

**CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA Y TASA DE PREÑEZ  
EN VACAS LECHERAS EN LACTANCIA TRATADAS CON DISPOSITIVOS  
INTRAVAGINALES NUEVOS O DE SEGUNDO USO EN LA CUENCA  
LECHERA DE CHIRIQUÍ - PANAMÁ.**

**Efraín Renee Quintero Chanis**

Tesis

Para obtener el Grado Académico de  
Magister en Reproducción Animal

Universidad Nacional de Córdoba  
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

**CÓRDOBA, 2017**

**CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA Y TASA DE PREÑEZ  
EN VACAS LECHERAS EN LACTANCIA TRATADAS CON DISPOSITIVOS  
INTRAVAGINALES NUEVOS O DE SEGUNDO USO EN LA CUENCA  
LECHERA DE CHIRIQUÍ - PANAMÁ.**

**Efraín Renee Quintero Chanis**

**Comisión Asesora de Tesis**

**Director: M.V. MsSc. Jorge Carcedo** -----

**Co-Director: Dr. Humberto Tribulo** -----

**Tribunal Examinador de Tesis**

1 Dra. Mariana Caccia -----

2 Dr. Andrés Tribulo -----

3 Dr. Santiago Callejas -----

**Presentación formal académica**

2017

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco a Dios infinitamente por permitirme culminar con éxito una de mis metas impuestas en la vida.

A mi director de tesis Jorge Carcedo, Co-director Humberto Tribulo y al Dr. Gabriel Bó, que desde un principio confiaron en mí, apoyándome, enseñándome y compartiendo sus conocimientos desinteresadamente.

A mis Padres Neysa Chanis y Efrain Quintero, a mi hija Mariana Valentina, a mis abuelos y hermanos por ser mi mayor motivo de inspiración y ser quienes más me apoyaron en el desarrollo de este proyecto de investigación junto con mi gran amigo Joseph Grajales.

A los integrantes del Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC) tanto profesores y auxiliares, por abrirme las puertas de esta prestigiosa institución y contribuir en gran manera con mi formación personal, intelectual y profesional.

## RESUMEN

En Panamá, actualmente se consumen 300 millones de litros de leche, sin embargo, el producto local sólo cubre un poco más de la mitad de esta cifra: 160 millones de litros. El resto del consumo se cubre con importaciones. Uno de los factores más influyentes sobre la productividad y eficiencia de las lecherías es el manejo reproductivo. Básicamente, la tasa de preñez de las vacas en lactancia es baja debido a una escasa eficiencia en la detección de celos y una baja fertilidad de las vacas. Existen una gran cantidad de tratamientos disponibles para la sincronización de celos, básicamente en todos ellos se incluye la utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona (P4). Sin embargo, la adopción de la técnica de IATF por muchos productores está condicionada por el costo del tratamiento por lo que la utilización de dispositivos con menos concentración de P4 y/o la reutilización de estos, significa una reducción en el costo de sincronización.

Esta tesis tuvo como objetivo evaluar la concentración plasmática de progesterona, dinámica folicular y tasas de preñez en vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales nuevos o de segundo uso en la cuenca lechera de Chiriquí - Panamá. Los resultados rechazan la hipótesis de que los dispositivos intravaginales de 1 y 1,38 g de progesterona, nuevos o de segundo uso mantienen similares concentraciones plasmáticas de progesterona y dinámica folicular en vacas lecheras en lactancia, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las tasas de preñez ( $P>0.05$ ), lo cual puede estar relacionado con la condición ovárica de las vacas sincronizadas. Es factible utilizar dispositivos nuevos de 1 y 1,38 g de P4 y los dispositivos de segundo uso de 1,38 g en vacas en este biotipo indistintamente de su condición ovárica, sin embargo, para el caso de los dispositivos de 1 g usados, en vacas sin presencia de cuerpo lúteo no mantienen concentraciones por sobre 1 ng/ml de progesterona plasmática durante el tratamiento.

**Palabras claves:** Vacas, Concentración, Progesterona, Dinámica folicular, Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.

## ABSTRACT

In Panama, currently 300 million liters of milk are consumed nationally per year, however, the national production, 160 million liters annually, only covers a little more than half of this figure. The rest of the consumption is covered with imports. Reproductive management is one of the most important factors influencing productivity of dairy operations. Currently, the fertility of lactating dairy cows is low due to poor efficiency in heat detection and low fertility of cows. There are many treatment options available for heat synchronization and almost all of them include the use of an intravaginal device with progesterone (P4). However, the adoption of the Fixed Time Artificial Insemination, technique by many producers is limited by the cost of the treatment. Options for reducing the cost of these devices include the use of devices with a lower concentration of P4, reuse of the devices, or a combination of these two options.

The aim of this thesis was to evaluate the plasma concentration of progesterone, follicular dynamics and pregnancy rates in lactating dairy cows treated with new or second-use intravaginal devices in the Chiriqui - Panama dairy basin. The results lead to the rejection of the hypothesis that intravaginal devices of 1 and 1.38 g of progesterone, new or second use maintain similar plasma concentrations of progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows. However, no significant differences were found in pregnancy rates ( $P > 0.05$ ), which may be related to the ovarian condition of synchronized cows. It is feasible to use new devices of 1 and 1.38 g of P4 and devices of second use of 1.38 g in this biotype of cows regardless of their ovarian condition. Therefore, in the case of the 1 g devices used in cows with no corpus luteum, concentrations above 1 ng / ml of plasma progesterone during treatment were not maintained.

**Key words:** Cows, Concentration, Progesterone, follicular dynamics, Fixed Time Artificial Insemination.

## I. TABLA DE CONTENIDOS.

I. TABLA DE CONTENIDOS.....	vi
CAPITULO 1.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
Situación actual de los protocolos de sincronización de la ovulación para la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).....	2
Protocolos a base de progesterona y estradiol.....	4
Parámetros de producción de leche, fertilidad y expresión de estro.....	5
Efecto de la dominancia folicular en fertilidad.....	6
Dinámica folicular.....	7
HIPOTESIS.....	11
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
CAPITULO 2.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Animales, instalaciones y zona geoclimática.....	13
MATERIALES UTILIZADOS.....	13
EXPERIMENTO 1.....	14
Análisis de la concentración de progesterona.....	14
Prueba de validación por ELISA.....	16
EXPERIMENTO 2.....	16
Análisis de la dinámica folicular en vacas con baja condición corporal.....	16
EXPERIMENTO 3.....	17
Dinámica folicular y momento ovulatorio.....	17
EXPERIMENTO 4.....	19
Tasa de preñez en vacas Holstein en producción tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso.....	19
ULTRASONOGRAFÍA.....	20
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	21
CAPÍTULO 3.....	22
RESULTADOS.....	22
EXPERIMENTO 1.....	22

Análisis de la concentración de progesterona.....	22
Prueba de validación por ELISA .....	24
EXPERIMENTO 2. ....	25
Análisis de características foliculares en vacas con baja condición corporal. ....	25
EXPERIMENTO 3 .....	26
Dinámica folicular y momento ovulatorio.....	26
EXPERIMENTO 4. ....	28
Tasa de concepción en vacas Holstein en producción tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso. ....	28
CAPÍTULO 4.....	30
DISCUSIÓN .....	30
CAPÍTULO 5.....	38
CONCLUSIONES .....	39
CAPÍTULO 6.....	41
BIBLIOGRAFÍA .....	41

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Número de vacas inseminadas a tiempo fijo según fecha de IATF.....	19
Tabla 3.1. Medias ajustadas para concentración de progesterona según día del ciclo Estral (celo o diestro) .....	24
Tabla 3.2. Respuesta ovárica (Media $\pm$ E.E.) en vacas tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso.....	27
Tabla 3.3. Horas de ovulación post remoción de dispositivo según uso de dispositivos....	27
Tabla 3.4. Tasa de preñez según días en producción.....	29
Tabla 3.5. Tasa de preñez según estructura ovárica y uso del dispositivo.....	29
Tabla 3.6. Tasa de preñez según época del año (lluviosa vs seca).....	29

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Esquema de colecta de sangre para análisis de progesterona.....	15
Figura 2.2. Esquema de seguimiento folicular mediante ultrasonografía Experimento 2.....	17
Figura 2.3. Esquema de seguimiento folicular mediante ultrasonografía Experimento 3.	18
Figura 2.4. Esquema de protocolo de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo Experimento 4.....	20
Figura 3.1. Concentración plasmática de progesterona según tipo dispositivo.....	22
Figura 3.2. Concentración de progesterona según usos de los dispositivos (nuevos vs usados).....	23
Figura 3.3. Concentración de progesterona según tipo de dispositivos (CIDR o SINCROGEST).....	24
Figura 3.4. Diámetros foliculares según día de tratamiento en vacas lecheras en producción con baja condición corporal (2,5; escala 1-5).....	25
Figura 3.5. Distribución de las ovulaciones luego de la remoción de los dispositivos (h).	28

## LISTA DE ABREVIATURAS

BE.....	Benzoato de estradiol
CC.....	Condición Corporal
CL.....	Cuerpo Lúteo
CPE.....	Cipionato de estradiol
d.....	Días
DPP.....	Días post parto
DF.....	Dinámica Folicular
E2.....	Estrógeno
EE.....	Error estándar
eCG.....	Gonadotrofina coriónica equina
FD.....	Folículo Dominante
g.....	Gramos
GnRH.....	Hormona liberadora de gonadotrofinas
h.....	Horas
IA.....	Inseminación Artificial
IATF.....	Inseminación Artificial a Tiempo Fijo
IM.....	Intramuscular
Kg.....	Kilogramos
L.....	Litros
msnm.....	metros sobre el nivel del mar
MHz.....	Mega Hertz
mg.....	Miligramos
mm.....	Milímetros
ml.....	Mililitros
MLGM.....	Modelos lineales generales y mixtos
MS.....	Muestreo de sangre
ng.....	Nanogramos
P.....	Probabilidad

P4.....	Progesterona
PGF <sub>2</sub> .....	Prostaglandina
RPM.....	Revoluciones por minuto
US.....	Ultrasonografías
UI.....	Unidades Internacionales

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

La situación económica mundial requiere de prácticas de manejo eficaces para mejorar la rentabilidad de los establecimientos de producción de leche. Aunque los sistemas de manejo de los rodeos lecheros comerciales difieren en distintas partes del mundo, el objetivo reproductivo principal es preñar a las vacas lecheras lo más rápido posible después del parto (Bó *et al.*, 2002).

En Panamá, actualmente se consumen 300 millones de litros de leche, sin embargo, el producto local sólo cubre un poco más de la mitad de esta cifra: 160 millones de litros. El resto del consumo se cubre con importaciones. Sin embargo, la Asociación Nacional de Ganaderos (ANAGAN), señala que los esfuerzos del último año van encaminados a cerrar esta brecha. El gremio reveló que entre enero y abril del 2010 se produjeron en el campo 51.725.111 litros de leche, 11,7 % o 5,4 millones de litros más que en el mismo periodo 2009 (Días, 2011).

El sub sector Lechero nacional en los últimos años ha superado las expectativas económicas en la comercialización y en la exportación de productos lácteos, además de haber mostrado significativamente aspectos de mejoría en los niveles tecnológicos de un importante porcentaje de las explotaciones lecheras. Sin embargo, en términos generales, todavía no se ha aprovechado su potencial, las ventajas comparativas en materia de calidad de los productos, el estado sanitario del hato y la posición geográfica del país. Las explotaciones lecheras, requieren que se realicen urgentes cambios en las estructuras productivas de este importante rubro para mejorar los niveles producción, productividad y competitividad (MIDA, 2011).

Dentro de este contexto, uno de los factores más influyentes sobre la productividad y eficiencia de las lecherías es el manejo reproductivo, el cual está demostrado que en ganaderías de leche la fertilidad de las vacas en lactancia es baja debido fundamentalmente a una escasa eficiencia en la detección de celos y una baja fertilidad de las vacas. Esto

efectivamente repercute sobre los indicadores reproductivos (Bó *et al.*, 2009).

### **Situación actual de los protocolos de sincronización de la ovulación para la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)**

Existen en la actualidad una gran cantidad de tratamientos disponibles para la sincronización de celos, como herramienta para mejorar los índices reproductivos, con concentraciones de progesterona (P4) que oscilan entre 0,5 a 1,9 gr, tales como el PRID (Sanofi), CIDR-B (Pfizer), Triu-B (Biogénesis, Argentina), Cue-Mate (Bioniche), DIB (Sintex, Argentina), Sincrogest (Ourofino, Brasil), (Bo *et al.*, 2009). Básicamente en todos ellos se incluye la utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona P4, para mantener altos niveles circulantes de esta hormona durante su permanencia en la vagina, logrando así controlar el momento de la ovulación (Bó *et al.*, 2002).

En Latinoamérica, Australia y otros países, el estradiol (estradiol-17 o benzoato de estradiol) y los dispositivos intravaginales con progesterona son las principales hormonas utilizadas para manipular y controlar el ciclo estral tanto en programas de IATF (González *et al.*, 2009; Bó *et al.*, 2009; Bó y Callejas, 2008; Callejas, 2007; Callejas *et al.*, 2007a; Callejas *et al.*, 2007b; Balla *et al.*, 2005; Avilés, 2005; Avilés, 2005a; Avilés, 2005b); Bó *et al.*, 2002), así como también para la sincronización de receptoras de embriones a tiempo fijo (Bó *et al.*, 2002) y donantes de embriones en protocolos de superovulación (Baruselli *et al.*, 2006).

