de un protocolo de Ovsynch.

¿Cuáles son las desventajas del Ovsynch? Para que el programa Ovsynch sea más efectivo es preciso contar con un método efectivo para determinar preñez lo antes posible después del tratamiento (ultrasonografía). En segundo lugar, el enmascaramiento de vacas en períodos de baja fertilidad o que no muestran celos y que permanecen en el programa. Por ejemplo, con el Ovsynch muchas vacas continuarán siendo inseminadas durante el verano cuando las tasas de preñez/ IA serán menores por el estrés por calor.

Con respecto al tratamiento en sí, desde el momento de la inyección de  $\text{PGF}_2\alpha$  y hasta 36 h posteriores a dicha inyección hay un 10 % de vacas que expresan celo. Estas vacas deben ser IA y no deben recibir la segunda dosis de GnRH. Estas vacas están aproximadamente en el día 14-15 del ciclo estral en el momento de la primera inyección de GnRH y no producen un CL en respuesta a dicha inyección, por lo tanto 7 días más tarde cuando se inyecta la  $\text{PGF}_2\alpha$  ellas están en celo y por lo tanto deberían ser IA.

Otro tema está relacionado con el momento de la IA luego de la segunda inyección de GnRH. Pursley (27) evaluó el índice de concepción obtenido luego de la IA a 0 (37%), 8 (40%), 16 (44%), 24 (40%) y 32 (32%) horas después de la inyección de GnRH. El porcentaje de preñez máximo fue a 16 h, pero sorprendentemente un porcentaje de vacas

quedó preñada cuando la IA fue al mismo tiempo que la inyección de GnRH (0 h) y cuando fue cerca del momento de la ovulación (24 h); sin embargo el porcentaje de preñez se redujo significativamente cuando la IA se realizó a las 32 h. Por lo tanto es factible realizar la IA dentro de una ventana de tiempo razonable, si bien los máximos porcentajes de preñez se obtienen entre 8 y 24 h o a las 16 h post inyección de GnRH.

Existe una correlación lineal, positiva y significativa entre preñez y el puntaje de condición corporal (PCC) en protocolos de Ovsynch (7). Las vacas que sufren anestro posparto (concentraciones de P4 <1 ng/ml hasta los 60 días posparto) aparentemente ingieren menor cantidad de alimentos, producen menor cantidad de leche / día y pierden mayor peso corporal lo que resulta en un menor PCC que las vacas que ciclan durante el mismo periodo posparto (34) Debido a que luego del tratamiento con GnRH, la eficiencia reproductiva de las vacas en anestro (determinado por ausencia de estructuras ováricas o por concentraciones de P4 <1.5 ng/ml) no mejoró comparado con las no tratadas del grupo control; las vacas que están en anestro no tendrán un porcentaje de respuesta normal o esperado en los programas de Ovsynch. La mayoría de nuestros trabajos a campo con el protocolo de Ovsynch demuestran que existe una menor fertilidad en las vacas que son identificadas en anestro. La ventaja que posee el protocolo de Ovsynch es que garantiza la IA de todas las vacas en un momento preciso durante el posparto, y por lo tanto permite al productor alargar el período de espera voluntario sin mayores inconvenientes para maximizar los porcentajes de preñez obtenidos. Si todas las vacas del rodeo están ciclando, un programa de IACD comienza alrededor del día 40 posparto para asegurar que la primera inseminación ocurra en promedio alrededor del día 70 (rango de 40 a 100 días posparto). Un programa de Ovsynch permite realizar la primera inseminación al día  $70 \pm 3$  si se implementa en forma semanal. De hecho el porcentaje de preñez obtenido con un protocolo de Ovsynch iniciado desde el día 70 al 100 post parto fue mayor que el obtenido con uno iniciado desde el día 50 a 75 posparto (47% vs 35%;  $P < 0.01$ ; 34). Por lo tanto puede llegar a ser ventajoso para el productor retrasar la primera IA posparto hasta llegar a un período de mayor fertilidad y luego utilizar el protocolo de Ovsynch para asegurarse la IA del 100 % de los animales sin ver reducido el tiempo a la primera IA.

En la mayoría de los estudios citados, el programa de Ovsynch fue realizado solamente en la primera IA. De acuerdo a lo demostrado por Pursley (29), luego de implementar un protocolo de IACD u Ovsynch se puede realizar el diagnóstico ultrasonográfico de gestación entre los días 32 a 38 post inseminación con el objetivo de resincronizar las vacas vacías para realizar una IA subsecuente. Resultados preliminares (11) demuestran que es factible realizar el diagnóstico precoz de gestación y resincronización de los animales vacíos en protocolos de IACD y Ovsynch con los que se obtienen resultados de fertilidad aceptable. Dichos protocolos deberán ser aprobados y adaptados para su uso en ganado de leche.

