

Universidad Católica de Temuco
Facultad de Acuicultura y Ciencias Veterinaria
Escuela de Medicina Veterinaria



Determinación de la concentración de Progesterona sérica en vaquillas tratadas con implante de Progesterona (Cuemate (Pfizer)) para sincronización de celo

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Ciencias Veterinarias.

Fabián Andrés Torres Velásquez

TEMUCO- CHILE

2004

PROFESOR GUÍA:

Dr. Roberto Matamoros P.

PROFESOR INFORMANTE INTERNO:

Prof. Marco Berland

PROFESOR INFORMANTE EXTERNO:

Dr. Raúl Silva Wevar

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Importancia de la eficiencia reproductiva

Según Peters y Ball (1995), la reproducción es un factor vital en la determinación de la eficiencia productiva. En el mejor de los casos, una vaca produce una única cría al año, por lo que se considera al bovino con una pobre eficiencia reproductiva en comparación con otras especies de granja como el cerdo o la oveja. Esto hace además que el progreso genético sea más lento.

En el ganado lechero, la meta generalmente es el aumento de la producción de leche, en perjuicio de otros factores genéticos. Sin embargo una vaca solo puede tener una lactancia exitosa después de tener una preñez. En ganado de carne es de importancia la descendencia para las hembras de reemplazo. La eficiencia productiva por lo tanto es de suma importancia.

Actualmente existen variados métodos de manejo reproductivo en bovinos, ya sea para mejorar la calidad genética del plantel en el caso de la inseminación artificial o la transferencia de embriones por ejemplo, como para optimizar el trabajo en terreno durante la época de pariciones.

En este último caso el manejo realizado consiste en la concentración de las pariciones en una época determinada del año. Esto se logra principalmente mediante la sincronización de los celos y por consiguiente del encaste o inseminación artificial del ganado.

Existen diferentes métodos de sincronización, basados todos ellos en el manejo hormonal del rebaño.

Control reproductivo en bovinos:

Según Hafez, (1996) para lograr con éxito la reproducción es necesario que la cópula coincida con el momento de la ovulación. Este momento en la vaca ocurre 10 a 11 horas después del final del estro, el que dura 20 horas en promedio en vacas de carne y 15 horas en promedio en vacas de leche (Illera, 1994), con un ciclo estrual que dura 21 a 22 días en total.

Este ciclo es regulado por mecanismos endocrinos y neuroendocrinos; a saber, hormonas hipotalámicas, gonadotropinas y esteroides secretados por ovarios (Hafez, 1996).

El ciclo puede dividirse en dos grandes fases, relacionadas con los acontecimientos que tienen lugar en el ovario y con la endocrinología del mismo: Fase folicular, días 1-18 y fase luteínica: días 19-21 (Illera, 1994).

En los últimos treinta años, se ha estudiado ampliamente el ciclo estral bovino por distintos autores, y muchos de estos (Peters, 1985; Dobson y Kamonpatana, 1986; Dieleman *et al.*, 1986); describen el patrón hormonal dividiéndolo en dos grupos de hormonas, que en su interacción determinarán la regulación del ciclo (Illera, 1994):

1. factores hipotalámicos y hormonas hipofisarias.
2. hormonas esteroides ováricas.

Además de estos dos grupos de hormonas, se ha demostrado la importancia de otra hormona como factor luteolítico uterino, la prostaglandina F_{2a} o su precursor, el ácido araquidónico.

1. El factor hipotalámico implicado en la liberación de las gonadotropinas hipofisarias es la GnRH (gonadotrophin releasing hormone), y las principales

gonadotropinas hipofisarias del ciclo estral bovino son LH (luteinizing hormone) y FSH (follicle stimulating hormone) (Illera, 1994).

La FSH, según Perry (1991), actúa sobre las células de la granulosa estimulando el crecimiento folicular y la formación del antro. Además provoca un aumento de los receptores de LH en estas mismas células. También actúa en la transformación de la testosterona en 17 β - estradiol.

La idea sostenida anteriormente de que tanto la FSH como la LH eran necesarias para la transformación del folículo en crecimiento en un folículo preovulatorio y subsiguiente secreción de estrógenos por la teca no parece probable. De acuerdo con estudios, basta con la acción de la FSH para completar el desarrollo del folículo (Cole, H.; Cupps, P., 19??).

La LH es la hormona estimuladora de la maduración y rotura del folículo de Graaf y de la formación y mantenimiento del cuerpo lúteo (Illera, 1994).