Sin embargo, hablar de vacas en lactancia, con altos niveles de producción conlleva algunos problemas fisiológicos que intervienen en la reproducción de las vacas lactantes. Las interacciones entre la nutrición, sistemas hormonales (Chagas *et al.*, 2007; Lucy 2001; Sartori *et al.*, 2010), y el desequilibrio en las concentraciones de P4, como consecuencia de la alta tasa de metabolización hepática de hormonas esteroidales, debido al alto flujo sanguíneo al hígado y en consecuencia alto metabolismo de estrógeno y progesterona, con bajas concentraciones de progesterona en sangre posteriormente (Sangsritavong *et al.*, 2002). Todas estas situaciones mencionadas conllevan a cambios en la reproducción como tasa de concepción reducida y pérdida embrionaria incrementada (Wiltbank *et al.*, 2013).

Bajo este concepto, mantener altos niveles de P4 previo al servicio puede resultar en una mejora sustancial de la fertilidad en comparación con baja concentración de P4 en estas vacas (Wiltbank *et al.*, 2013; Bisinotto *et al.*, 2010). Cunha *et al.* 2008, probaron los efectos de la elevación de P4 sobre la fertilidad a IATF durante el programa Doble Ovsynch, en donde las vacas con P4 baja, antes de la IA, tenían fertilidad mucho más baja en comparación con las vacas con P4 alta durante el protocolo Ovsynch (37,1% vs 51,0% respectivamente).

Por otro lado, la reutilización de los dispositivos intravaginales con P4, puede ser cuestionable al utilizarlos en vacas de alta producción, a pesar de esto, existen investigaciones que reportan resultados similares en la utilización de dispositivos nuevos pero con concentraciones diferentes, de 1 y 0,5 g de P4 (Avilez *et al.*, 2005a; Vater *et al.*, 2007b). Bó *et al.* 2009, evaluaron niveles plasmáticos de P4 en vacas Holstein cíclicas y en lactancia, que recibieron dos inyecciones de PGF<sub>2</sub> (150 µg D (+) cloprostenol, Bioprost-D, Biotay S.A., Argentina) con 14 días de intervalo y fueron asignadas de manera aleatoria a uno de los cuatro grupos y se les aplicaron dispositivos intravaginales de la siguiente manera: Cue-Mate (1,56 g de progesterona; Bioniche Animal Health Canadá Inc; n=10), DIB (1 g de progesterona; Syntex SA, Argentina; n=10), CIDR con 1,9 g de progesterona (Pfizer Salud Animal S.A., Argentina; n=10), o CIDR con 1,38 g de progesterona (Pfizer Animal Health, USA; n=10). Todos los dispositivos se colocaron 24 h después de la segunda PGF<sub>2</sub> y se dejaron por 31 días. Cuando se evaluaron los datos desde la inserción hasta el Día 7, las concentraciones de progesterona en plasma no difirieron entre los grupos. Sin embargo, las concentraciones de progesterona desde la inserción hasta el Día 21 fueron mayores (P<0,03) en las vacas con 1,9 g CIDR (2,1±0,1 ng/ml) que en las vacas con DIB (1,6±0,1 ng/ml) o 1,38 g CIDR (1,6±0,1 ng/ml), y los niveles fueron intermedios y no diferentes, con Cue-Mate (1,7±0,1 ng/ml). Se arribó a la conclusión de que los perfiles de progesterona en las vacas Holstein en lactancia no presentaron diferencias entre los diferentes dispositivos de liberación de progesterona en los primeros 7 días de su colocación

Trabajos realizados en vaquillonas de 15 meses sugieren la utilización de dispositivos de segundo uso tendiendo incluso a mejorar el porcentaje de preñez (Váter *et al.*, 2007a).

## Protocolos a base de progesterona y estradiol

Los investigadores han observado a lo largo de los años que controlando la fase folicular junto a la fase lútea se obtiene sincronía del celo y de la ovulación con fertilidad normal (Gregory *et al.*, 2009). La fase lútea es controlada con la P4, y el desarrollo folicular e inducción de la ovulación es controlado por el estradiol o la GnRH (Hafez y Hafez, 2000); a partir de esta premisa es que los protocolos para el tratamiento del anestro se basan en la combinación de estas hormonas.

Actualmente según (Bó *et al.*, 2009), los protocolos en los cuales se utilizan progesterona y estradiol consisten básicamente en la inserción de un dispositivo liberador de progesterona, comúnmente asociado a un tratamiento intramuscular con estrógeno (E2) en el día 0, por lo general se utiliza Benzoato de Estradiol por su eficiencia y por el costo. Este tratamiento promueve la atresia de los folículos en crecimiento e induce la emergencia de una nueva onda de crecimiento folicular entre  $2,5 \pm 0,2$  (SaFilho *et al.*, 2011) y  $4,3 \pm 0,2$  días (Bó *et al.*, 1995) después del tratamiento. El mecanismo por el cual el E2 asociado a P4 suprime el crecimiento folicular parece hacer un bloqueo sobre la liberación de FSH (Bó *et al.*, 1991; 1993; 2002; O'rourke *et al.*, 2000) y de LH (Burke *et al.*, 1996), de esta manera se interrumpe el estímulo para el crecimiento folicular inicial. Al momento en que se retira el dispositivo de P4 (en el día 7, 8 o 9), la administración de un análogo de PGF se torna necesaria para garantizar la luteólisis y de esta forma reducir los niveles sanguíneos de P4. Luego se pueden administrar un inductor de crecimiento folicular como por ejemplo la Gonadotropina coriónica equina (eCG) y un inductor de la ovulación para sincronizar la ovulación sin la necesidad de otro manejo como tal.

Está claro que el tratamiento de vacas con eCG se ha tornado en una práctica muy efectiva para aumentar el desenvolvimiento folicular y la tasa de preñez en vacas lecheras de alta producción con bajo score de condición corporal (Souza *et al.*, 2009). Con respecto al inductor de la ovulación, actualmente se utilizan dosis de 0,5 a 1,0 mg de Cipionato de Estradiol (ECP) tal como lo señalan (Bó *et al.*, 2013; Torres-Júnior *et al.*, 2014), con lo que se posibilita realizar la IATF de 48 a 56 horas después de retirar el dispositivo de P4. Existen otros inductores de la ovulación como BE y la GnRH que también pueden ser utilizados, sin

embargo, esto implica manejos extras.

Los niveles séricos de E2 (endógeno y exógeno) durante y en el periodo de proestro ejercen un papel fundamental sobre el transporte, la viabilidad espermática y la modulación del útero para la fase lútea en el diestro subsecuentemente (Hawk, 1983; Pohler *et al.*, 2012). De acuerdo a los señalamientos de Davoodi *et al.*, (2016), el E2 es importante para inducir la síntesis de receptores de P4 y la reducción de la síntesis de receptores de oxitocina, evitando de esta forma la luteólisis prematura y la ocurrencia de un ciclo lútea de fase corta (Mann y Lamming, 2000; Robinson *et al.*, 2001).

### **Parámetros de producción de leche, fertilidad y expresión de estro.**

Una de las preguntas centrales en referencia al manejo reproductivo de rodeos lecheros es si actualmente existe un antagonismo entre alta producción y fertilidad, y como consecuencia de esta situación, se ha producido una disminución real en la fertilidad en las vacas lecheras de alta producción durante los últimos 30 años (LeBlanc, 2010). Son varios los autores que sostienen que las vacas en lactación en sistemas estabulados con producciones superiores a 10000 kg de leche (Butler, 2003; Lucy *et al.*, 2001; Thatcher *et al.*, 2006), y en sistemas pastoriles con producciones superiores a los 7500 kg (Diskin *et al.*, 2006; Diskin y Morris, 2008), son vacas que poseen algún grado de subfertilidad. Sin embargo, otros autores como LeBlanc (2010) y Walsh *et al.*, (2011), sugieren que no necesariamente existe una disminución en la fertilidad debido a la alta producción, sino que este fenómeno se debe a una asociación temporal que no necesariamente implica una relación causa efecto. Estos autores explican que la disminución de la fertilidad se debe a que las vacas de alta producción son inseminadas una mayor cantidad de veces y estas permanecen mayor tiempo en el tambo, mientras que las de menor producción son refugadas antes. En consecuencia, parte del problema radica según (LeBlanc 2010), en que la mayoría de las medidas de eficiencia reproductiva que se utilizan habitualmente como lo son el intervalo entre partos, tasa de concepción y tasa de no retorno son incompletas o están sesgadas. En los últimos años varias investigaciones orientadas a dar una respuesta a este comportamiento, han demostrado que no existe una asociación entre alta producción y reducción de la fertilidad (Eickeret *et al.*, 1996; Fetrow y Eicker, 2003; de la Sota *et al.*, 2011).

Estos trabajos demuestran que a pesar de que la reproducción está negativamente correlacionada con la producción en el tiempo, no necesariamente las vacas de mayor producción dentro de una cohorte son las que tienen peor reproducción; así lo reportan los estudios realizados por Morton, (2006) y de la Sota *et al.*, (2011).

Actualmente existe gran cantidad de evidencia que demuestra que las vacas de alta producción sufren importantes desafíos para ser detectadas en celo, inseminadas y luego mantener la preñez (López *et al.*, 2004; Wiltbank *et al.*, 2005; Walsh *et al.*, 2011). Definitivamente la detección de celos en vacas lecheras confinadas es un desafío a medida que la producción de leche aumenta. En un estudio de campo realizado por López-Gatius *et al.*, 2005, concluyeron que los dos principales factores que afectan el aumento de la actividad estral fueron el número de lactaciones y la producción de leche. Con respecto al aumento de actividad, la misma fue correlacionada positivamente con la fertilidad post inseminación artificial. Esta correlación fue posteriormente corroborada por un estudio reciente llevado a cabo por Madureira *et al.*, (2015). En este estudio también se identificó una serie de factores de riesgo asociados a la intensidad en que presenta el estro, donde vacas multíparas expresaban menor pico y duración de actividad que las novillas primíparas.

### **Efecto de la dominancia folicular en fertilidad**

Las vacas lecheras de alta producción en lactación presentan mayor incidencia de crecimiento folicular en dos ondas durante el ciclo estral si se compara con novillas en crecimiento, que tienden a presentar tres ondas foliculares (Savio *et al.* 1988). Básicamente el intervalo entre la emergencia del folículo durante el ciclo estral es aproximadamente 3,5 días más largo en vacas con dos ondas foliculares con respecto con aquellas que presentan tres ondas foliculares (Bleach *et al.*, 2004). Este autor señala que vacas que fueron inseminadas después de la detección de celo tuvieron una relación lineal entre la tasa de preñez y el intervalo de la emergencia de la onda de crecimiento folicular. Esta reducción en la fertilidad después de largos periodos de dominancia folicular fue asociada con la consecuente reducción de la calidad del ovocito (Revah y Butler, 1996) y el desenvolvimiento embrionario (Ahmad *et al.*, 1995).

En un estudio realizado por Cerri *et al.*, 2009, evaluaron el efecto de la dominancia folicular sobre la fertilidad y calidad embrionaria en vacas lactantes de alta producción y se concluyó que al reducir el período de dominancia folicular se optimiza la respuesta a la inyección inicial de GnRH durante el protocolo de sincronización, mejorando el desarrollo embrionario temprano. Se observó una reducción en la calidad del embrión, incluso cuando el periodo dominante se amplió en 1,5 a 2 días.

### **Dinámica folicular**

El crecimiento, desarrollo y maduración de los folículos ováricos es un proceso fundamental para la alta eficiencia reproductiva en los animales de granja (Forde *et al.*, 2011). Durante el desarrollo fetal se establece un número fijo de folículos primordiales, el crecimiento de un folículo ovárico toma un período de 3-4 meses y se categoriza como estadio gonadotropina independiente y gonadotropina dependiente (Webb *et al.*, 2004).

Las opiniones científicas sobre la foliculogénesis en el bovino han variado a través de la historia de la investigación (Adams y Pierson, 1995). A Rajakoski (1960), se le ha acreditado la proposición inicial de la teoría de las ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral bovino. Basado en la evaluación anatómica e histológica de ovarios obtenidos de vacas sacrificadas en días conocidos del ciclo estral, concluyó que ocurrían dos ondas de crecimiento de folículos antrales (5 mm de diámetro). No obstante resultados de trabajos histológicos posteriores realizados por otros autores refutaron el fenómeno de las ondas y apoyaron la noción de que el crecimiento folicular era continuo e independiente de las fases del ciclo. Si bien algunos autores apoyan la teoría de que los folículos se desarrollan en periodos u ondas, la mayoría de los investigadores estaban de acuerdo con la noción de que el crecimiento folicular era continuo e independiente de las fases del ciclo. La confusión y controversia continuó hasta la segunda mitad de la década del 80, en que trabajos utilizando ultrasonografía de tiempo real documentaron convincentemente que el crecimiento folicular en el bovino ocurre simulando ondas (Sirois y Fortune, 1988; Ginther *et al.*, 1989; Savio *et al.*, 1990; Adams *et al.*, 1992 y Wiltbank *et al.*, 1996). Desde ese momento se ha realizado un importante número de trabajos que demuestran que el patrón de ondas se repite en casi todos los estadios de la vida de la vaca, incluyendo la preñez (Ginther *et al.*, 1996) y el

periodo postparto (Savio *et al.*, 1990). En estudios de vaquillonas prepúberes (Evans *et al.*, 1994), la composición de las ondas foliculares no ovulatorias fueron muy similares a la de animales maduros y se concluyó que el fenómeno de emergencia de ondas se establece temprano, en el periodo prepuberal (alrededor de las dos semanas de vida).