### **Presynch + Ovsynch**

Otros estudios con el protocolo Ovsynch revelaron que cuando las vacas se iniciaron en este protocolo entre los días 5-12 del ciclo estral, el diámetro del folículo ovulatorio era menor pero las tasas de preñez tendían a ser mayores que en otros estadios del ciclo (40). Al menos tres experimentos han probado una mejoría en la fertilidad de vacas cuando una inyección de PGF<sub>2α</sub> se administra 12 días antes de iniciar el protocolo Ovsynch o dos inyecciones cada 14 días, siendo la segunda de éstas administrada 12 días antes del inicio del

protocolo. En estos estudios las tasas de preñez de vacas multíparas se vieron incrementadas en un 13 por ciento con una inyección de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  administrada antes del protocolo Ovsynch (8), mientras que las preñeces se incrementaron entre un 12-14% en todas las vacas en lactancia con dos inyecciones de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (23, 37). El denominado procedimiento Presynch involucra dos inyecciones de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , administradas cada 14 días siendo la segunda inyección administrada 12 días antes del inicio del protocolo Ovsynch.

### **Dispositivos Intravaginales En Combinación con EB**

Desde que se crearon estos dispositivos se han desarrollado protocolos de 7 u 8 días de duración (9,19). El tratamiento más utilizado consiste en administrar 2 mg de EB al momento de la inserción del dispositivo (Día 0), remover el dispositivo en el Día 7 u 8 y administrar PGF. Veinticuatro horas después se administra 1 mg de EB para sincronizar la ovulación y la IATF se realiza a las 54-56 horas pos-remoción. Estos protocolos han sido utilizados por productores lecheros en diversas partes del mundo con porcentajes de preñez que oscilan entre el 35 y 55%, encontrándose muy influenciado por la condición corporal y los días de lactancia y la producción de las vacas.

Trabajos realizados por Macmillan (20) proponen la utilización de tratamientos de 8 días en vacas lecheras en lactancia, basándose principalmente en la teoría de que al alargar el tratamiento por un día se permitirá un mayor crecimiento del folículo dominante. Burke y col. (6) observaron en vacas en anestro, que cuando el folículo dominante tenía más de 3 días desde su emergencia a la remoción del CIDR-B (folículos de aproximadamente 9 mm de diámetro) las vacas ovularon con un tratamiento de EB 24 horas pos CIDR-B. Por el contrario, cuando el folículo tenía solo un día desde su emergencia la mayoría de las vacas no ovularon con EB a las 24 horas pos CIDR-B, aunque mostraron signos de celo. Estos datos sugieren que, en vacas en anestro, puede ser beneficioso utilizar un tratamiento de 8 días. En el mismo trabajo, los autores observaron en vaquillonas, que el folículo dominante puede tener un crecimiento compensatorio y llegar a ovular aunque sea más pequeño y esto podría explicar por qué no hemos encontrado diferencias entre los tratamientos de 7 u 8 días en vaquillonas y vacas cíclicas. Nosotros creemos que con los esquemas de 7 días es fundamental respetar los horarios, sobre todo el intervalo entre la inserción del CIDR-B y la remoción del mismo. Si por diversas causas los tratamientos se terminan a la tarde del Día 0 y retiramos el dispositivo a la mañana temprano del Día 7, en realidad estamos retirando los dispositivos a los 6,5 días; lo cual puede afectar la fertilidad, debido a que tendremos un folículo muy pequeño. Por lo tanto hay que tener muy en cuenta los horarios de los tratamientos y como se relacionan con los períodos de ordeño.

### **Implementación de programas de sincronización y resincronización de celos y ovulaciones con dispositivos con progesterona en sistemas de producción de leche**

La utilización de los dispositivos con P4 permite no sólo evitar la detección de celos del primer servicio posparto sino también la resincronización de los celos de los animales que no quedan gestantes después de la primera IA. Esto posibilita maximizar el número de animales gestantes por esta técnica. Se observó que al colocar un dispositivo CIDR-B (nuevo o usado) entre los Días 16 a 21, los animales repitieron celo entre los Días 22 a 25 pos IA en lugar de los Días 18 a 25 tradicionales. En un trabajo con 514 vacas en que dispositivos CIDR-B fueron colocados entre 14-17 días pos IA y retirados a los 21 días pos IA, las vacas resincronizadas con