Rahe *et al.* (1980) dividen la secreción de LH en tres categorías que reflejan el estadio del ciclo:

- a) **fase luteínica:** se produce una secreción pulsátil de elevada amplitud y baja frecuencia (un pulso/ 4 horas)
- b) **durante la luteólisis y fase folicular:** pulsos con mayor amplitud y frecuencia aumentada, culminando con el pico preovulatorio de LH
- c) **periodo posterior al pico preovulatorio:** pulsos de baja amplitud y alta frecuencia (uno/ hora). Esta secreción está directamente relacionada con los cambios que se producen en las concentraciones de progesterona a lo largo del ciclo estral.

2. las hormonas esteroides ováricas mas importantes del ciclo estral de la vaca, son el 17 β - estradiol y la progesterona.

Progesterona: Ya en 1929, Corner y Allen, en estudios realizados en cerda, señalaron la dependencia funcional del útero por la progesterona, estableciendo lo siguiente: “los extractos del cuerpo lúteo contienen una hormona especial en la que una de sus funciones es la preparación del útero para recibir al embrión, induciendo la proliferación progestacional del endometrio”. Los estudios de laboratorio han demostrado que después de la inducción por estrógenos, el útero puede proliferar en presencia de progesterona (Peters y Ball, 1995).

Csapo (1956) ha propuesto que durante la gestación la progesterona es el factor responsable de la inactividad miometrial. Las respuestas del útero a los estrógenos y a la oxitocina desaparecen, incrementando el potencial de membrana y el estímulo necesario para inducir la contracción del tejido miometrial.

Curva de progesterona: Las concentraciones plasmáticas de progesterona reflejan el desarrollo, mantenimiento y regresión del cuerpo lúteo. Las concentraciones comienzan a elevarse desde el día 4 del ciclo, hasta alcanzar un pico entre los días 16 y 18 con concentraciones de 3.5 a 6.0 ng/ml en sangre periférica, posteriormente descienden hasta valores basales (0.1 ng/ml) antes del estro y la ovulación. Esta hormona ejerce un efecto de retrofuncionalidad negativa sobre la liberación de LH, reduciendo la frecuencia de los pulsos de LH, influyendo en la terminación del pico preovulatorio de 17 β - estradiol. La progesterona presenta también un patrón pulsátil de secreción, coincidiendo en la fase luteínica con los pulsos de FSH (Illera, 1994).

Estrógenos: El estrógeno actúa en el SNC para inducir la conducta de estro en la hembra; sin embargo en especies como ovinos y bovinos son necesarias pequeñas cantidades de progestágeno y estrógeno para inducir el estro. También provocan

hiperplasia e hipertrofia del endometrio y miometrio. En el útero además incrementan la amplitud y frecuencia de las contracciones mediante la potenciación de los efectos de la oxitocina y la prostaglandina F_{2a}.

La manifestación física de las características sexuales secundarias femeninas se atribuye al estrógeno, el cual estimula el crecimiento de los conductos y causa el desarrollo de la glándula mamaria. A través del hipotálamo, ejerce control por retroalimentación tanto positiva como negativa sobre la liberación de LH y FSH: el efecto negativo se ejerce sobre el centro de secreción tónica del hipotálamo, mientras que el positivo actúa en el centro de secreción preovulatoria (Hafez, 1996).

Hafez (1996), hace referencia también a otros efectos no reproductivos de los estrógenos, como son el estímulo en la captación de calcio y formación de hueso. Además, la maduración del cartílago epifisiario de los huesos largos e inhibición del posterior crecimiento de estos. En rumiantes, también se observa un efecto anabólico sobre las proteínas que incrementan la ganancia de peso y el crecimiento, aparentemente por la estimulación de la hipófisis para que secrete más hormona del crecimiento.

Perry (1991), hace referencia a un trabajo de Wi y Mueller (1963), en que se demuestra la estimulación por parte de los estrógenos a la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y fosfolípidos en tejido uterino de rata.

Dinámica del crecimiento folicular durante el ciclo estral

Adams y Bo (1995), han definido el desarrollo folicular en los ovarios de vacas como una secuencia dinámica de eventos organizados que se describen como una *onda*. Una onda corresponde al desarrollo sincronizado de un número entre 8 a 41 folículos (promedio = 24) de 3-4 mm de diámetro (Adams, 1999), seguido de la selección y

crecimiento de un folículo dominante y supresión de los subordinados. El ciclo estral del bovino presenta dos o tres ondas foliculares (Adams, 1999). Ciclos de una onda única han sido reportados en vaquillas púberes (Evans *et al.*, 1994) y en vacas maduras durante el primer intervalo interovulatorio después del parto (Murphy *et al.*, 1990).