Se definió a la onda folicular, como la activación y crecimiento simultáneo de un grupo de folículos terciarios que emergen, continuando uno de ellos su crecimiento y diferenciación (folículo dominante) mientras que los otros (folículos subordinados), se atresian (Gigli *et al.*, 2006). La emergencia del grupo o cohorte de pequeños folículos antrales inicia justo antes del día de la ovulación y durante los próximos días, el folículo que se hace dominante, suprime el crecimiento de una nueva onda folicular. Mientras que el folículo dominante continúa aumentando de tamaño, el crecimiento de los restantes folículos de la cohorte cesa o se hace lento y estos folículos subordinados finalmente sufren atresia (Fricke, 2001).

Autores como Goodman y Hodgen (1983), sugirieron el uso de los términos reclutamiento, selección y dominancia para describir el desarrollo folicular durante el ciclo estral. La fase de reclutamiento está dada por el desarrollo de un cohorte de folículos que comienzan a madurar bajo un aporte de gonadotrofinas, que le permiten avanzar hacia la ovulación. La fase de selección, es el proceso por el cual un folículo evade la atresia con la posibilidad de llegar a la ovulación. La fase de dominancia, es el proceso por el cual el folículo seleccionado ejerce un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos (Savio *et al.* 1988 y Sunderland *et al.* 1994). Una fase de atresia folicular presente solo en los folículos no ovulatorios fue propuesta por Sunderland *et al.*, (1994), fase que también representa la desaparición del folículo dominante que no ovula.

Durante el reclutamiento, un rango de 8 a 41 folículos (promedio de 24), con un diámetro folicular que oscila entre dos y cuatro milímetros, inician su crecimiento (Fernández, 2003; Lucy *et al.*, 1992), durante dos, tres y cuatro días crecen hasta alcanzar un diámetro de seis a ocho (Quintela *et al.*, 2006) o hasta nueve milímetros (Lucy *et al.*, 1992), que es cuando inicia la fase de selección (Quintela *et al.*, 2006; Bo *et al.*, 2002; Lucy *et al.*, 1992). El folículo dominante alcanza un diámetro de aproximadamente 10 a 15 mm

y permanece dominante por un período de cinco a siete días, hasta que se hace atrésico o se vuelve pre-ovulatorio (Díaz, 1999; Lucy *et al.*, 1992; Adams *et al.*, 1992). En cuanto al diámetro del folículo ovulatorio, algunos autores indican que puede medir entre 11 y 16 mm de diámetro (DesCôteaux, 2010), sin embargo Bó y Caccia (2000), indican que pueden oscilar entre 15 y 17 milímetros de diámetro.

Si bien se ha descrito que en 95% de los ciclos estrales hay dos o tres ondas de desarrollo folicular, hay diferencias entre los estudios en cuanto a la preponderancia de animales con dos o tres ondas. Algunos investigadores han observado una preponderancia de ciclos estrales de dos ondas (Ginther *et al.*, 1989), mientras que otros indican una preeminencia de ciclos de tres ondas (Sirois y Fortune, 1988 y Bo *et al.*, 1993) y otros han observado una distribución igual (Adams y Pierson, 1995). La primera onda de desarrollo folicular se detecta el día de la ovulación; la segunda onda comenzará el día nueve o diez para los ciclos de dos ondas y los días ocho o nueve en los ciclos de tres ondas. En los ciclos de tres ondas la tercera onda emerge en los días 15 o 16 (Bo *et al.*, 2002). En cuanto a los días del ciclo en que emergen las ondas de crecimiento folicular, existen una gran variación individual principalmente en la segunda onda y esta puede comenzar más temprano a los 6 días o más tarde a los 12 días (Bo y Mapletoft, 1999). En los casos que se han encontrado animales con cuatro ondas, la cuarta onda comienza el día 20 o 21 y este ciclo tendrá una duración mayor a 21 días (Bo *et al.*, 2002).

Los primeros reportes utilizando ultrasonido indicaron que el número de ondas foliculares que ocurren en vaquillas cíclicas, varía entre animales. Algunas vaquillas exhiben dos mientras que otras exhiben tres ondas sucesivas de crecimiento folicular durante cada ciclo estral (Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1988; Ginther *et al.*, 1989; Taylor y Rajamahendran, 1991). En general las vacas lecheras en lactancia, primíparas y multíparas tienden con mayor frecuencia a exhibir ciclos de dos ondas, mientras que las vaquillas lecheras nulíparas tienden con mayor frecuencia a exhibir ciclos de tres ondas. Sin embargo, un animal que presente un ciclo de dos ondas puede exhibir tres ondas durante el subsecuente ciclo y viceversa, pero la frecuencia con la cual este cambio en el número de ondas por ciclo se presente dentro de un animal no ha sido bien establecida. Varios factores que influyen el número de ondas por ciclo estral, incluyen la ingestión dietética (Murphy *et al.*, 1991),

edad, paridad y estado de lactancia (Lucy *et al.*, 1992).

La duración del ciclo estral va a estar relacionada con la cantidad de ondas (Bó *et al.*, 2002). El número de ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral es determinado por la longitud de la fase luteal; si la progesterona declina mientras el folículo dominante de la segunda onda está en la fase de crecimiento pos-desviación o en su fase estática temprana (tres a cuatro días después de su desarrollo máximo) este folículo ovulará; sino sufrirá atresia y se originará una nueva onda (Lucy *et al.* 1992). Así, el principal factor que condiciona la duración del ciclo y por lo tanto la existencia de dos, tres o cuatro ondas por ciclo, parece ser la vida del cuerpo lúteo (CL) (Fernández, 2003). Consecuentemente, la duración del ciclo de dos ondas es de 18 a 20 días, de 21 a 23 días en los ciclos de tres ondas (Bó *et al.*, 2002) y 24 o 25 días en los ciclos de cuatro ondas (Zeitoun *et al.* 1996; Bó *et al.*, 2002).

En Panamá, si bien es cierto pueden encontrarse explotaciones ganaderas con vacas que en su pico de lactancia alcanzan 45 y hasta 50 L y por lo tanto alta tasa metabólica en donde no sería efectivo utilizar por segunda ocasión dispositivos con 1 gr de progesterona, estas son muy puntuales. La gran mayoría de las explotaciones lecheras poseen vacas con producciones que oscilan entre los 5 hasta 25 L, donde podrían reutilizarse estos dispositivos.

Por tales motivos es necesario realizar estudios más profundos sobre la posibilidad de reutilización de los dispositivos en vacas lecheras de los sistemas productivos de Panamá.

Basándonos en este marco, se diseñaron los experimentos de esta tesis para evaluar la tasa de liberación, niveles de progesterona plasmática, dinámica folicular y tasa de preñez utilizando dispositivos intravaginales de P4 nuevos y de segundo uso y con diferentes concentraciones (CIDR de 1,38 g y Sincrogest de 1 g), en vacas holstein multíparas.

## **HIPOTESIS**

- Con los dispositivos con progesterona, nuevos y de segundo uso, se obtienen similares concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas lecheras en lactancia en la cuenca lechera de Chiriquí-Panamá.
- Con los dispositivos con progesterona, nuevos y de segundo uso, se obtienen similares comportamientos en la dinámica folicular, en vacas lecheras en lactancia en la cuenca lechera de Chiriquí-Panamá.
- Con los dispositivos con progesterona, nuevos y de segundo uso, se obtienen similares tasa de preñez, en vacas lecheras en lactancia en la cuenca lechera de Chiriquí-Panamá.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la concentración plasmática de progesterona y tasa de preñez en vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales nuevos o de segundo uso en la cuenca lechera de Chiriquí - Panamá.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Reconocer los perfiles plasmáticos de progesterona en vacas lecheras en lactancia, tratadas con dispositivos intravaginales con 1 y 1,38 g de progesterona, nuevos y de segundo uso.
- Evaluar el comportamiento de la dinámica folicular al utilizar dispositivos de 1 y 1,38 g de progesterona, nuevos y de segundo uso en vacas lecheras en lactancia.
- Evaluar la tasa de preñez obtenida en vacas lecheras en lactancia, tratadas con dispositivos intravaginales de 1 y 1,38 g de progesterona, nuevos y de segundo uso.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### **Animales, instalaciones y zona geoclimática**

El desarrollo de los experimentos se realizó en la Región de tierras altas de Volcán, Provincia de Chiriquí. Dicha provincia se localiza al Oeste del istmo de Panamá, frontera con Costa Rica.

Esta zona, se caracteriza por tener un clima templado y lluvioso, con temperaturas que pueden oscilar entre 13 – 30° C, altitud promedio de 1000 msnm (800 – 1200 msnm), humedad relativa anual de 80,3% y pluviosidad de 2000 mm anual (1000 – 3000 mm), (Hidromet, 2014). La época de lluvias se extiende desde mayo hasta noviembre, siendo los meses de septiembre y octubre los de mayor pluviosidad. La época seca (verano), se extiende desde diciembre hasta abril (wikipedia, 2014).

El tipo de animales que se utilizó para evaluar concentración plasmática de progesterona, dinámica folicular y tasa de concepción fueron vacas Holstein, con producción promedio de 20 kg diarios de leche y con más de 45 días post parto. Los animales se alimentaban a pastoreo y eran suplementadas con concentrado y con una condición corporal entre 2.5 – 3.5 (rango 1-5) (Edmonson *et al.*, 1989).

Los animales fueron manejados en instalaciones adecuadas en cada predio (corrales, mangas brete o cepo) y con personal de campo suficiente (3 a 4 personas).

#### **MATERIALES UTILIZADOS**

Los tratamientos de sincronización para inseminación a tiempo fijo, utilizados en todos los experimentos utilizaron dos tipos de dispositivos intravaginales impregnados con 1 g (Sincrogest, 1 g de P4; Ourofino) y 1,38 g (CIDR, 1,38 g; Zoetis) de progesterona nuevos y usados, análogo sintético de estradiol (Benzoato de Estradiol 1mg/ml, Sincrodiol;

Ourofino), análogo sintético de Prostaglandina F<sub>2</sub> (Clorprostenol 250µg/ml; Sincrocio; Ourofino), análogo sintético de estradiol de acción prolongada (Cipionato de Estradiol, 0,5 mg/ml, Cipiosyn; Sintex SA), Gonadotrofina Coriónica Equinta (eCG 200 UI/ml, Folligon 1000 UI, MSD). Todos los tratamientos inyectables se administraron por vía intramuscular (IM) profunda con agujas de 18 x 1½ y jeringas con volumen adecuado según tratamiento (3-5 ml totales).

## **EXPERIMENTO 1**

### **Análisis de la concentración de progesterona**

En este experimento se midieron los niveles de progesterona, por siete días consecutivos posterior a la aplicación de los dispositivos. Los tipos de dispositivos fueron: CIDR nuevo, CIDR de segundo uso, Sincrogest nuevo y Sincrogest de segundo uso. Se destinaron tres vacas al azar por cada tratamiento.

Las vacas en estudio, recibieron previamente dos inyecciones de PGF<sub>2</sub> (150 µg D (+) cloprostenol, Ourofino-Brasil) con 14 días de intervalo y fueron asignadas de manera aleatoria a uno de los cuatro grupos y se les aplicó los dispositivos intravaginales. Todos los dispositivos se colocaron 24 h después de la segunda PGF<sub>2</sub> y se dejaron por 7 días (Figura 2.1).