CIDR-B tuvieron un mayor porcentaje de celos entre los Días 23 y 24 (19). Datos de Nueva Zelanda indicaron que al utilizar la combinación del tratamiento para IATF con la sincronización de los retornos se obtuvo aproximadamente un 70-80% de preñez con pocos días de trabajo de IA. Otros experimentos demostraron que si bien este tratamiento es fácil de aplicar, no todas las vacas vacías vuelven a entrar en celo. En un trabajo realizado en Argentina con vacas Holstein, sólo un 78,2% del total se detectó en celo e IA en 3 días; siendo el 46,6% a las 48 horas, un 15% a las 72 horas y un 16,6% a las 96 horas de retirados los dispositivos CIDR-B (14). Se observó que en vacas multíparas el retorno al servicio fue en algunos casos un poco más variable que en otros.

Nosotros realizamos recientemente un trabajo con el objetivo de evaluar la eficiencia reproductiva en una explotación comercial, mediante la implementación de la sincronización de celo con dispositivos con P4 e IATF. El estudio se realizó en un establecimiento de la provincia de Santa Fe, Argentina, el cual cuenta con 90 vacas en ordeño, con una condición corporal (CC) de 2,5 en promedio al inicio del experimento. Se utilizaron vacas de una producción entre 18 y 20 litros / día y que pesaron entre 480 y 550 kg. Las vacas fueron divididas en dos grupos, las del Grupo Control (n=40) recibieron el tratamiento convencional de detección de celo (DC) dos veces al día a partir de los 42 días del periodo de espera voluntaria (PEV) y fueron IA entre las 8 y 12 h de observado el celo. Las vacas del Grupo DIB (n=50) recibieron en el día 42 del PEV el siguiente tratamiento: Día 0: un dispositivo intravaginal DIB (1g de P4, Syntex, Argentina) junto con una dosis de 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex); Día 8: se retiraron los DIB y aplico una dosis de 500 µg de cloprostenol (Estroplan, Syntex); Día 9: 1 mg de EB im; Día 10: (52 h luego de retirado el DIB) IATF; Día 23: se reinsertó un DIB usado a todas las vacas junto con 1 mg de EB; Día 30: se retiró el DIB; Día 31: 0,5 mg de EB im; Día 31 al 35: DC y se reinseminaron los retornos; Día 42: se realizó palpación rectal para el diagnóstico de preñez de la primera IATF; Día 46: se reinsertó un DIB reusado por tercera vez a todas las vacas vacías a la palpación y las que retornaron al celo entre los días 31 y 35 Día 53: se retiró el DIB; Día 54: 0,5 mg de EB im y Día 54 al 58: DC y se reinseminaron los retornos. Las tasas de concepción fueron comparados por Chi cuadrado y los intervalos por Test T de Student. Como puede observarse en la Tabla 4, se obtuvo un mayor porcentaje de concepción en la primera IA en el Grupo DIB que en el Grupo Control. No hubo diferencias en los porcentajes de preñez finales entre ambos grupos ni entre el intervalo parto 1° IA. Sin embargo, el intervalo parto-concepción y parto-parto fue menor en el Grupo DIB que en el Grupo Control.

**Tabla 2.** Efecto de la utilización de un programa de IATF con resincronización de los retornos en un tambo comercial.

	<b>Grupo DIB</b>	<b>Grupo Control</b>	<b>Valor P</b>
<b>N</b>	50	40	
<b>% concepción 1° IA</b>	56%	25%	0,0031
<b>% concepción 2° IA</b>	75%	67%	0,647
<b>% concepción 3° IA</b>	60%	60%	0,509
<b>% preñez final</b>	86%	90%	0,5648
<b>Int. Parto –1° IA (d)</b>	65,2	70,3	0,135
<b>Int. Parto – Concepción (d)</b>	86,3	111,7	0,0088
<b>Int. Parto – Parto (d)</b>	365,6	393,7	0,0037

Los resultados de experimento sugieren que la programación de la IA con dispositivos con P4 y EB permiten un óptimo manejo reproductivo del tambo, restringiendo la necesidad de DC a períodos de tiempo cortos y preestablecidos.