Por alrededor de dos días la tasa de crecimiento es similar en todos los folículos de la onda primaria, luego solo un folículo es seleccionado para continuar creciendo (folículo dominante) a costa de la atresia y regresión de los demás (folículos subordinados). En ciclos estrales de dos y tres ondas, la aparición de la primera onda folicular coincide con el día de la ovulación (día 0). La segunda onda comienza el día 9 o 10 en los ciclos de dos ondas, y en los días 8 o 9 para ciclos de tres ondas. En ciclos de tres ondas, la tercera onda ocurre en el día 15 o 16 (Adams, 1999).

Control de la fertilidad

Varios fenómenos reproductivos son susceptibles de ser manipulados. Estos incluyen el momento de ovulación y estro, el número de folículos ovulatorios, y el tiempo de parto. Además, procedimientos como la transferencia de embriones, inseminación artificial, fecundación *in Vitro*, y el almacenaje y congelación de embriones pueden ser usados en combinación con los anteriores para lograr mejores tasas reproductivas (Cupps, 1991).

Sincronización del estro: esencialmente se distinguen dos métodos: *prolongación artificial del diestro*, usando progestagenos, o su *acortamiento* usando luteolisinas como la prostaglandina F_{2a} o sus análogos sintéticos.

La progesterona y una amplia gama de análogos sintéticos se ha probado extensamente, inyectándolos, administrándolos en la alimentación, implantándolos o insertándolos

intravaginalmente, solos o en combinación con estrógenos, gonadotropinas o prostaglandinas (Peters y Ball, 1995).

Según Peters y Ball (1995), el desarrollo de progestágenos sintéticos, sumamente potentes, como la 17 α -acetoxi-11 β -metil-9-nor-preg-4-20-diona (SC-21009), ha hecho posible el uso de implantes subcutáneos eliminables (en la oveja).

Peters y Ball (1995), señalan también, que la duración del tratamiento debería ser equivalente al largo de la fase luteal natural, de 16 días. Sin embargo, este método falla por encontrar en algunos individuos un cuerpo lúteo no reactivo. Con un tiempo de tratamiento mas largo, de 16 a 21 días, se logra la sincronización de los celos pero con bajas tasas de preñez. Al acortar el tiempo de tratamiento entre 7 a 12 días se logran mejores tasas de preñez pero nos encontramos nuevamente con la posibilidad de encontrar cuerpos lúteos no reactivos. Por estos motivos se ha hecho necesario incorporar agentes luteolíticos a los esquemas de sincronización de celo mediante progestágenos.

Según Peters y Ball (1995), una innovación con buenas tasas de concepción ha sido el desarrollo de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRID), que consiste en una espiral metálica recubierta de silicona impregnada en progesterona. Tras su inserción en la vagina, el nivel de progesterona en el plasma periférico se eleva a 5-10 ng/ml, en el plazo de una hora y permanece elevado durante 3-5 días.

Peters (1995) dice que la remoción del implante 7 a 12 días después de su inserción intravaginal causa un aumento de progesterona plasmática, estimulando la luteólisis natural. Consecuentemente, las vacas presentan estro 48 a 72 horas después, pudiendo ser inseminadas en este tiempo.

El desarrollo de dispositivos de progesterona, como el PRID (Sanofit, Francia), dispositivo de liberación controlada intravaginal EASI Breed (CIDR; InterAg), Crestar

(implante de oreja Norgestomet; Intervet Ltda.) a facilitado el uso de progestágenos para la sincronización del estro en vacas (Diskin, M. G. et al, 2002).

Estos tratamientos pueden ser usados en combinación con prostaglandinas y/o estrógenos, principalmente cuando se realiza en un gran número de animales que no se sabe en que momento del ciclo se encuentran, para inducir luteólisis al principio del tratamiento o para inducir el celo tras su aplicación una vez quitado el implante (Peters, 1995).

Según Diskin (2002), el uso de estrógenos en conjunto con dispositivos de progestágenos, es para acortar la vida útil del CL y terminar una onda folicular existente e inducir la emergencia de una nueva onda folicular. Los animales expuestos a estos tratamientos exhiben estro en gran proporción (sobre un 85%) unas 30 a 60 horas después de la remoción del implante, pudiendo ser inseminados una única vez o dos veces 48 y 72 horas después de la remoción del implante. Otra ventaja de estos métodos es la posibilidad de inducir un ciclo estral en vacas en anestro, dependiendo del intervalo post parto y la causa del anestro.

Según diversos autores, las modificaciones del método incluyen el uso de PMSG y PGF_{2a} , en el momento de eliminar el implante, pareciendo que ambas mejoran la fertilidad. Además, en comparación con los tratamientos hormonales orales, el momento del estro y la ovulación son más constantes, permitiendo esto la inseminación en una fecha predeterminada.