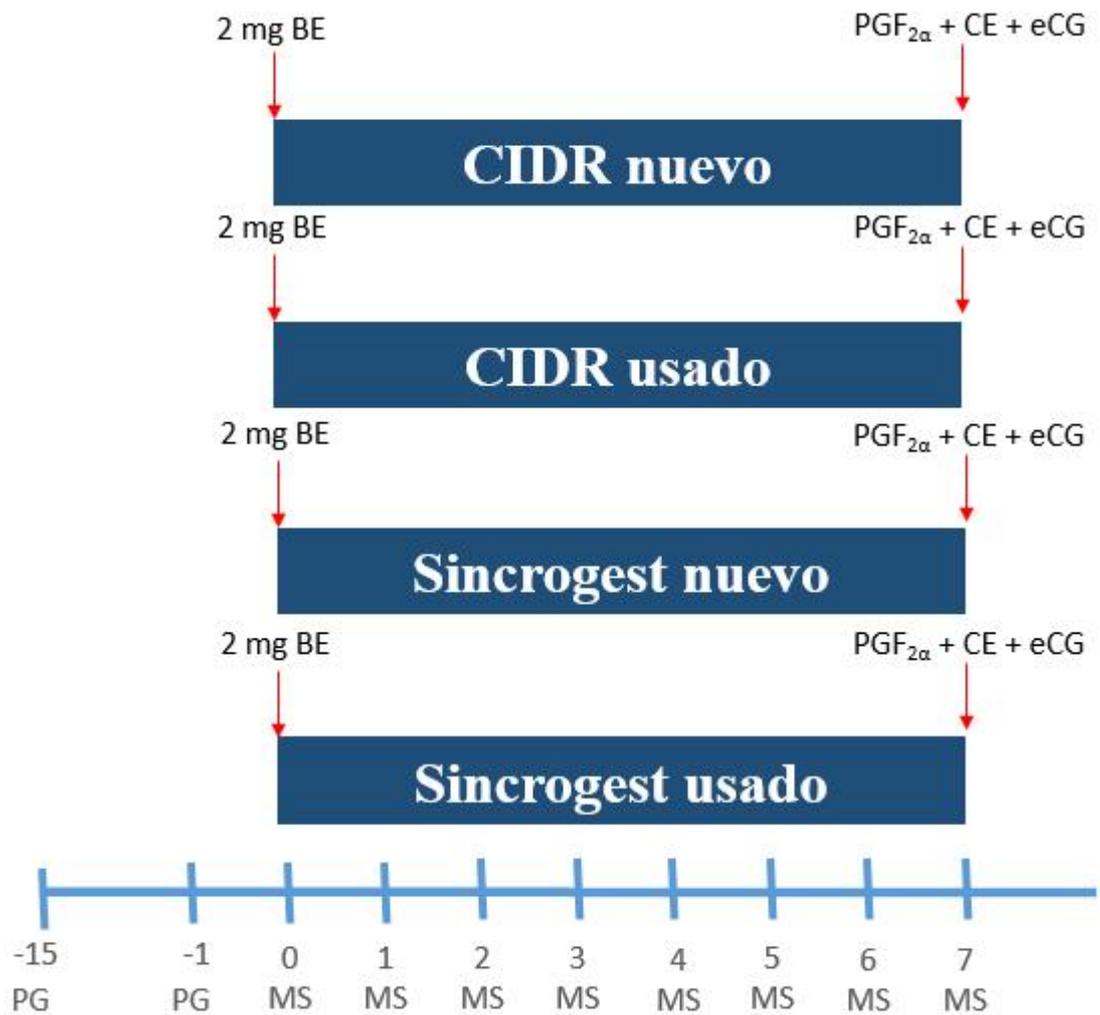


Figura 2.1. Esquema de colecta de sangre para análisis de progesterona.

Las muestras de sangre (MS) se obtuvieron para el análisis de progesterona en intervalos de 24 h. Se observaron las vacas dos veces al día para verificar que los dispositivos no se salieran.

Las muestras de sangre se tomaron por punción de la arteria o vena coccígea, en tubos heparinizados y se centrifugaron dentro de los 20 minutos de obtenida la muestra a 3000 RPM durante 15 minutos. El plasma obtenido se extrajo con pipetas pasteur para congelarse a -20°C, para posteriormente ser evaluado en el laboratorio mediante ELISA.

## **Prueba de validación por ELISA**

Se seleccionaron cinco vacas, a las cuales se les tomaron muestras sanguíneas al día del celo y al día 8 post celo (diestro) para determinar la concentración de Progesterona (ng/ml). La determinación de la Progesterona se realizó a través de la prueba de Enzimoimmunoanálisis (ELISA) (Roa *et al.*, 1997). Los datos se analizaron completamente al azar (DCA) (Steel y Torrie, 1980; Federer, 1951) en donde los tratamientos son los tiempos de muestreos (0 versus 8 días).

## **EXPERIMENTO 2**

### **Análisis de la dinámica folicular en vacas con baja condición corporal.**

En el estudio de características foliculares se utilizó un total de 40 hembras bovinas Holstein con producción promedio de 18 L/día (rango 13 a 23 L/día) y 80 días post parto (DPP) (rango 50 a 120 DPP). La Lechería se ubica en el Distrito de Bugaba, corregimiento de Volcán, provincia de Chiriquí. La condición corporal de las vacas fue de 2.5 en una escala de 1-5. El protocolo de sincronización consistió en la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol, Ourofino, Brasil) y un dispositivo intravaginal con progesterona en el día 0. En el día 8 se removieron todos los dispositivos y se administró 500 mg de clorprostenol (Sincrocio, Ourofino), 400 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) (Folligon, MSD) y 0,5 mg de cipionato de estradiol (Cipiosyn, Syntex SA, Argentina). Para su análisis, se consideró como variable de respuesta el diámetro del folículo dominante (FD). El esquema del seguimiento de la dinámica folicular (DF) se presenta en la Figura 2.2.

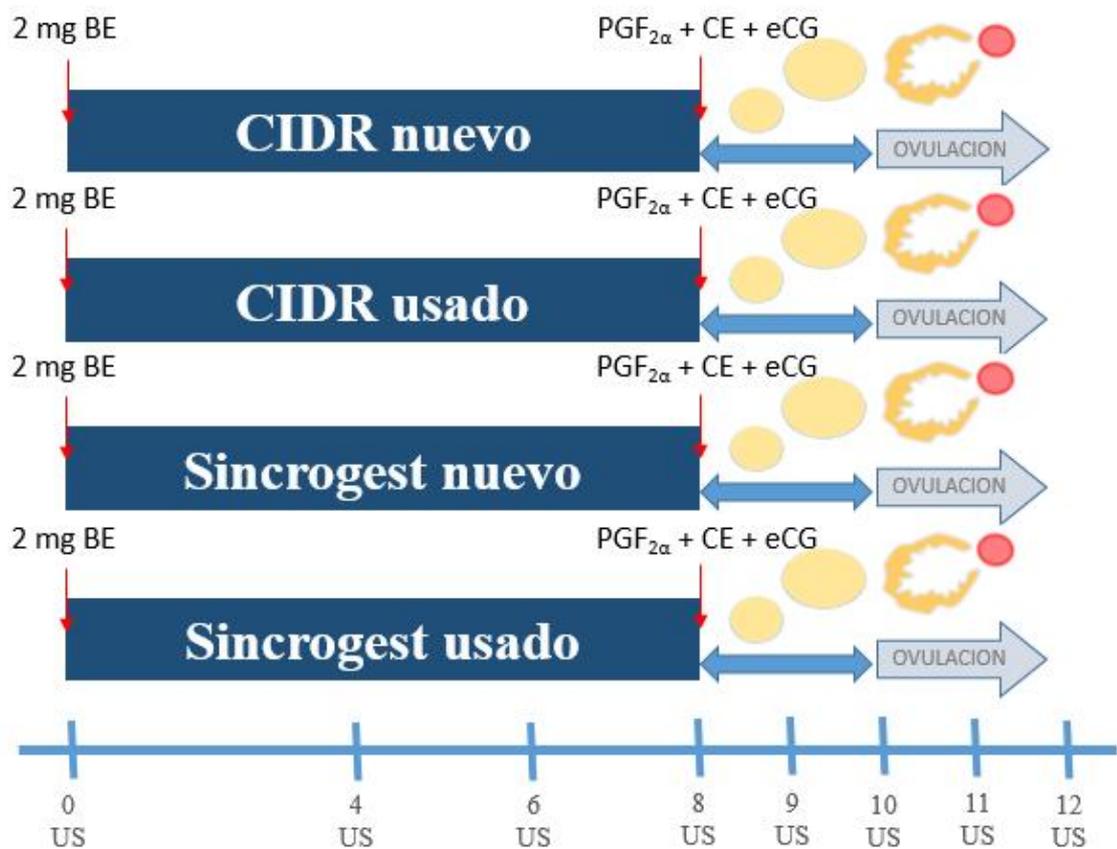


Figura 2.2 Esquema de seguimiento folicular mediante ultrasonografía Experimento 2.

### EXPERIMENTO 3

#### Dinámica folicular y momento ovulatorio.

Se diseñó un experimento en Cuesta de Piedra – Volcán, para comparar el protocolo de sincronización con los dispositivos de CIDR y Sincrogest nuevos y usados, evaluando dinámica folicular y momento ovulatorio. Se utilizaron 16 vacas Holstein con una CC media de 2.8 (rango de 1-5), con 65 días en producción promedio (rango 50 a 100 DPP). Los animales se dividieron en cuatro grupos: CIDR nuevo, CIDR usado, Sincrogest nuevo y Sincrogest usado. El protocolo de sincronización consistió en la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol, Ourofino, Brasil) y un dispositivo intravaginal con

progesterona en el día 0. En el día 7 se removieron todos los dispositivos y se administró 500 mg de clorprostenol (Sincrocio, Ourofino), 400 UI de Gonadotropina sérica de yegua preñada (eCG), (Folligon, MSD) y 0,5 mg de cipionato de estradiol (Cipiosyn, Syntex, Argentina) (Figura 2.3).

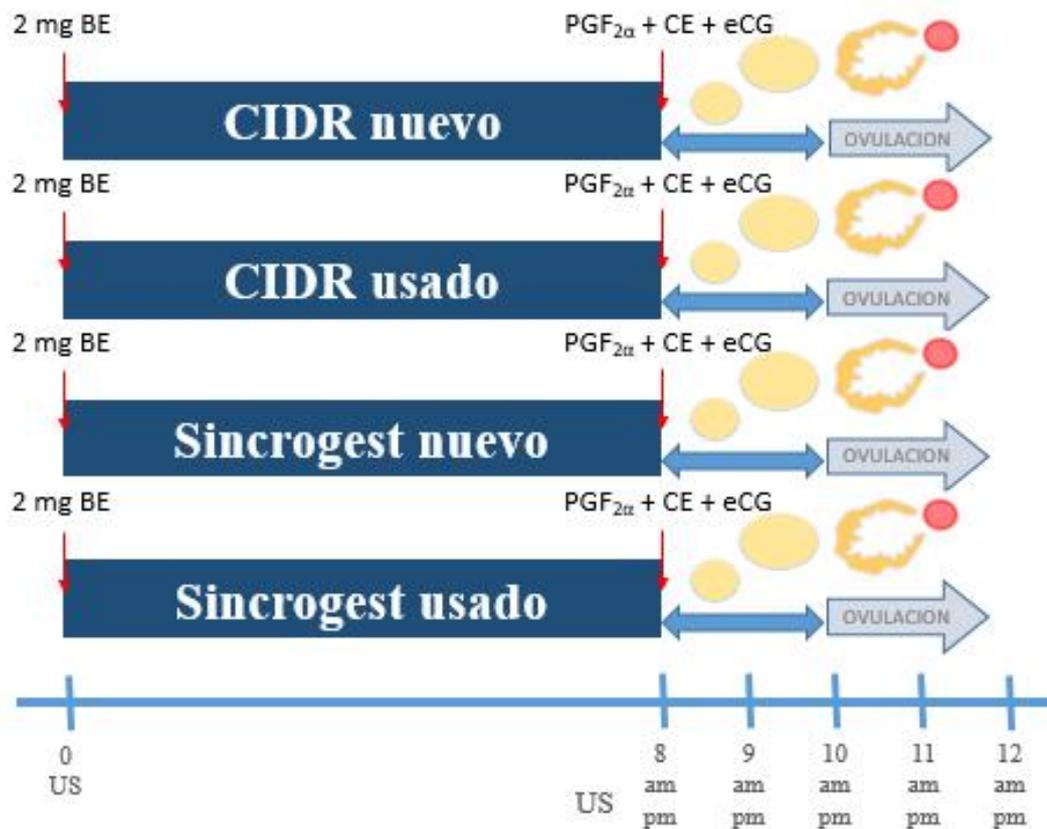


Figura 2.3. Esquema de seguimiento folicular mediante ultrasonografía Experimento 3.

Para el estudio de la dinámica folicular en función de los tratamientos aplicados se tomaron en cuenta las variables: diámetro del folículo dominante al momento del retiro de dispositivo, diámetro del folículo dominante al momento de la ovulación, crecimiento folicular desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación (mm), intervalo de tiempo (h) transcurrido desde el retiro del dispositivo hasta la ovulación y tasa de ovulación.

#### **EXPERIMENTO 4.**

##### **Tasa de preñez en vacas Holstein en producción tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso.**

Se diseñó un experimento para evaluar la tasa de concepción obtenida en vacas Holstein en producción, con mas de 45 días post parto, inseminadas a tiempo fijo (IATF), comparando el tipo de dispositivo utilizado (CIDR y Sincrogest nuevo y usado) (Tabla 2.1). El protocolo de sincronización se resume en la Figura 2.4. Todos los animales fueron sometidos a diagnóstico de gestación 30 días posteriores a la IATF, mediante ultrasonografía.

Tabla 2.1. Número de vacas inseminadas a tiempo fijo según fecha de IATF.