### **GnRH en Combinación con Dispositivos Intravaginales con P4 en vacas en lactancia.**

Una de las ventajas más útiles de utilizar GnRH como tratamiento inicial en el protocolo Ovsynch es la inducción de la ovulación o de la luteinización de un folículo en vacas anovulatorias. La consecuente exposición a la progesterona en las vacas anovulatorias actúa para evitar un ciclo corto después de la 2° inyección de GnRH. Más aún, aparentemente la combinación de GnRH y progesterona, también aumenta los índices de preñez en ganado lechero anovulatorio (30). Un estudio evaluó el efecto del CIDR-B combinado con el protocolo Ovsynch (CIDR-B-synch) en vacas de leche en lactancia (30). En general, mejoraron los índices de concepción en vacas tratadas con CIDR-B-synch a comparación de aquellas tratadas con Ovsynch (41% vs. 51%; n=634). Es interesante mencionar, que no hubo diferencia en los índices de concepción entre Ovsynch y CIDR-B-synch en vacas que estaban ciclando. Sin embargo, el CIDR-B aumentó notablemente los índices de preñez en vacas que no estaban ciclando (34,7% vs. 55,2%; n=182). El tratamiento con CIDR-B no tuvo efecto sobre el porcentaje de vacas que ovalaron sincrónicamente después de la 2° inyección de GnRH. Por lo tanto, el CIDR-B puede aumentar la fertilidad en vacas de leche en lactancia que no están ciclando. A pesar de las grandes diferencias entre tambos comerciales, el porcentaje promedio de vacas lecheras de alta producción que no ciclan durante los 60 d posteriores al parto aparentemente varía entre el 20 y el 25%.

Recientemente finalizamos parte de un proyecto con el objetivo de evaluar el tratamiento con DIB (1g P4, Syntex, Argentina) en combinación con GnRH para sincronizar vacas en lactancia de lata producción. Se utilizaron 198 vacas Holando Argentino pertenecientes a Los Lazos SA, en las localidades de Totoras, Sta. Fe y El Fortín, Córdoba.

Los animales utilizados tenían una CC promedio de  $3,0 \pm 0,25$  (Escala 1-5), con  $58,0 \pm 11,6$  días en leche y una producción promedio de  $31,1 \pm 6,6$  litros diarios.

Las vacas fueron distribuidas al azar y en función de los datos anteriormente descriptos en 4 grupos de tratamiento en un diseño 2x2 factorial. La mitad de las vacas recibieron un DIB por 7 días junto con la aplicación de una dosis de GnRH (Gonasyn, Syntex, Argentina) en el momento de colocado el DIB y una segunda dosis a las 48 h de retirado el dispositivo. Se aplicó una dosis de PGF (Ciclase, Syntex, Argentina) y las vacas fueron IATF las 60 h de retirado el DIB.

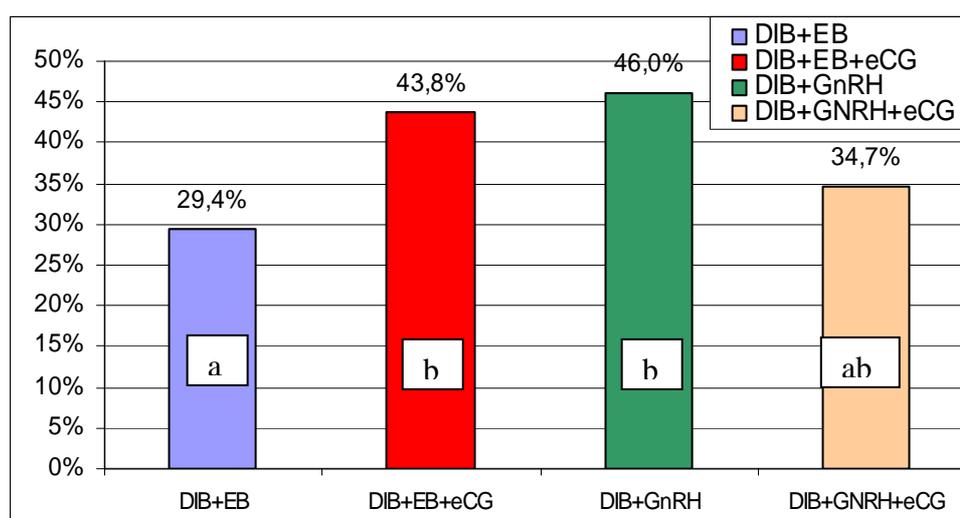
La otra mitad de los animales recibieron un DIB por 8 días combinado con 2 mg de EB (Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina) en el momento de insertado el DIB. Se aplicó una dosis de PGF en el momento de retirado el DIB y 1 mg de EB 24 h mas tarde. Todos los animales fueron IATF a las 60 h retirado el DIB. Cada grupo fue subdividido para recibir o no 400UI de eCG (Novormón, Syntex, Argentina) en el momento de retirado el DIB. El protocolo se encuentra resumido en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Grupos de Tratamiento