Bo (1995), señala que en los programas de sincronización de celo, el intervalo desde el tratamiento con PGF_{2a} a la expresión de signos de celo está determinado por el estado de desarrollo del folículo dominante al momento de iniciado el tratamiento. Es así como hembras con un folículo dominante viable presentan celo 48 a 60 horas después de la inyección de PGF_{2a} , sin embargo, el celo se presenta 5 a 7 días después en

hembras con un folículo dominante en crecimiento temprano luego de la atresia. Este sería el principio por el cual se agrega estrógenos a los programas de sincronización, ya que esta hormona induce la luteólisis en un mecanismo que envuelve la supresión de FSH. Cuando el estradiol es metabolizado, la FSH aparece en la circulación, y una nueva onda folicular emerge.

La administración de prostaglandina o uno de sus análogos hasta 2 días antes del retiro del progestágeno induce luteólisis prematura, lo que permite acortar los periodos de tratamientos a 7-9 días. Una modificación reciente es la administración de bajas dosis de estradiol benzoato (0.5-1.0 mg) 24 horas después del retiro del implante para aumentar la precisión de inicio del estro y mejorar la expresión conductual de estro, facilitando su detección. El estradiol exógeno podría también controlar de mejor forma la aparición de la onda de LH y el tiempo de ovulación asegurando así óptimamente el momento de la inseminación artificial. Como alternativa al estradiol, se puede administrar GnRH 24 horas después de la remoción del implante de progestágenos controlando aún mejor el momento de la onda de LH y el tiempo de la ovulación.

O'Rourke (1999) y Ryan (1995) señalan que estradiol valerato y 17 β - estradiol, administrados 10 a 24 horas después de quitar el implante producirían el mismo efecto benéfico controlando el momento de la ovulación.

El desarrollo de estos métodos de control de la fertilidad y eficiencia reproductiva hace necesaria su evaluación práctica en los sistemas de manejo de la novena y décima regiones para lograr su implementación y masificación, y mejorar los esquemas de tratamiento, optimizando así los sistemas de manejo reproductivo.

OBJETIVOS

Generales:

Determinación de la concentración de Progesterona sérica en vaquillas tratadas con implante de Progesterona (**Cuemate (Pfizer)**) para sincronización de celo

Específicos:

- ?? Caracterizar una curva de progesterona durante los días en que se mantuvo el implante (**Cuemate (Pfizer)**).
- ?? Determinar el porcentaje de preñez obtenidas mediante inseminación artificial en vaquillas overo negro y overo colorado de la décima región luego de sincronización del celo mediante tratamiento con implante comercial de progesterona intravaginal por 8 días.
- ?? Evaluar los resultados, en función de las tasas de preñez obtenidas, del protocolo propuesto para sincronización de celo mediante implante intravaginal de progesterona en combinación con estrógenos y prostaglandina.

MATERIAL Y MÉTODO

Se trabajó con 12 vaquillas overo doble propósito de dos años de edad promedio perteneciente al predio de don Renato Gática de la localidad de Lanco en la décima región, clínicamente sanas, nulíparas, de pesos entre los 300 y 400 Kg.

Luego de la inspección ginecológica para descartar preñez o enfermedad reproductiva se procedió a inyectar 5 mg de benzoato de estradiol intramuscular (día 0). Posteriormente se colocó los implantes **Cuemate (Pfizer)** consistentes en dos espirales de goma con vainas de silicona impregnada con 1,56 gramos de Progesterona (día 0), los que se mantuvieron durante 8 días, para ser retirados seguidos de la administración intramuscular de 3 ml de prostaglandina F2a (día 8). El día siguiente se inyectó nuevamente 5 mg de benzoato de estradiol intramuscularmente.

Considerando el día 0 el día en que se pusieron los implantes, se tomaron muestras de sangre mediante punción en la arteria coccígea y recolección en tubos de ensayo sin anticoagulante para la obtención de suero, los días 0, 2, 5, 8.

Cuarenta y ocho horas después de la última inyección de benzoato de estradiol se inseminó la totalidad de los animales detectándose celo solo en 9 de ellos (75%).

Método de análisis de las muestras de suero

La medición de progesterona plasmática (1 ml de muestra sanguínea) se realizó a través de un análisis de inmunoensayo utilizando el principio de electroquimioluminiscencia. Este tipo de análisis utiliza la capacidad del ruthenium para emitir luz. Si la luz es producida por una reacción química se le denomina

quimioluminiscencia y si esta reacción es iniciada por una estimulación eléctrica de las moléculas se le denomina electroquimioluminiscencia (ECL).