<b>Réplica</b>	<b>CIDR nuevo</b>	<b>SINCROGEST nuevo</b>	<b>CIDR usado</b>	<b>SINCROGEST usado</b>
<b>1</b>	20	19		
<b>2</b>	9	8	9	11
<b>3</b>	8	7	10	9
<b>4</b>	8	8	9	9
<b>5</b>	7	6	8	7
<b>6</b>	6	6	8	7
<b>7</b>	6	6	8	7
<b>8</b>	6	6	9	7
<b>9</b>	9	8	10	10
<b>10</b>	13	9	14	13
<b>11</b>	8	7	8	7
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>90</b>	<b>93</b>	<b>87</b>

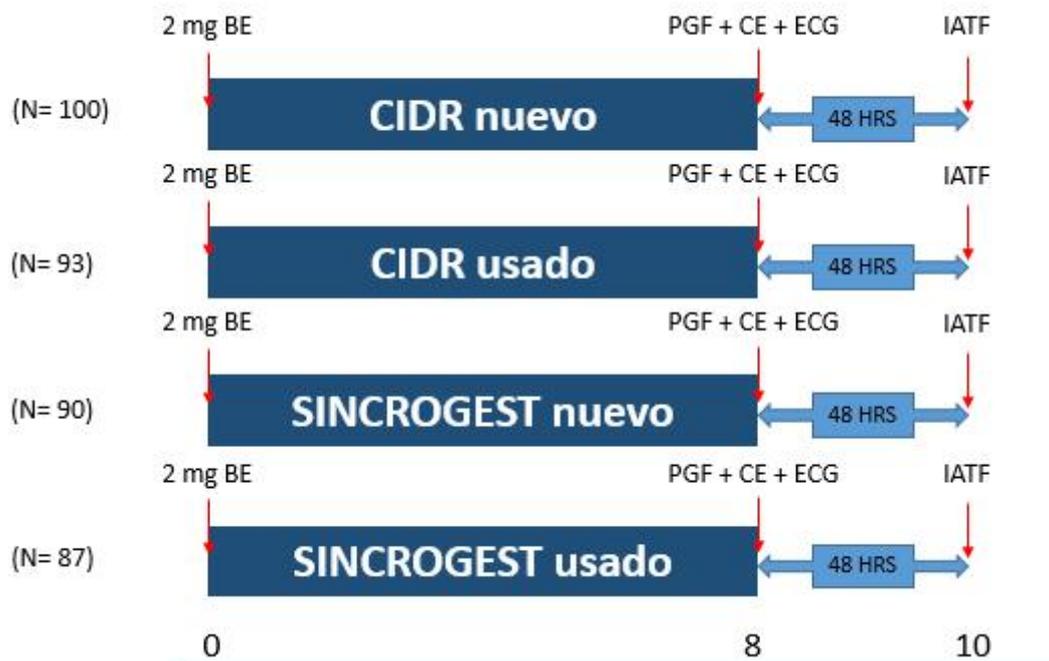


Figura 2.4. Esquema de protocolo de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo Experimento 4.

## ULTRASONOGRAFÍA

Para la visualización las estructuras ováricas en los Experimentos 2 y 3, se utilizó un equipo de ultrasonografía (US), ChisonVet 600 para el diagnóstico de gestación en el Experimento 4 se utilizó un equipo portátil Siui cts-800 v. Ambos equipos provistos de un transductor lineal de 5 MHz. Las vacas fueron inmovilizadas en mangas con cepos en donde se les efectuó ecografía transrectal para realizar los diagnósticos de gestación y el seguimiento de la dinámica folicular.

Para evaluar la dinámica folicular en el experimento 2, se realizaron ecografías al día de la aplicación del dispositivo (día 0), luego al día 4, 6 y día 8 (día que se removieron los dispositivos). La tasa ovulatoria se evaluó realizando ecografías cada 24 horas desde la remoción del dispositivo (día 8) hasta el día 12.

En el Experimento 3, se realizaron ecografías cada 12 horas desde la remoción de los dispositivos hasta el momento de la ovulación.

Los diagnósticos de gestación en el Experimento 4, se realizaron mediante ecografías a los 30 días post IATF.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el procesamiento estadístico de los datos de estos Experimentos se utilizó el Software Infostat 2.0. Todos los datos se analizaron mediante el procedimiento de Modelos Lineales Generales y Mixtos (MLGM) (Di Rienzo, 2011). Para los Experimentos 1, 2 y 3 se utilizó un análisis para familia de datos normales con enlace identify, y para el Experimento 4 se utilizó un análisis para familia de datos binarios (0= vacía, 1= preñada) con enlace logic. Cuando se encontraron diferencias significativas entre las variables respuesta o interacciones entre ellas, se utilizó el test de LSD de Fisher utilizando un alfa de 0,05. Los resultados son presentados como media  $\pm$  SEM y las diferencias se consideraron significativas con un valor  $P < 0,05$  y tendencia cuando  $P < 0,1$ . Para el Experimento 1, se consideró como variable de respuesta la concentración de progesterona en ng/ml y para los Experimentos 2 y 3, se consideró como variable respuesta el diámetro del folículo dominante (mm) y en el Experimento 3 se consideró además como variable respuesta el momento de la ovulación. Se utilizó como variable aleatoria el número de identificación de cada animal sólo para los experimentos 1, 2 y 3. En el caso del Experimento 4, la variable de respuesta fue el diagnóstico de preñez. Las variables independientes fueron número de lactancia, días en producción, número de servicios, producción de leche (L), tratamiento, número de usos del dispositivo, estructura ovárica (ausencia o presencia de CL) y temporada (seca y lluviosa).

RESULTADOS

EXPERIMENTO 1.

Análisis de la concentración de progesterona

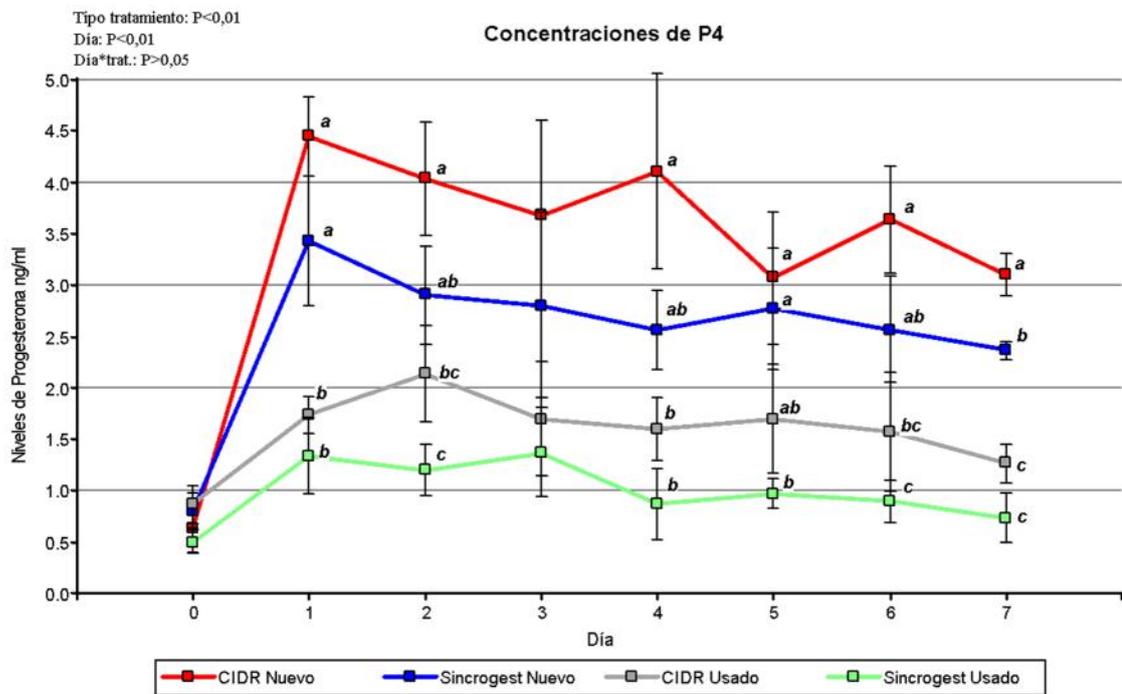


Figura 3.1. Concentración plasmática de progesterona según tipo dispositivo.

<sup>ab</sup> denotan diferencias significativas (P<0,05)

La concentración sérica de progesterona fue evaluada secuencialmente desde el día de la aplicación de los dispositivos (Día 0) hasta el día de su remoción (Día 7) como se observa en la Figura 3.1. Las vacas tratadas con dispositivos nuevos produjeron en promedio mayores concentraciones de progesterona ( $2,93 \pm 0,12$  ng/ml) en comparación con los

dispositivos usados ( $1,28 \pm 0,12$  ng/ml) durante los días de estudio, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,01$ ). Cuando se tuvo en cuenta el tipo de dispositivo se encontró mayor concentración en las vacas tratadas con CIDR ( $2,45 \pm 0,12$  ng/ml) que en las vacas tratadas con SINCROGEST ( $1,75 \pm 0,12$  ng/ml) ( $P < 0,01$ ). No hubo diferencias en las interacciones tratamientos por uso ( $P > 0,05$ ). Además, se detectó que el efecto día del tratamiento también fue significativo ( $P < 0,01$ ), pero no así su interacción con el tratamiento ( $P > 0,05$ ). Esto indica que el comportamiento de los tratamientos en el tiempo es independiente. Sin embargo, se encontró una interacción ( $P = 0,03$ ) entre dispositivos nuevos y usados por día de tratamiento, atribuido a mayores concentraciones de progesterona en los dispositivos nuevos.

Al separar las concentraciones por día de tratamiento, se encontró que existen diferencias significativas entre los dispositivos nuevos vs usados ( $P < 0,05$ ) (Figura 3.2). Además se encontró diferencia entre tratamientos en el día 7 ( $P < 0,05$ ) (Figura 3.3). No hubo diferencias al día 0 según uso ni tipo de tratamiento ( $P > 0,05$ ) (Figura 3.2 y 3.3).

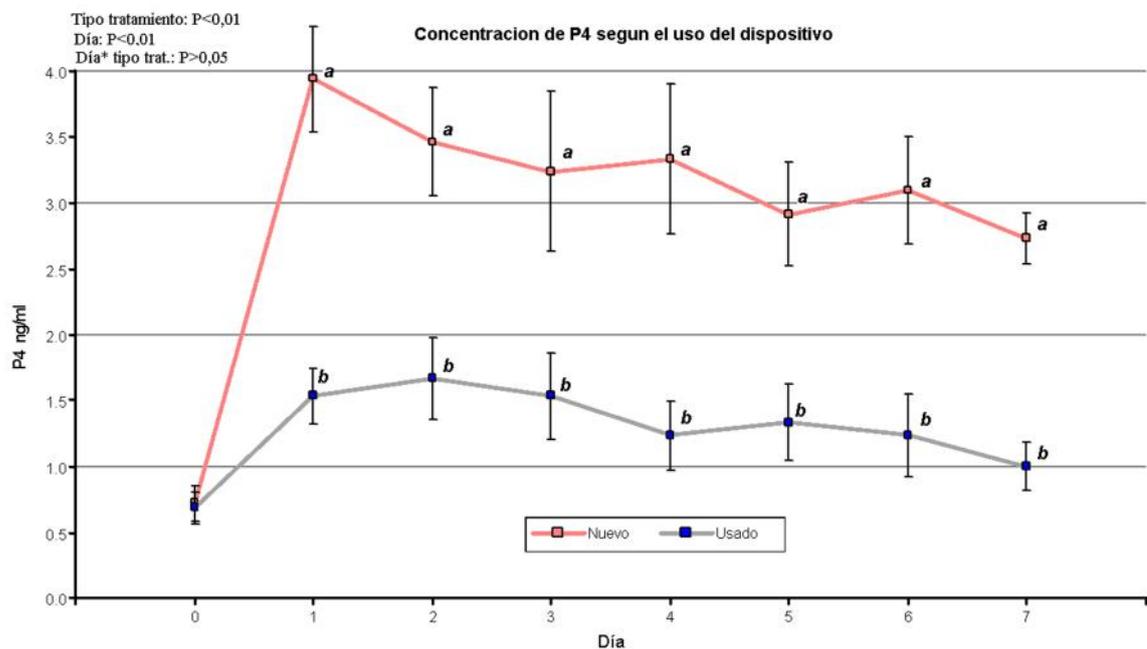


Figura 3.2. Concentración de progesterona según usos de los dispositivos (nuevos vs usados).