Día	Grupos de Tratamiento			
	DIB+EB	DIB+EB+eCG	DIB+GnRH	DIB+GnRH+eCG
Día 0	DIB + 2 mg EB		DIB + GnRH	
Día 7			X DIB+PGF	x DIB+PGF+eCG
Día 8	X DIB+PGF	x DIB+PGF+eCG		
Día 9	1 mg EB		GnRH	
Día 10	IATF (60 h)		IATF (60 h)	

Los diagnósticos de preñez se realizaron por palpación rectal entre los 45 y 50 días pós IATF.

Como puede observarse en el Gráfico 1 se obtuvieron mayores porcentajes de preñez en las vacas tratadas con DIB+GnRH y DIB+EB+eCG que en las vacas tratadas con DIB+EB, mientras que las vacas tratadas con DIB+GnRH+eCG resultaron en porcentajes de preñez intermedios.



**Gráfico 1.** Porcentajes de preñez en vacas tratadas con DIB en combinación con EB ó GnRH.

Con el objetivo de caracterizar la dinámica folicular de las vacas tratadas con los 4 grupos de tratamiento del experimento anterior finalizamos recientemente un experimento en el cual se evaluó el momento de inicio de onda y ovulación sobre un total de 20 vacas de las mismas características del experimento anterior.

Para la evaluación del efecto de los tratamientos en el desarrollo folicular los animales fueron examinados diariamente por ultrasonografía ovárica (Pie Medical, Falco 100 con transductor de 8.0 MHz). En cada examinación, el CL y todos los folículos >4 mm fueron identificados, medidos y diagramados con respecto a su ubicación en el ovario para evaluar los cambios de cada uno de ellos individualmente.

El folículo de mayor tamaño presente en el momento del inicio del experimento fue definido como el folículo dominante de la onda 1. Los folículos

subordinados fueron definidos como el grupo de folículos aparentemente originados en la misma onda folicular (15,17). La emergencia de la onda de crecimiento folicular post tratamiento (onda 2) fue definida como el primer día en que el folículo dominante de la nueva onda fue detectado retrospectivamente con 4,5 mm de diámetro. El momento de la ovulación fue definido como la desaparición del folículo dominante de la onda ovulatoria. Las vacas del Grupo DIB+EB resultaron en un inicio de onda menos sincrónico que las vacas de los otros tres grupos de tratamiento ( $P=0,0001$ ). Con respecto al momento de ovulación los animales de los Grupos DIB+GnRH y DIB+EB+eCG resultaron en una ovulación mas sincrónica que los otros dos grupos de tratamiento ( $P=0,003$ ).

**Tabla 4.** Inicio de onda y momento de ovulación en vacas de leche tratadas con DIB + EB ó DIB+GnRH. Con la aplicación o no de eCG.

	<b>DIB+EB</b>	<b>DIB+EB+eCG</b>	<b>P4+GnRH</b>	<b>P4+GnRH+eCG</b>
n	5	5	5	5
<b>Inicio de Onda</b>				
Media	-2,4 <sup>a</sup>	3,6 <sup>b</sup>	1,4 <sup>ab</sup>	1,4 <sup>ab</sup>
Mediana	-5	4	1	1
Rango	(-8)-6 <sup>a</sup>	3-4 <sup>b</sup>	1-2 <sup>b</sup>	1-2 <sup>b</sup>
EE	2,9	0,2	0,2	0,2
<b>Ovulaciones</b>				
Ovaladas/tratadas	3/5	4/5	4/5	5/5
Media	70,0	76,5	78,0	72,0
Mediana	72	78	78	78
Rango	60-78 <sup>x</sup>	72-78 <sup>y</sup>	78-78 <sup>y</sup>	60-78 <sup>x</sup>
EE	5,3	1,5	0	3,8

ab Valores con tendencia estadística ( $P=0,08$ )

cd Valores difieren estadísticamente ( $P=0,0001$ )

Xy Valores difieren estadísticamente ( $P=0,003$ )

No resulta claro el hecho de que las vacas tratadas con DIB+EB+eCG resultaron en una sincronía de onda mas homogénea que las vacas tratadas con DIB+EB. En estos momentos se encuentra en ejecución otra réplica del experimento con el objetivo de aumentar el tamaño muestral y determinar si las diferencias se mantienen.