Esta técnica sigue el mismo principio del radioinmunoanálisis, donde ocurre una reacción convencional de antígeno y anticuerpo. Esta reacción toma lugar en una superficie de micropartículas paramagnéticas cubiertas con streptavidina. Básicamente, el ensayo consiste en una reacción competitiva utilizando un protocolo en dos pasos. Cincuenta microlitros de la muestra (suero o plasma heparinizado) se combinan con un hapteno que está marcado con ruthenium, después de una incubación de aproximadamente 9 minutos a 37 °C, un anticuerpo policlonal biotinilado y micropartículas paramagnéticas cubiertas con streptavidina son adicionados a la mixtura. Durante la incubación, el antígeno en la muestra compite con el antígeno conjugado con la enzima por un número limitado de sitios de unión del anticuerpo. Posteriormente, se realiza una segunda incubación por 9 minutos a 37 °C y la mixtura es colocada en una celdilla donde es capturada magnéticamente por un electrodo y bañada en un buffer que contiene TPA (tripropilamina). El flujo de líquido lava todas las moléculas no unidas (fase de separación de fracción libre y fracción unida). Se aplica un potencial electroquímico y la luminiscencia resultante (fotones de luz a 620 nm) se mide a 28 °C. La producción de fotones es inversamente proporcional a la concentración de antígeno específico en la muestra. Todo el procedimiento se realiza en el sistema Elecsys® (Boehringer Mannheim).

Análisis estadístico

Siendo este un estudio descriptivo, se procedió a realizar medidas de tendencia central y dispersión con el paquete estadístico Prism© (GraphPad software, 1996).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las muestras de suero para el día cero, junto con la colocación del implante van en un rango muy amplio, desde 1,31 ng/ml de progesterona (P₄) hasta 9,02 ng/ml, con un promedio de 4.50 ng/ml, desviación estándar (DE) de 2,82. El día dos de tratamiento, los animales mostraron todavía gran variación en sus concentraciones de P₄, desde 2,42 ng/ml hasta 9,14 ng/ml, con un promedio de 5,44 ng/ml y DE de 2,389.

En los días 5 y 8 de tratamiento, los animales mostraron concentraciones de P₄ mas uniformes, con un promedio de grupo de 0,28 ng/ml y 0,43 ng/ml, respectivamente (la DE observada en estos fue de 0,12 para el día 5 y 0,21 para el día 8).

Las concentraciones séricas de progesterona obtenidas se observan en la siguiente tabla.

MUESTRA (n° autocrotal)	DÍA 0	DÍA 2	DÍA 5	DÍA 8
103	1,45	2,85	0,42	0,46
105	3,11	3,05	0,28	0,36
129	1,91	3,19	0,21	0,323
136	3,56	4,58	0,2	0,21
237	8,27	7,53	0,33	0,80
254	7,8	5,29	0,24	0,57
258	1,31	2,42	0,03	0,03
412	7,29	9,14	0,51	0,58
428	4,29	5,21	0,36	0,36
422	9,02	7,55	0,29	0,62
434	2,49	5,45	0,24	0,57
454	3,56	9,02	0,21	0,25

Tabla 1: concentraciones séricas de progesterona obtenidas para los distintos muestreos expresadas en ng/ml.

En el siguiente gráfico se observan las concentraciones de progesterona obtenidas para cada muestreo expresado en ng/ml.

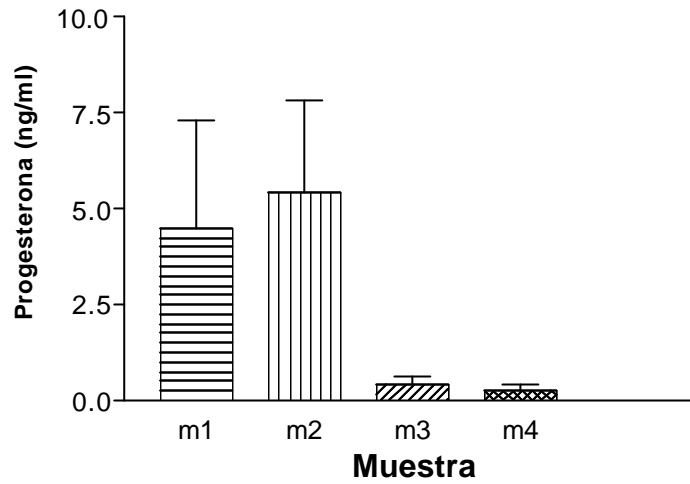


Grafico 1: concentraciones obtenidas de P₄ (ng/ml) en cuatro muestreos (**m1**: día 0; **m2**: día 2; **m3**: día 5; **m4**: día 8)

Es importante destacar que de todos los animales tratados el 100% quedó gestante, inclusive aquellos que no mostraron signos de celo.

DISCUSIÓN

Uno de los objetivos del presente estudio era determinar el comportamiento de la concentración plasmática de P_4 en animales en tratamiento de sincronización de celo mediante el uso de una combinación de estrógenos, progesterona y prostaglandina. De los resultados obtenidos se pueden observar promedios de P_4 como indica la tabla 2.