<sup>ab</sup> Denotan diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

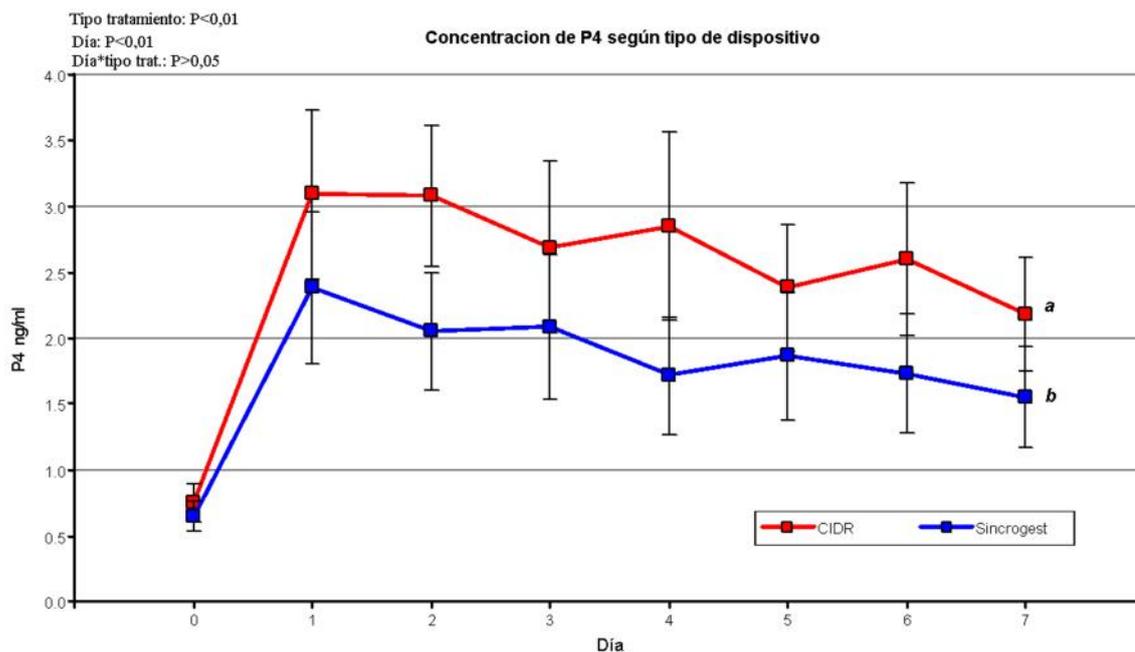


Figura 3.3 Concentración de progesterona según tipo de dispositivos (CIDR o SINCROGEST).

<sup>ab</sup> denotan diferencias significativas (P<0,05)

### Prueba de validación por ELISA

Tabla 3.1. Medias ajustadas para concentración de progesterona según día del ciclo estral (celo o diestro).

Estado	P4 (ng/ml)	±EE
celo	0,68 <sup>a</sup>	0,27
diestro	4,84 <sup>b</sup>	0,27

<sup>ab</sup> denotan diferencias significativas (P<0,05)

La diferencia en la concentración de progesterona entre el día del celo y el diestro fue de  $0,68 \pm 0,27$  versus  $4,84 \pm 0,27$  ng/ml respectivamente y estas diferencias fueron significativas (P<0,01). La correlación entre ambas medias fue 0,82 con una probabilidad de P<0,09.

## EXPERIMENTO 2.

### Análisis de características foliculares en vacas con baja condición corporal.

Los resultados de diámetros foliculares, mostraron diferencias significativas entre los dispositivos nuevos y usados ( $P < 0,01$ ), en donde los dispositivos de segundo uso mostraron una media ajustada de  $5,07 \pm 0,25$  mm en comparación de  $4,9 \pm 0,25$  mm en los dispositivos nuevos. Además hubo diferencia significativa entre los días del tratamiento propio del crecimiento folicular ( $P < 0,01$ ), en donde a medida que los días del tratamiento avanzan, se incrementa el diámetro folicular. Se encontró una interacción entre usos de dispositivo y día del tratamiento ( $P = 0,05$ ) y una interacción entre usos y tipos de dispositivos ( $P < 0,01$ ), en donde los dispositivos SINCROGEST usados, mostraron mayor diámetro al día 8, en comparación con SINCROGEST nuevo y CIDR nuevo y de segundo uso (Figura 3.4).

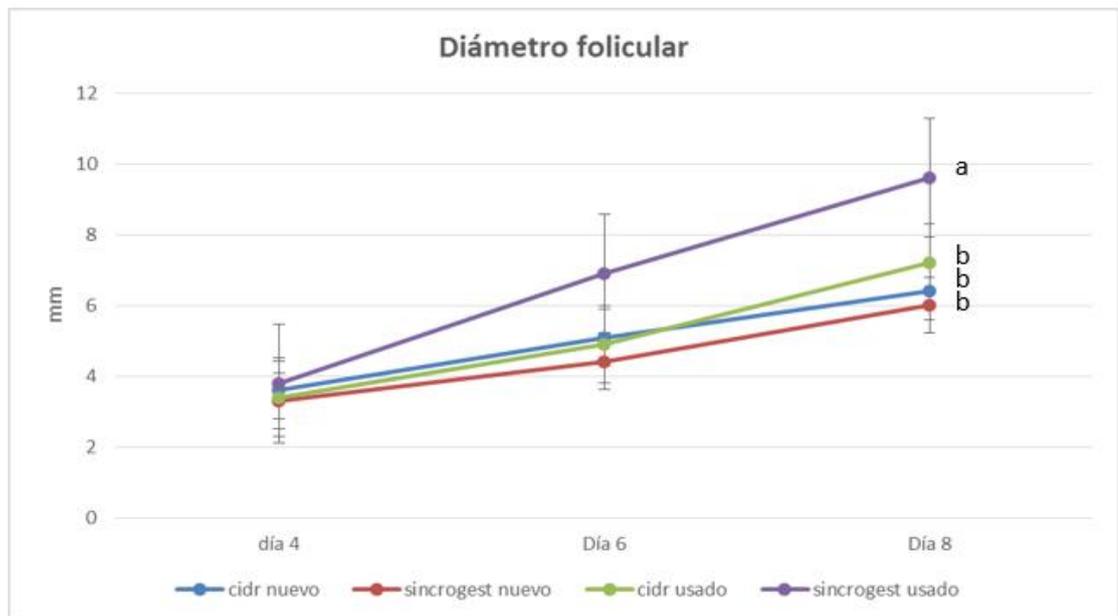


Figura 3.4. Diámetros foliculares según día de tratamiento en vacas lecheras en producción con baja condición corporal (2,5; escala 1-5).

### EXPERIMENTO 3

#### Dinámica folicular y momento ovulatorio.

Al evaluar el diámetro del folículo al momento de la ovulación no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $P>0,05$ ), entre los dispositivos de acuerdo a su concentración de progesterona (CIDR nuevo, usado, Sincrogest nuevo y usado), siendo estos valores de  $15,8\pm 2,2$ ;  $13\pm 1,9$ ;  $12,6\pm 1,9$  y  $13,9\pm 1,9$  respectivamente. Las vacas pertenecientes al grupo CIDR y SINCROGEST nuevo tuvieron un horario medio de ovulación mayor (80,8 h) en comparación con las tratadas con los dispositivos usados (57,4 h), estas diferencias fueron significativas ( $P<0,01$ ). En la figura 3.5, se muestra la distribución de la ovulación posterior al retiro de los dispositivos, en donde los dispositivos CIDR y Sincrogest, nuevo, ovularon en promedio a las 88,0 y 73,5 h respectivamente, en comparación de los CIDR y Sincrogest, de segundo uso, que ovularon más temprano, 59,2 y 55,5 h respectivamente. Con respecto al diámetro del folículo ovulatorio, éste no varió entre tratamiento ( $P>0,05$ ). De igual manera, el diámetro del folículo dominante al momento de la remoción del dispositivo y el crecimiento folicular desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación, no tuvo diferencias significativas ( $P<0,05$ ). No hubo diferencia en la tasa ovulatoria en las vacas tratadas ( $P>0,05$ ), sin embargo, es importante señalar que el tamaño de la muestra fue pequeña (Tabla 3.2).

Tabla 3.2 Respuesta ovárica (Media  $\pm$  E.E.) en vacas tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso.

VARIABLE	TRATAMIENTO			
	CIDR		SINCROGEST	
	NUEVO	USADO	NUEVO	USADO
N° de vacas	4	4	4	4
Diámetro del FD al retiro del dispositivo (mm)	$11\pm 1,4$	$10\pm 1,4$	$9,25\pm 1,4$	$11,7\pm 1,4$

<b>Diámetro del FD al momento de la ovulación (mm)</b>	15,8±2,2	13±1,9	12,6±1,9	13,9±1,9
<b>Intervalo retiro del dispositivo a la ovulación (h)</b>	88±8,2 <sup>a</sup>	59,2±7,1 <sup>b</sup>	73,5±7,1 <sup>ab</sup>	55,5±7,1 <sup>b</sup>
<b>Crecimiento FD (mm hasta ovulación)*</b>	3,8±1,1	3±0,9	3,3±0,9	2,2±0,9
<b>Hembras ovuladas</b>	75% (3/4)	100% (4/4)	100% (4/4)	100%(4/4)

Letras diferentes indican diferencias significativas (ab P<0,05) (cd P<0,1).

\*Desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación

Tabla 3.3 Horas de ovulación post remoción de dispositivo según uso de dispositivos.

Usos	Medias
Nuevos	80,7 ± 5,4 <sup>a</sup>
Usados	57,4 ± 5,0 <sup>b</sup>

Letras diferentes indican diferencias significativas (ab P<0,05)

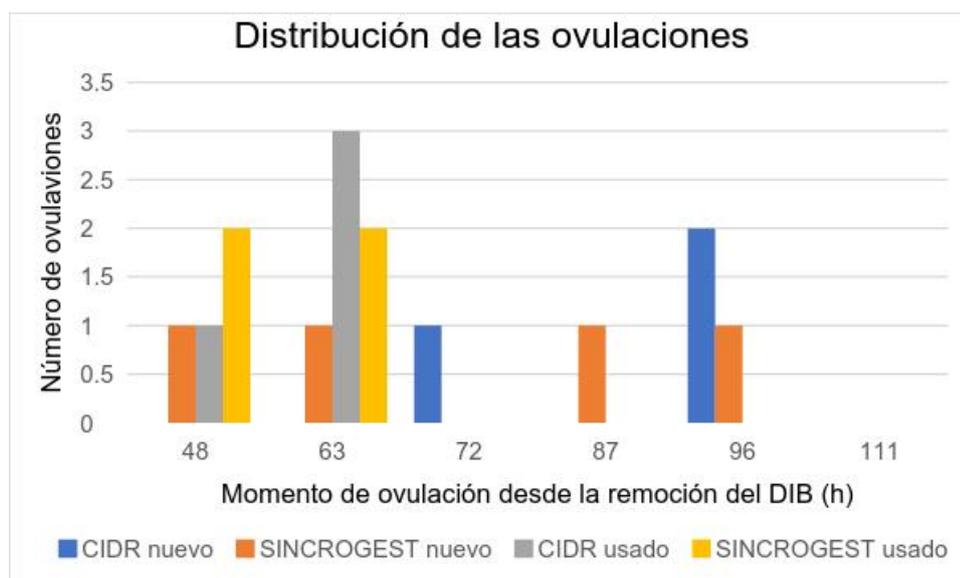


Figura 3.5 Distribución de las ovulaciones luego de la remoción de los dispositivos (h).

## EXPERIMENTO 4.

### Tasa de concepción en vacas Holstein en producción tratadas con dispositivos con diferentes concentraciones de progesterona, nuevos y de segundo uso.

De un total de 370 vacas sincronizadas e inseminadas a tiempo fijo en once replicas, la tasa de preñez total fue numéricamente mayor en las vacas tratadas con CIDR nuevo, seguida por SINCROGEST nuevo, CIDR usado y SINCROGEST usado, con un 43,0%, 38,9%, 36,6% y 31,0% respectivamente, las diferencias no fueron significativas ( $P > 0,05$ ). De igual forma, a pesar de no haber diferencias significativas en la tasa de preñez respecto al uso de los dispositivos y la estructura ovárica predominante, se encontró diferencia numérica en donde las vacas con presencia de cuerpo luteo sincronizadas con dispositivos usados tuvieron una tasa de preñez mayor que las tratadas sin cuerpos luteos con dispositivo usado, 36% (30/83) y 32% (31/97) respectivamente (Tabla 3.5). La tasa de preñez según días de producción tubo diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), siendo las vacas con mayor cantidad de días en producción las que se preñaron mejor (Tabla 3.4). Cuando se comparó la época del año en la que se realizaron los tratamientos, se encontró diferencia significativa entre los tratamientos realizados en época seca y lluviosa ( $P < 0,01$ ), obteniéndose un 42 % de tasa de preñez en la época lluviosa en comparación de un 29,8 % en época seca (Tabla 3.6). No hubo interacción de los tratamientos con el número de usos de los dispositivos ni con la estación ( $P > 0,05$ ).

Tabla 3.4 Tasa de preñez según días en producción.

Días en producción	n	Preñadas	% Preñez
0-98	157	49	31,2 % <sup>a</sup>
99-150	163	65	39,9 % <sup>a</sup>
156-203	50	25	50,0 % <sup>b</sup>
<b>TOTAL</b>	<b>370</b>	<b>139</b>	<b>37,6 %</b>

Letras diferentes indican diferencias significativas (ab  $P < 0,05$ )

Tabla 3.5. Tasa de preñez según estructura ovárica y uso del dispositivo

<b>Estructura ovárica</b>	<b>Uso del dispositivo</b>	
	<b>NUEVO</b>	<b>USADO</b>
<b>Con CL</b>	42% (35/83)	36% (30/83)
<b>Sin CL</b>	40% (43/107)	32% (31/97)

Tabla 3.6 Tasa de preñez según época del año (lluviosa vs seca)

<b>Época</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>% Preñez</b>
<b>LLUVIOSA</b>	229	97	42,4 % a
<b>SECA</b>	141	42	29,8 % b
<b>TOTAL</b>	370	139	37,6 %

Existe diferencia significativa según época del año ( $P < 0,01$ ).