Concluimos que el tratamiento de elección para vacas en lactancias con producciones promedio de 30 litros son los que combinan DIB con GnRH.

### **Dispositivos Intravaginales con P4 en Vaquillonas.**

Martínez et al., (22) realizaron recientemente experimentos para evaluar distintas alternativas de programas Ovsynch en vaquillonas. Se evaluó si era posible mejorar los índices de preñez en vaquillonas adicionando un implante de progesterona al programa Ovsynch. Utilizaron un total de 58 vaquillonas que fueron divididas al azar en dos grupos. El Grupo 1 recibió el programa Ovsynch y el Grupo CIDR recibió un CIDR en el momento de la primera aplicación de GnRH (Día 0). El CIDR fue removido en el momento de la aplicación de la PGF<sub>2</sub>α (Día 7).

Los resultados (Tabla 5) demostraron una clara diferencia de preñez. La adición del CIDR a las vaquillonas casi duplicó la preñez. Esto confirma que los esquemas Ovsynch no son adecuados para vaquillonas.

**Tabla 5.** Porcentajes de preñez de vaquillonas tratadas con un programa de Ovsynch de 7 días u Ovsynch más un CIDR colocado en el momento de comenzar el tratamiento.

Categoría	Ovsynch	CIDR + Ovsynch
Vaquillona (n)	23	25
% preñez	39,1 <sup>a</sup>	68,0 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Porcentajes dentro de la misma fila con diferente superíndice difieren significativamente (P<0,05).

Recientemente De La Sota et al., (datos sin publicar) finalizaron un experimento con el objetivo de comparar bajo condiciones de explotación comercial la eficacia de la utilización de BE a las 0 o 24 hrs del retiro del implante de progesterona DIB® para inducir la ovulación en vaquillonas Holando Argentino de 24 meses.

Se utilizaron vaquillonas Holando Argentino de 22 meses de edad (n=58). Los animales fueron asignados en forma aleatoria a cada uno de los 2 tratamientos y se les aplicó la secuencia de tratamientos descriptas en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Secuencia de tratamientos utilizados

DÍA DEL PROTOCOLO	TRT1 (BE 24 h)	TRT2 (BE 0 h)
	Fertilidad (n=60)	Fertilidad (n=60)
-9	Ecografía <sup>1</sup> DIB (1° uso)-in+ BE <sup>A</sup>	Ecografía DIB (1° uso)-in+ BE <sup>A</sup>
-2	DIB (1° uso)-out+ PG	DIB (1° uso)-out+ PG+ BE <sup>B</sup>
-1	BE <sup>B</sup>	
0	IATF (48 h)	IATF (36 h)
18	DIB (2° uso)-in+ BE <sup>B</sup>	DIB (2° uso)-in+
25	DIB (2° uso)-out+ DG+PG	DIB (2° uso)-out+ DG+PG+BE <sup>B</sup>
26	BE <sup>B</sup>	
27	ITF (48 h)	ITF (36 h)
34	Ecografía <sup>2</sup>	Ecografía
53	DG	DG

DIB Syntex S.A. (1.0 g de progesterona),  
 BE<sup>A</sup> Syntex S.A. (2 mg de benzoato de estradiol),  
 BE<sup>B</sup> Syntex S.A. (1 mg de benzoato de estradiol),  
 PG Ciclase, Syntex S.A. (150 ug, D(+) cloprostenol),

IATF Inseminación Artificial a tiempo fijo,  
 DG Diagnóstico precoz de gestación por ultrasonografía (día 25 pos IA).

Los resultados de la eficiencia reproductiva obtenidos en la primera y segunda ronda de IATF se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7.** Resultados de eficiencia reproductiva obtenidos en la primera y segunda ronda de inseminación a tiempo fijo

	TRT1 (BE0h-IATF36h)	TRT2 (BE24h-IATF48h)	Total
% de preñez IATF1	72.4% (21/29)	72.4% (21/29)	72.4% (42/58)
% de preñez IATF2	57.1% (4/7)	37.5% (3/8)	46.6% (7/15)
% de preñez Final	86.2% (25/29)	85.7% (24/29)	84.5 % (49/58)

No hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el porcentaje de preñez en la sincronización, en la resincronización, y en el porcentaje de preñez final entre ambos tratamientos.