MUESTRA	DÍA 0	DÍA 2	DÍA 5	DÍA 8
PROMEDIO	4,5	5,44	0,43	0,28

Tabla 2: promedio de concentraciones plasmáticas para los distintos muestreos.

Sin embargo es importante destacar el grado de desviación estandar como medida de dispersión obtenida para los distintos días de muestreo.

Las concentraciones de P_4 fueron altamente variables en el día 0 en que se pusieron los implantes, debido principalmente a que los animales se encontraban en diferentes etapas del ciclo estral. Este dato es importante para los fines prácticos del estudio, ya que significa que sin necesidad de saber el momento del ciclo estral del rebaño, se puede llegar a sincronizar el celo con el esquema hormonal utilizado, como se demuestra en los resultados observados para el día 8 en que se retiraron los implantes.

Se observa para el día 2 que existe una disminución en la desviación estandar, coincidente con lo descrito por Peter y Ball (1995), en que explica que 3 a 5 días después de la inserción de un implante se alcanzan las concentraciones mas altas de progesterona, de 5 a 10 ng/ml. Luego, la concentración sérica de progesterona baja a niveles basales antes de aumento de LH y presentación del celo.

Bo et al., (2002) menciona que las tasas de preñez obtenidas con un método de combinación de estrógenos, progesterona y prostaglandinas son similares a las esperadas después de la detección de estro espontáneo. El método que los autores anteriormente mencionados describen consiste en la inserción de un dispositivo de progesterona y la administración de estradiol y un progestágeno sintético en el día 0, prostaglandina el momento de remover el dispositivo el día 7, 8, o 9 (para asegurar la luteolisis); y la posterior aplicación de dosis bajas de estradiol 24 horas después o GnRH/LH 48 a 54 horas después para sincronizar la ovulación. De los animales tratados, el 75% ovuló entre 72 y 84 horas después de la remoción del implante. Señala el autor además, una serie de experimentos realizados, diseñados para evaluar la posibilidad de aplicar los protocolos de estradiol/progesterona comúnmente usados para IA en tiempo fijo, en hembras receptoras en programas de transferencia de embriones sin detección de estro. En uno de estos experimentos, vacas de un grupo estradiol/progesterona fueron implantadas con CIDR-B (implante intravaginal de progesterona) en combinación con 2 mg de estradiol benzoato y 50 mg de progesterona por vía intramuscular el día 0, PGF_{2a} al momento de remover el implante el día 7, y 1 mg de estradiol benzoato el día 8. Se consideró arbitrariamente el día 9 como día de estro. El grupo control consistió en vacas tratadas con dos inyecciones de PGF_{2a} separadas por 14 días y observación de signos de celo por 5 días. Todas las hembras de ambos grupos que presentaron CL funcionales recibieron embriones congelados/descongelados por transferencia directa. Las tasas de preñez no variaron entre los grupos, pero es interesante destacar que los porcentajes de preñes/tratadas no superaron el 37%.

Si bien no es fácil comparar el método descrito para transferencia de embriones con el método realizado en el presente trabajo para IA, se puede concluir que como

método de campo, los resultados obtenidos en el presente trabajo en tasas de preñez (100%), superan con creces los obtenidos para un método similar con transferencia de embriones congelados/descongelados.

Asimismo, recientemente, Tribulo et al., (2000) compararon el método descrito anteriormente con un método de dos inyecciones de prostaglandina separadas por 14 días. Luego realizaron transferencia de embriones a todos los animales sin encontrar diferencias significativas en las tasas de preñez entre ambos tratamientos. Si bien es cierto no habría diferencia en cuanto al porcentaje de éxito de los tratamientos, el protocolo usado en este trabajo resulta en un procedimiento más práctico de realizar como método de campo, ya que la realización de transferencia de embriones requiere de tecnologías mas complejas y difíciles de aplicar masivamente en el medio local, además de los resultado de preñez/tratadas ya mencionados.

Bo y Adams (1995), señalan otro estudio en que compararon dos grupos de vaquillas. El grupo 1 consideró 34 vaquillas de carne, tratadas con un dispositivo intravaginal de progesterona por 7 días mas 100 mg de progesterona y 5 mg de 17- β estradiol vía intramuscular al momento de colocar el implante, y 500 μ g de cloprostenol al momento de removerlo, resultando en 75% de vaquillas ovulando (detectado ultrasonográficamente). El segundo grupo recibió como método de sincronización 2 inyecciones de PGF_{2a} separadas 11 días, con solo 40% de las vaquillas ovulando al mismo periodo de tiempo. No se midieron tasas de preñez.