### DISCUSIÓN

Diversos estudios han demostrado la importancia que tienen los niveles altos de progesterona previo a una IATF. Fonseca *et al.*, (1983), describieron por primera vez el papel clave de las altas concentraciones circulantes de P4 antes de la IA sobre la fertilidad subsiguiente de vacas lecheras. Recientemente se ha demostrado mejoras (~ 5 a 7% de aumento en porcentajes de preñez) en el programa de Ovsynch mediante la colocación de un dispositivo liberador de progesterona vaginal (Chebel *et al.*,2010). Sin embargo, el elevado metabolismo de la P4 en vacas lecheras (Sangsritavong *et al.*, 2002), condiciona los niveles plasmáticos de progesterona y en consecuencia de las concentraciones mínimas en progesterona impregnada en los dispositivos intravaginales para mantener tasas de preñez aceptables en los protocolos de sincronización. Diferentes estudios han demostrado que los niveles de progesterona en sangre y tasas de preñez en vacas cruces Cebú por Holstein tratadas con dispositivos nuevos y de segundo uso mantienen similares concentraciones y tasas de concepción. Por otra parte, la adopción de la técnica de IATF por muchos productores está condicionada por el costo del tratamiento por lo que la reutilización de los dispositivos intravaginales significa una reducción aproximada del 40% en el costo de drogas utilizadas en el tratamiento.

En el Experimento 1, las vacas tratadas con dispositivos nuevos produjeron mayores concentraciones de progesterona ( $2,93 \pm 0,12$  ng/ml) en comparación con los dispositivos usados ( $1,28 \pm 0,12$  ng/ml), encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ ).

Con respecto al tipo de dispositivo se encontró mayor concentración de progesterona en las vacas tratadas con CIDR ( $2,45 \pm 0,12$  ng/ml) que en las vacas tratadas con SINCROGEST ( $1,75 \pm 0,12$  ng/ml) ( $P < 0,01$ ), indistintamente del número de usos. En un trabajo realizado por Rogan *et al.* (2007), en donde evaluaron diferentes dispositivos

intravaginales nuevos impregnados con diferentes cantidades de progesterona en vacas Holstein en lactancia (DIB de 1 g de progesterona; Syntex SA, Argentina) y CIDR con 1,38 g de progesterona (Pfizer Animal Health, USA) desde la inserción hasta el Día 7, se observaron que las concentraciones de progesterona en plasma no difirieron entre los dispositivos intravaginales. En el presente trabajo, en la mayoría de los días, con excepción del día 7 los niveles de P4 fueron entre el CIDR y el Sincrogest nuevo, coincidiendo mayoritariamente con el trabajo citado.

En un estudio realizado utilizando dispositivos intravaginales de P4 en vacas lecheras en lactancia (Cutaiet *al.*, 2001), se reporta que el uso de 0,5 g resulta en una liberación de P4 similar a la del DIB 1,0 g. Sin embargo los dispositivos de DIB 1,0 g usados liberan una cantidad insuficiente de P4, por lo que no sería recomendable su uso en vacas lecheras en lactancia.

Varios de los dispositivos intravaginales de P4 que existen (CIDR 1,9 g, CIDR 1,30 g, Cue-mate 1,56 g, DIB 1 g de P4) mantienen concentraciones séricas de P4 adecuadas durante los 7 días del tratamiento (Roganet *al.*, 2007), a excepción del DIB 0,5 g (Avileset *al.*, 2005). Según tipo de dispositivo utilizado se han reportado comparaciones entre TRIUB 0,558 g y TRIUB 1g de P4 (Cledou *et al.*, 2005) obteniéndose porcentajes de preñez similares, al igual que CIDR y MAP en vacas de baja CC (De Nava y Cavestany, 2000). Estos últimos autores sólo pudieron concluir que el MAP es efectivo en vacas con baja CC. En comparaciones entre CIDR y una inyección oleosa de P4 se obtuvo un porcentaje de preñez promedio de 30,8 %, sin diferencias entre tratamientos (Cavestanyet *al.*, 2011).

Recientemente un estudio fue diseñado por Ali *et al.*, (2017) para determinar las concentraciones circulantes P4 en vaquillas y vacas no lactantes Holstein utilizando un dispositivo CIDR modificado. Los animales fueron tratados previamente con Ovsynch y reportaron una interacción significativa por día de tratamiento ( $P = 0,03$ ), concordando con nuestros datos en donde se detectó que el efecto día del tratamiento fue significativo ( $Pr < 0,01$ ), pero no así su interacción con el tratamiento ( $P > 0,05$ ). Al parecer este

comportamiento según las concentraciones de progesterona de los dispositivos es similar en vacas lactantes, no lactantes y novillas. Adicionalmente en este mismo experimento no se obtuvieron diferencias significativas en los niveles de P4 en suero en el momento de la inserción CIDR ( $P = 0,34$ ), al igual que lo reportado en nuestro estudio en donde tampoco hubo diferencias al día 0 según uso ni tipo de tratamiento ( $P > 0,05$ ).

El diámetro del folículo al momento de la ovulación para los dispositivos de acuerdo a su concentración de progesterona (CIDR nuevo, usado, Sincrogest nuevo y usado) fue de  $15,8 \pm 2,2$ ;  $13 \pm 1,9$ ;  $12,6 \pm 1,9$  y  $13,9 \pm 1,9$  respectivamente, lo cual demuestra que no hubo diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, las vacas que se habían tratado con CIDR nuevos mostraron un diámetro folicular ( $15,8 \pm 2,2$ ) numéricamente mayor, coincidiendo con lo reportado por Melo *et al.*, (2016), en donde las vacas recibieron un implante P4 que contenía 1,9 g de P4 (CIDR) más 2,0 mg de benzoato de estradiol al inicio del protocolo y al momento del retiro del dispositivo se les aplicó 1,0 mg de cipionato de estradiol (ECP), presentaron diámetro del folículo de 14,7 mm. Según las conclusiones de distintos autores (Bóet *et al.*, 1993; Sartori *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2015) los tratamientos con Benzoato de Estradiol al momento del inicio del protocolo inhiben la secreción de gonadotropinas y en consecuencia da inicio una nueva onda folicular 3 -5 días después. Por otra parte Perry *et al.* (2014), sostienen que existe una interacción entre el diámetro del folículo preovulatorio, el ambiente hormonal óptimo (demostrado por la expresión de celos), y el establecimiento y mantenimiento de la preñez. Un estudio realizado por Souza *et al.* (2009), en donde evaluaron 45 vacas lactantes mediante seguimiento diario con ultrasonido, mostó que el 84,4% (38/45) de las vacas habían respondido a la sincronización, demostrando la aparición de una nueva onda folicular después del tratamiento con 2 mg de benzoato de estradiol, combinado con la inserción de un dispositivo de liberación de P4. Además, encontraron que al final del protocolo el 83,3% de las vacas habían sincronizado la ovulación. Sin embargo, similar con lo que sucede con los programas basados en GnRH, en los protocolos en que se utiliza E2 y P4 también pueden tener algunos problemas en lo referente a la sincronización correcta de la nueva onda folicular al comienzo del programa y en consecuencia la sincronización como tal al final del programa. Algunas de las etapas críticas de protocolos de IATF que necesitan ser optimizadas incluyen emergencia de la onda folicular y el crecimiento (Wiltbank *et al.*,

2011), la concentración de P4 durante el crecimiento folicular (Bisinotto *et al.*, 2013; Wiltbank *et al.*, 2014), la lisis completa de la CL en el momento de la IA (Souza *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2013b; Wiltbank *et al.*, 2014), y el tamaño del folículo ovulatorio (Wiltbank *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2013A, 2014).

Un señalamiento importante en este estudio y por otros investigadores tal es el caso de (Souza *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2013a), es que no todas las vacas ovulan al final de los protocolos de IATF a base de Progesterona y Estradiol. Algunos estudios realizados por (Cerriet *et al.*, 2009; Wiltbank *et al.*, 2011) han indicado que un mayor periodo de dominio folicular perjudica a los folículos lo que conlleva a la ovulación de un ovocito envejecido. Sin embargo, está claro que la ovulación de un folículo más grande producirá en efecto un CL más grande y una mayor P4 circulante después de la IA (Vasconcelos *et al.*, 2001), situación que puede conducir a una mejora sustancial de la elongación del embrión y el desarrollo (Carter *et al.*, 2008; Clemente *et al.*, 2009). Además, hay quienes sustentan que el aumento de P4 circulante durante el desarrollo del folículo preovulatorio, se ha asociado con una disminución de la frecuencia de pulsos de LH, lo que en cierta forma podría ayudar a evitar la sobreestimulación del folículo preovulatorio y ovocitos asociados (Wiltbank *et al.*, 2011).

Con respecto al diámetro del folículo preovulatorio y al periodo de tiempo comprendido desde el retiro del dispositivo y la ovulación, resultados similares a los nuestros fueron reportados en un estudio realizado por Veneranda *et al.*, (2006), citado por (Bo *et al.*, 2008) en donde utilizaron 40 vacas Holstein con  $57,8 \pm 1,5$  días de posparto (rango, 47 a 82 d), con una producción de leche de  $30,2 \pm 0,8$  kg por día (rango, 14,0 a 40,7 L) y un escore de condición corporal (BCS) de  $2,8 \pm 0,0$  (rango, 2,5 a 3,5; escala de 1 a 5) y lactancias de  $2,5 \pm 0,2$  (rango, 1 a 7) para evaluar los efectos de un tratamiento con progesterona y estradiol (P4+EB). En este experimento se aplicó un dispositivo intravaginal de liberación de progesterona (1 g P4, DIB, Syntex, Argentina) y 2 mg de benzoato de estradiol (BE) i.m. el Día 0. El día 8 se retiraron los dispositivos de progesterona y se les aplicó PGF (150 µg D (+) cloprostenol, Ciclase, Syntex) y posteriormente se les administró 400 UI eCG (Novormon 5000, Syntex) i.m. El Día 9, a todas las vacas se les aplicó 1 mg de BE y se les realizó la IATF 36 h más tarde (60 h después de la remoción del dispositivo), reportando

diámetros superiores del folículo al retiro del dispositivo y al momento de la ovulación de  $12,2 \pm 0,5$  y  $15,0 \pm 0,7$  respectivamente en comparación con los datos nuestros que fueron de  $9,25 \pm 1,4$  y  $12,6 \pm 1,9$  respectivamente usando dispositivos nuevos de 1 g de P4. Con respecto al intervalo de tiempo comprendido entre el retiro del dispositivo y la ovulación (h) de estos mismos autores se reportó  $73,3 \pm 1,8$  h coincidiendo con nuestros resultados que para este parámetro fue de  $73,5 \pm 7,1$  h. Además no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre dispositivo de 1 g de P4 nuevo vs el usado ( $73,5 \pm 7,1$  vs  $55,5 \pm 7,1$ ) respectivamente. Sin embargo, existen diferencias estadísticamente significativas entre dispositivos nuevos y de segundo uso en relación al intervalo de tiempo desde el retiro del dispositivo y la ovulación, siendo mayor en los dispositivos nuevos versus los dispositivos usados.

Actualmente se ha determinado la relación que existe entre la producción de leche y la emergencia de la onda, tal es el caso de estudios realizados en Brasil por (Souza *et al.*, 2007), en donde demostraron una correlación negativa significativa ( $r = -0,40$ ;  $P < 0,05$ ) entre la producción de leche y el intervalo hasta la emergencia de la onda. Las vacas con mayor producción de leche ( $>35$  kg/día) poseen una emergencia más temprana ( $P < 0,05$ ) de la onda folicular ( $3,5 \pm 0,2$  días) que las que poseen una producción menor ( $<25$  kg/día;  $4,6 \pm 0,3$  días). Estos datos sugieren que el nivel de producción de leche afecta el tiempo de la emergencia folicular en vacas Holstein en lactancia tratadas con BE.