**Por lo expuesto, los protocolos de sincronización de celo y ovulación en vaquillonas lecheras no parece ser diferente a aquellos utilizados en rodeos carniceros. En este sentido, es posible recomendar protocolos de 7 u 8 días que incluyen la colocación del DIB junto a la aplicación de 2 ml (2 mg) de Benzoato de Estradiol Syntex el día 0, el día 7 extracción del DIB y aplicación de una dosis de Ciclase (150 ug de D + Cloprostenol) y el mismo día o al día 8 la aplicación de 1 ml (1 mg) de Benzoato de Estradiol Syntex, realizandose la IATF a las 36 o 48 hs. respectivamente.**

## COMENTARIOS FINALES

Los avances logrados en cuanto a la comprensión de los mecanismos neuroendócrinos de regulación del ciclo estral, las técnicas como la US que han permitido profundizar el conocimiento de la dinámica folicular y luteal, y la disponibilidad de hormonas sintéticas naturales o análogas a nivel comercial, han permitido lograr tratamientos de sincronización de celos que permiten la IATF.

La IATF es una interesante alternativa cuando la detección de celos es un problema serio de manejo. Se plantean como ejemplo los tambos ubicados en regiones tropicales o subtropicales donde el estrés por calor reduce sensiblemente los índices reproductivos. Estos tratamientos fueron probados en tambos comerciales en regiones templadas y en regiones tropicales en animales sometidos a estrés por calor; sus resultados fueron comparados con los de otros manejos. Disminuyó el promedio de días de vaca vacía, mejoró las tasas de servicios y la eficiencia reproductiva general.

El valor de un programa de IATF aumenta significativamente en situaciones de manejo reproductivo deficiente donde la detección de celo es la limitante. No podría, asimismo, obtenerse la máxima tasa de concepción en las vacas de este grupo, debido a que se inseminan tanto las vacas que están ciclando como las que están en anestro y las que no responden a la inyección de PGF. Cuando se utilizó en vacas sometidas a estrés por calor, el tratamiento incrementó las tasas de preñez al inseminar mayor número de animales. Tanto la

detección de celos como la tasa de preñez del grupo control fueron extremadamente bajas lo cual es indicativo de la infertilidad asociada con el verano e inducida por el estrés calórico.

**El protocolo que ha demostrado ser el mas eficiente para el tratamiento de vacas en lactancia es el que consiste en :**

- **Día 0: Aplicación de un Dispositivo Intravaginal Bovino Syntex (DIB) mas una dosis de Gonasyn ( 50 ug de Lecirelina, análogo sintético de GnRH).**
- **Día 7: Retiro del DIB y aplicación de una dosis de Ciclase (150 ug de D+Cloprostenol),**
- **Día 9: A las 48 hs de retirado el DIB, aplicación de una segunda dosis de Gonasyn ( 50 ug de Lecirelina, análogo sintético de GnRH). A las 60 hs de retirado el DIB hacer IATF.**

## REFERENCIAS

1. Badinga L, Thatcher WW, Wilcox CJ, Morris G, Entwistle K, Wolfenson D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 $\beta$ , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 1994; 42:1263-.
2. Bo GA, Caccia M, Tribulo H, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Synchronous ovulation in heifers treated with E-17 $\beta$  and CIDR-B vaginal devices. *Proc Can Society Anim Sci, Regina, SK, 1994; 284 abstr.*
3. Bó, G.A., Caccia, M., Martínez, M., Mapletoft, R.J. Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. *Proc. 13 th International Congress on Animal Reproduction, Sydney, Australia 1996; 2:P7-22 abstr.*
4. Burke JM, Staples CR, Risco C, de la Sota RL, Thatcher WW. Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 1997; 80:3386.
5. Burke, C.R., Day, M.L., Bunt, C.R., Macmillan, K.L. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J Anim Sci* 2000; 78:145-151.
6. Burke, C.R., Mussard, M.L., Grum, D.E., Day, M.L. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of estrus and ovulation in cattle with estradiol benzoate. *Anim Reprod Sci* 2001; 66:151-160.
7. Burke, JM, de la Sota RL, Risco CA, Staples CR, Schmitt EJ-P, Thatcher WW. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1996; 8:1385-1394.
8. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. Stage of cycle, incidence and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J Dairy Sci, 2000; 83(Suppl. 1):216 abstr.*
9. Colazo, M.G., Bó, G.A., Illuminanti, H., Meglia, G., Schmidt, E.E., Bartolomé, J. Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology* 1999; 51:404 abstr.
10. Cutaia, L., Tríbulo, R., Tegli, J., Moreno, D. and Bó, G.A. The use of estradiol and progesterone devices during mid-diestrus to synchronize return to estrus in beef cows and heifers. *Theriogenology* 2002; 57:373 abstr.
11. De la Sota RL, Crudeli GA. Inseminación a tiempo fijo en ganado bovino de leche. 3° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Villa Carlos Paz, Córdoba. 1999; 83-94.