Similares resultados fueron obtenidos en otros dos experimentos en vaquillas de carne tratadas con CIDR-B por 10 días y 17- β estradiol administrado un día después de la inserción del implante y 2 días después de colocado el implante.

De los resultados de estos estudios, calificados como satisfactorios por los autores, se puede desprender la conclusión que el experimento descrito en el presente

trabajo de tesis, es un método muy eficaz de sincronización de celo, ya que de los animales tratados e inseminados se obtuvo un 100% de preñez, con un 75% de los animales presentando signos externos evidentes de celo.

Otros estudios incluyen otras técnicas de sincronización, como el realizado por Baracaldo (2000), en el que el método consiste en la administración de 17- β estradiol luego de la ablación folicular guiada por ultrasonido transvaginal con resultados similares a la combinación de estrógenos/progesterona. Sin embargo, la realización de esta técnica, aparte de la complejidad en el trabajo de campo, manifiesta un discutible efecto sobre el bienestar animal, punto muy importante a considerar dadas las nuevas directrices de la producción animal enfrentada a los nuevos mercados.

Un interesante estudio realizó Martínez et al (2000), comparando a un grupo control al que se le implantó un dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR-B), con un grupo CIDR-B más 5 mg de 17- β estradiol y 100 mg de progesterona intramuscular (EP); un tercer grupo CIDR-B más 100 μ g im de GnRH (GnRH), y un cuarto grupo CIDR-B más ablación folicular guiada ultrasonográficamente de todos los folículos \geq 5 mm (FA). Todas las vaquillas recibieron una dosis luteolítica de PGF_{2a} (repetida 12 horas después), y el CIDR-B fue removido los días 9, 8, 6 y 5, en control, EP, GnRH, y FA respectivamente. Los porcentajes de celo presentados fueron 94%, 87%, 75% y 65% respectivamente; y los porcentajes de preñez fueron de 78% para el grupo control, 80% para el grupo estrógenos/progesterona, 69% para el grupo GnRH, y 65% para el grupo de ablación folicular. Estos datos demuestran nuevamente que el método más eficaz fue el implante de dispositivo intravaginal de progesterona más una combinación con estrógenos, coincidentemente con los resultados expuestos en este trabajo, aunque con una tasa de preñez menor en el trabajo de Martínez.

Sanzana et. Al (2001), compararon dos métodos de sincronización de celo e inseminación artificial a tiempo fijo. El tratamiento 1, trabajó con 35 hembras, consistía en una inyección intramuscular de un análogo sintético de GnRH, gonadorelin 150 mg por animal el día 0 y un análogo sintético de PGF₂? luprostiol el día 7. Treinta y dos horas más tarde se repitió la misma dosis por animal de gonadorelin, luego a las 24 Hrs. de esta última inyección se realizó la IA a tiempo fijo en cada una de las hembras tratadas. El tratamiento 2 , también con 35 hembras, consistió en que el día 0 se inyectó i.m. Norgestomet (3mg) con valerato de estradiol (5mg), y se aplicó un implante subcutáneo de Norgestomet (3mg); el día 8 se aplicó un análogo sintético de PGF₂? luprostiol im; el día 10 se retiró el implante subcutáneo de Norgestomet y se aplicó eCG im (500 UI de Folligon); a las 56 Hrs siguientes se realizó una IA a tiempo fijo a cada una de las hembras tratadas. El diagnóstico de preñez se realizó mediante ultrasonografía entre los 40 y 43 días pos IA, siendo la tasa de preñez para las vacas del tratamiento 1 un 50% y para las vaquillas de este mismo tratamiento un 57%. Las vacas del tratamiento 2 presentaron un 75% de preñez y las vaquillas un 73%. En el tratamiento 1 se observó un 0% de presentación de estro para las vacas y un 36% para las vaquillas; las vacas del tratamiento 2 tuvieron un 15% de presentación de estros y las vaquillas un 93%. Estos porcentajes de preñez son claramente menores que los obtenidos con el protocolo propuesto en este trabajo.

Si bien se hace necesario comparar los resultados obtenidos con un grupo control, se puede agregar que el comportamiento hormonal coincide con los estudios realizados por el fabricante en vacas ovariectomizadas, con concentraciones iniciales de 4.5 ng/ml el día 1 y declinando hasta 1.5 ng/ml el día 8. Agregan los autores que en vacas normales los valores son más altos, acercándose a los obtenidos en el presente trabajo.

Se puede concluir que en el presente trabajo se usó un protocolo de tratamiento de sincronización de estro que es sencillo, práctico, que implica un menor costo y por lo tanto se puede adaptar a la realidad de los productores de la zona.