12. De la Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. Effects of recombinant bovine somatotrophin (Sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1993; 76:1002-14.
13. De la Sota RL, Risco C, Moreira F, Thatcher WW. Efficacy of a timed insemination program in lactating dairy cows during summer heat strees. *Theriogenology* 1998; 49:761.
14. Dick, A. Control del ciclo estral en ganado lechero. Resúmenes Tercer Simposio Internacional de Reproduccion Animal, Carlos Paz, Córdoba 1999; 95-108.
15. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1989b; 20:187-200.
16. Kastelic J.P. Conceptos actuales en la detección de celos en Bovinos. Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba 2001; 73-82.
17. Knopf L, Kastelic JP, Schallenger E, Ginther OJ. Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Dom Anim Endocr* 1989; 6:111-120.
18. Macmillan KL, Thatcher WW. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod* 1991; 45:883-889.
19. Macmillan KL, Peterson AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anestrus. *Anim Reprod Sci* 1993; 33:1-25.
20. Macmillan, K.L., Colson, D.D., Eagles, V.M. Modifications to improve whole herd synchrony programs in seasonal dairy herds. *Proc Australian Assoc of Cattle Vet* 1999; 121-129.
21. Macmillan, K.L., Taufa, V.K., Day, A.M. Manipulating ovaries follicle wave patterns can partially synchronise returns to service and increases the pregnancy rate to second insemination. *Proc NZ Soc Anim Prod* 1997; 57:237.
22. Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP and Mapletoft RJ. The use of CIDR-B devices in GNRH/LH based artificial insemination programs. *Theriogenology* 2000; 53:202
23. Moreira F, Risco CS, Pires MFA, Abrose JD, Drost M, Thatcher WW. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J Dairy Sci* 2000; 83:1237-1247.
24. Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronized ovulation. *J Dairy Sci.* 1997b; 80:301.
25. Pursley JR, Mee MO, Brown MD, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using GnRH and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Abstr). *J Anim Sci* 1994; 72(Suppl 1):230.
26. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44:915-923.
27. Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC. Conception rates at different intervals between AI and ovulation (Abstr). 1995; *J Dairy Sci* 78(Suppl 1):279.
28. Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81:2139.
29. Pursley JR, Witbank MC, Slevenson JS, Ottocce JS, Garverich HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci* 1997;80:295-300.
30. Pursley, J.R., Fricke, P.M., Garverick, H.A., Kesler, D.J., Ottobre, J.S., Stevenson, J.S., Wiltbank, M.C. 2001. NC-113 Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA; 63 abstr.

31. Schmitt E J-P, Drost M, Diaz TC, Roomes C, Thatcher WW. Effect of a GnRH agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. *J Anim Sci* 1994;74:154-161.
32. Schmitt EJP, Diaz T, Drost M, Thatcher WW. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J Anim Sci* 1996; 74:1084.
33. Silcox, R. W., K. L. Powell, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology* 1995; 43:325 abstr.
34. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. Relationship between various cyclicity and energy states during early postpartum period of high producing cows. *J Dairy Sci* 1990; 73:938.
35. Stevenson JS, Kobayashi Y, Shipka MP, Rauchholz KC. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F<sub>2</sub>. *J Dairy Sci* 1996; 79:402-410.
36. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . *J Dairy Sci* 1999; 82:506.
37. Stevenson JS. Sincronización de celos y de ovulaciones en ganado de carne y bovino de leche. V Congreso Argentino de Reproducción Animal, CABIA 2000;CD.
38. Thatcher WW, Schmitt EJP, de la Sota RL, Burke J, Risco C, Staples CR, Drost M. Sincronización del estro en rodeos lecheros: manejo del desarrollo folicular con GnRH, inseminación a tiempo fijo, conceptos de sincronización. IIº Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Carlos Paz, Córdoba, 1996; 109-130.
39. Twagiramungu H, Guilbault LA, Dufour JJ. Synchronization of ovarian follicular waves with a Gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle. *J Anim Sci*. 1995; 73:3141-3151.
40. Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999; 52:1067-1078.
41. Wiltbank MC, Pursley RJ, Fricke PM, Vasconcelos J, Guenther JN, Gibbons JR, Ginther OJ. Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth, Proc. Annual Meeting American Embryo Transfer Association, 1996; 23-44.
42. Wolfenson D, Thatcher WW, Savio JD, Badinga L, Lucy MC. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology* 1994; 42: 633-44.