CONCLUSIONES

- ?? Tras el uso del implante vaginal de progesterona (Cuemate (Pfizer)), los niveles séricos de progesterona de las vaquillas tratadas se acercaron a niveles basales a partir del día 5 de tratamiento, con una baja diferencia expresada como desviación estándar, para alcanzar la concentración mínima el día 8 del tratamiento.
- ?? El esquema de sincronización de celo en vaquillas propuesto brinda excelentes resultados en cuanto a preñez obtenidas sin detección de celo tras una única inseminación artificial.
- ?? El implante vaginal de progesterona (Cuemate (Pfizer)), es un dispositivo confiable para sincronizar celo en vaquillas mediante el uso combinado con estrógenos y prostaglandina sintética.
- ?? Se hace necesario analizar el comportamiento de este esquema frente a un grupo control sin uso de estrógenos para determinar los efectos de esta hormona en los resultados.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS, G. P. 1996. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 54, 17-32.
2. BARACALDO, M. I. et al. 2000. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology* 53:1239-1250.
3. BO, G. A. et al. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43-1: 31-40.
4. BO, G. A. et al. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
5. BO, G. A. et al. 2001. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal device and transferred without estrus detection. *Theriogenology* 55:357 abstr.
6. COLE, H. H.; CUPPS, P. T. Reproducción de los animales domésticos. Editorial Acribia. España.
7. CORNER, G. W.; ALLEN, W. M. (1929). *American journal physiology*. 88:326
8. CUPPS, PERRY T. 1991. Reproduction in domestic animals. 4º Ed. Academic Press, Inc. USA.
9. DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic animal endocrinology* 23:211-228.
10. HAFEZ, E. S. E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales. 6ª edición. McGraw-Hill Interamericana. México.

11. ILLERA, MARIANO M., 1994. Reproducción de los animales domésticos. Editorial Aedos. España.
12. LAFRI, M. et al. 2002. Influence of CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology* 58:1141-1151.
13. LAVERDIÈRE, G.; et al. 1995. Estrus synchronization efficiency of PGF_{2a} injection in Shorthorn-Hereford and crossbred Charolais cattle not having exhibited estrus at 4 or 7 days prior to treatment. *Theriogenology* 43-5: 899-911.
14. MARTINEZ, F. M. et al. 2000. Induction of follicular wave emergent for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54:757-769.
15. MANIKKAM, M; RAJAMAHENDRA, R. 1997. Progesterone-induced atresia of the proestrous dominant follicle in the bovine ovary: changes in diameter, insulin-like growth factor system, aromatase activity, esteroid hormones, and apoptotic index. *Biology of reproduction* 57:580-587.
16. O'ROURKE, M.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. 1999. Effect of duration of progesterone synchronization treatment, with or without oestradiol benzoate, on oestrus response and fertility in beef heifers. *Irish journal agric. food* 38:289 (abstract).
17. PERRY, CUPPS. 1991. Reproduction in domestic animals. 4^o Edition. Academic Press, inc. USA.
18. PETERS, A. R.; BALL, P. J. H. 1995. Reproduction in cattle. 2^o Edition. Blackwell Science Ltda.
19. RAHE. 1980. En Reproducción de los animales domésticos. ILLERA, M., 1994. Editorial Aedos. España.

20. RYAN, D. P.; SNIJDERS, S.; AARTS, A.; O'FARRELL, K. J. 1995. Effect of oestradiol subsequent to induced luteólisis on the development of the ovulatory follicle and interval to estrus and ovulation. *Theriogenology* 43:310 (abstract).
21. SANZANA, M; RATTO, M; MATAMOROS, R. 2001. Sincronización de ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo en vacas de cría con ternero al pie y en vaquillas de primer encaste. Facultad de acuicultura y ciencias veterinarias. Temuco.
22. SCHAMS, D; BERISHA, B. 2002. Steroids as local regulators of ovarian activity in domestic animals. *Domestic animal endocrinology* 23:53-65.
23. STAIGMILLER, R. B. et al. 1995. The effect of estrus synchronization scheme, injection protocol and large ovarian follicle on response to superovulation in beef heifers. *Theriogenology* 43-4: 823-834.
24. TANAKA, Y. et al. 1995. Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with Norgestomet implants. *Theriogenology* 43-6: 1077-1086.
25. TRIBULO, H. et al. 1995. Estrus synchronization in cattle with estradiol-17 β vaginal devices. *Theriogenology* 47:372 abstr.
26. TRIBULO, H. et al. 2000. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14th *Int. Congr. Anim. Reprod. Stockholm*. Sweden. 2:115 abstr.
27. YELICH, J.V. et al. 1995. Synchronization of estrus in suckled postpartum beef cows with melengestrol acetate and PGF_{2a}. *Theriogenology* 43:389-400.