La tasa de preñez total fue numéricamente mayor en las vacas tratadas con CIDR nuevo, seguida por SINCROGEST nuevo, CIDR usado y SINCROGEST usado, con un 43,0%, 38,9%, 36,6% y 31,0% respectivamente, las diferencias no fueron significativas ( $P > 0,05$ ; Tabla 3.5). Estos resultados con respecto a las vacas tratadas con Sincrogest, coinciden con los trabajos realizados por (Vater *et al.*, 2007), donde también evaluaron el efecto de la utilización de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de P4 sobre los porcentajes de preñez en vacas Holando inseminadas a tiempo fijo, reportando que no había diferencias estadísticamente entre los porcentajes de preñez (44,9 y 38,4) con DIB 1 g o DIB 0,5 g respectivamente ( $P > 0,1$ ). A pesar de que el porcentaje de preñez encontrado fue un poco inferior a lo reportado en este estudio. Investigaciones recientes realizadas por (Melo

*et al.*, 2016), referente a las tasas de preñez donde utilizaron un protocolo similar al nuestro en base a CIDR nuevos reportaron una tasa de preñez de 35,1%, inferior a la obtenida en nuestro estudio que fue de 43,0% para el caso de los dispositivos de CIDR nuevos, situación que resalta que las altas concentraciones de P4 durante el crecimiento del folículo ovulatorio es importante para la calidad de los ovocitos (Wiltbank *et al.*, 2006 y Wiltbank *et al.*, 2014), y que se asocia con un aumento en la preñez en vacas lecheras (Bisinotto *et al.*, 2013). Por otra parte se ha informado que el tratamiento para IATF en vacas lecheras en anestro utilizando progesterona y estradiol asociado a eCG y GnRH, ha mejorado la performance reproductiva de vacas en anestro, obteniendo un porcentaje en la preñez del grupo IATF, P4-BE+eCG+GnRH (n=208) (49,3%) vs. Control (n=47) 30,3%. En estudios llevados a cabo en Uruguay por Ibarra *et al.*, (2007), evaluaron un tratamiento de sincronización basado en progesterona versus IA a celo detectado sobre la performance reproductiva y productiva en vacas lecheras de alta producción; en este estudio se utilizaron (n=264) vacas Holstein primíparas y multíparas, con 87,1±31,6 DEL, CC de 2.51±0.28 y 24,0±5.3 L/día. Las vacas sincronizadas fueron tratadas durante 8 días con CIDR (1,39 g de progesterona) y 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina) im al insertarlo. Al retirar el CIDR recibieron 800 µg de Delprotenate (Glandinex, Universal Lab, Uruguay). A las 24 hs del retiro del dispositivo recibieron 1 mg de BE. Reflejándose un 39,6% de preñez en las vacas sincronizadas vs un 33,3% de las vacas que se inseminaron celo detectado. A pesar de que no hubo diferencias estadísticamente significativas (P>0.05), esto pone en manifiesto la problemática actual con las detecciones de celo y sobre todo en vacas de alta producción. Sin embargo, las vacas sincronizadas se preñaron antes, medida como porcentaje de vacas preñadas a los 100 días posparto (29.9% vs 7.9%, P <0.05) o como IPC (136,6 vs 172,2 días; P <0,01). Confirmando que este tratamiento a base de P4 de sincronización mejora los indicadores reproductivos.

En un sistema de free Stall en Brasil, se evaluaron los efectos de la eCG y del cipionatode estradiol (ECP), junto con dispositivos de P4 en la tasa de preñez en vacas Holstein de alta producción, obteniéndose un porcentaje de preñez de 33,8%. Por lo tanto, concordamos con los señalamientos por (Bó, 2009), que el uso de eCG incrementa las tasas de preñez en las vacas de alta producción, y específicamente en aquellas vacas con una CC más baja.

Un estudio similar al nuestro propuesto por (Callejas *et al.*, 2007) donde se evaluó la respuesta reproductiva de vacas con o sin un cuerpo lúteo (CL) al momento de colocar los dispositivos intravaginales (TRIUB Cronipres 3 usos, 1 g P4, Biogénesis–Bagó). Sesenta y cuatro vacas Holando Argentino se evaluaron con condición corporal:  $2,8 \pm 0,3$  (escala 1 a 5); número de partos:  $1,8 \pm 1,4$ ; post parto:  $72,4 \pm 27,5$  días; producción:  $24,4 \pm 5,3$  L/día, reportando tasa de preñez en las vacas con o sin cuerpo lúteo de 53,8 y 40% respectivamente, observándose la no existencia de efectos en la presencia o no de un CL al momento de colocar los dispositivos. Por lo tanto, el efecto de la presencia de un cuerpo lúteo al inicio del tratamiento de sincronización de celos en este estudio no afectó el porcentaje de preñez significativamente, a pesar de que se refleja una diferencia numérica de 13,8 % siendo mayor en vacas con CL. En vaquillas Holando también se ha evaluado el efecto de dosis de los dispositivos de progesterona (0,558 g y 1 g) sobre el porcentaje de preñez que se obtiene (Callejas *et al.*, 2007), reportándose que el porcentaje de preñez no fue afectado por la dosis de progesterona utilizada ( $P > 0,05$ ) luego de realizar una IATF.

Por su parte se han efectuado experimentos (Cutaia *et al.*, 2001) en vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* y vaquillonas *Bos taurus*, comparando los porcentajes de preñez de vacas tratadas con dispositivos DIB nuevos y dispositivos que habían sido previamente utilizados por 7 días y se reportó efectos significativos entre los dispositivos nuevos y usados ( $P < 0,05$ ); se obtuvo un 49,5% de preñez con los dispositivos nuevos y un 59,7% en los animales a los cuales se les había aplicado un DIB de segundo uso. Por lo tanto, en base a estos resultados y según este biotipo de animales es factible reutilizar los dispositivos DIB por segunda vez en tratamientos de sincronización de celos para IATF. Sin embargo, hay resultados contradictorios al respecto de la temática; tal es el caso de (Cutaia *et al.*, 2003), donde compararon los porcentajes de preñez de vacas ( $n=98$ ) y vaquillonas ( $n=95$ ) Brangus y Braford, que recibieron un DIB nuevo o un DIB previamente utilizado. Todos los animales recibieron 2 mg de BE en el Día 0 del tratamiento y una dosis de PGF en el Día 8 (momento de retirado el DIB). En el Día 9 se inyectó 1 mg de BE IM y todos los animales fueron inseminados entre las 52 y 58 h de retirado el DIB. La tasa de preñez fue de un 57,9% (55/95) en los animales tratados con DIB nuevo contra un 51,0% (50/98) en los animales tratados con DIB usados y en consecuencia no se encontraron diferencias significativas ( $P=0,12$ ) entre los porcentajes de preñez.

Por otra parte en nueva Zelanda se realizaron estudios en vacas lecheras en producción y de parición estacional aplicandoles un dispositivo de liberación de progesterona con 1,56 g de progesterona (Cue-Mate, Bioniche Animal Health) durante 8 d y 2 mg de BE al momento de inserción del dispositivo (Día 0) y 1 mg de EB 24 h después de la remoción del dispositivo (Día 9). A la mitad de estas vacas se les suministró de manera aleatoria 400 UI de eCG (Pregnenol, Bioniche Animal Health) el día de remoción del dispositivo (Día 8) e informaron que utilizando este protocolo a base de progesterona no sólo había una mejora significativa en las tasas de preñez, sino que además se manifestaba, desde el punto de vista práctico, cuáles son los grupos específicos de vacas que tienen más posibilidad de beneficiarse con el tratamiento con eCG. Adicionalmente (Cerriet *et al.*, 2011a), citado por (Santos *et al.*, 2015) reportan que las concentraciones bajas de progesterona resultan en alteraciones en la composición del líquido folicular, alteraciones en la función endometrial (Cerriet *et al.*, 2011b), reducción de la calidad del embrión (Rivera *et al.*, 2011), e índices bajos de preñez (Bisinotto *et al.*, 2010). Bisinotto *et al.*, (2013), en sus trabajos relatan que posiblemente los cambios en las respuestas reproductivas de vacas que ovulan el folículo dominante de la primera onda folicular, sean mediados por la progesterona. Por otra parte numerosos estudios sobre esta temática han evaluado el impacto sobre la fertilidad en vacas lecheras mediante la suplementación con progesterona exógena durante protocolos de IATF. Tal es el caso de (Bisinotto *et al.*, 2013; 2015a), reportando en estos estudios que el aumento de los niveles de progesterona en sangre por encima de 2,0 ng/ml con el uso de dos dispositivos intravaginales restableció la fertilidad de las vacas sin cuerpo lúteo a niveles similares a los de las vacas que se encontraban en diestro. Sin embargo, Bisinotto *et al.*, (2015a), hacen referencia de que se necesita un mínimo de 2,0 ng/ml aproximadamente durante el desarrollo del folículo ovulatorio para así optimizar la fertilidad en aquellas vacas de alta producción. Es probable que esta respuesta explique la falta de beneficio que se obtiene al emplear un solo dispositivo intravaginal, que por lo general se traduce en 0,8 a 1,0 ng/ml en vacas sin cuerpo lúteo tal y como hace referencia (Bisinotto y Santos, 2012).

La tasa de preñez según días de producción tuvo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), siendo las vacas con mayor cantidad de días en producción las que presentaron mayores tasas de preñez (Tabla 6), estos resultados coinciden a los reportado por (Tschopp, 2016), en un estudio realizado en Argentina con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de GnRH al

inicio y al final de un tratamiento con estradiol y dispositivos con progesterona, y la expresión de celos sobre la tasa de preñez de vacas lecheras en lactancia inseminadas a tiempo fijo, en donde también se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon las tasas de preñez en función de los días post parto, con preñeces más bajas en las vacas con menos días post parto. Por lo tanto, pudiéramos señalar que las vacas que se encuentran en pico de producción o cercano a ello presentan menores niveles de hormonas esteroides circundantes en sangre debido al alto metabolismo hepático producto de una mayor ingesta de materia seca (Sangritavong *et al.*, 2002, Wiltbank *et al.*, 2008). Varios estudios realizados en los últimos años, donde también utilizaron diferentes tipos de dispositivos intravaginales para la sincronización de celo también reportan que las tasas de preñez se ven influenciadas en gran manera por el score de condición corporal, los días en lactancia de los animales sincronizados y la producción de leche de las vacas (Bóet *et al.*, 2006, Cavalieriet *et al.*, 2006, Lucy *et al.*, 2004).

Adicionalmente se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos realizados en época seca y lluviosa ( $P < 0,01$ ), (Tabla 3.7). En la época lluviosa y seca se obtuvieron tasas de preñez de 42 y 29,8%, respectivamente. Esa baja en el porcentaje de preñez se atribuye al impacto del estrés calórico en la época seca en comparación con las vacas inseminadas en la época lluviosa. Estos resultados coinciden de cierta forma con lo expresado por trabajos realizados en Argentina, donde también se evaluó el efecto negativo en la tasa de preñez en vacas lactantes producto del stress calórico e informando una baja en la fertilidad en el mes de enero en comparación con los inseminados en el resto del año. Se cree que la causa es multifactorial afectando la función celular de varios tejidos del tracto reproductivo (Wolfenson *et al.*, 2000; Hansen *et al.*, 2001). Algunos estudios realizados al respecto han reportado que en el verano existe un aumento de la co-dominancia folicular (aumento del número de folículos de más de 9 mm) (Sartoliet *et al.*, 2004), disminución de la expresión del estro, con una consecuente disminución en la fertilización y mayor mortalidad embrionaria temprana (Ferreira *et al.*, 2011; Torres Junior *et al.*, 2008).

### CONCLUSIONES

Los resultados de la Tesis de Maestría rechazan la hipótesis de que los dispositivos intravaginales de progesterona, nuevos o de segundo uso mantienen similares concentraciones plasmática de progesterona y dinámica folicular en vacas lecheras en lactancia en la cuenca lechera de Chiriquí-Panamá; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las tasas de preñez, lo cual puede estar relacionado con la condición ovárica de las vacas sincronizadas, debido a que se encontró una diferencia numérica en la tasa de preñez en vacas con presencia de cuerpos luteos al momento de la sincronización con sincrogest usado, siendo mayor en estas en comparación con las que no tenían cuerpos luteos (36% y 32% respectivamente). Es necesario realizar futuras líneas de investigación ampliando el número de vacas sincronizadas y relacionando los resultados con la presencia o ausencia de cuerpos lúteos y el tipo de tratamiento utilizado.

Además, los resultados de los diferentes experimentos de la tesis permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

- La utilización de dispositivos con 1,38 g de progesterona resultan en mayores concentraciones plasmática de esta hormona que los dispositivos con 1 g.
- Los dispositivos nuevos resultan en mayores concentraciones plasmáticas de progesterona que los dispositivos reutilizados.
- La utilización de dispositivos de 1 g de progesterona usados, no mantienen niveles plasmáticos de esta hormona por sobre 1 ng/ml durante los 7 días del tratamiento de IATF en vacas lecheras con niveles productivos de 20 L diarios en promedio (rango 15 a 25 L).
- En vacas Holstein en lactancia con 2,5 de condición corporal (escala 1-5) se obtienen bajas tasas ovulatorias al momento de la IATF. Sin embargo, el desarrollo folicular es mayor utilizando dispositivos con menor concentración de progesterona.

- En vacas con condición corporal de 2,8 (escala 1-5) es posible obtener mejores tasas ovulatorias en comparación con vacas de menor condición corporal (2,5; escala 1-5) al sincronizarlas para IATF. Pero el intervalo a la ovulación es mayor con dispositivos nuevos que con dispositivos usados.
- Las tasas de preñez no difirieron entre los dispositivos de 1 y 1,38 g de progesterona, nuevos y de segundo uso.
- A medida que se incrementan los días postparto, se incrementa la probabilidad de preñez.
- La tasas de preñez es menor en la época seca que en la época lluviosa, indistintamente del tipo de dispositivo utilizado y del uso de estos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Adams G. and Pierson R. 1995. Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. *Theriogenology* 43: 113-120.
- Adams G.P., Matteri R.L. and Kastelic J.P. 1992. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fert.* 94: 177-188.
- Ahmad N., Schrick F.N., Butcher R.L. and Inskeep E.K. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52: 1129-1135.
- Ali Channa, A., Martins J. P., Jimenez-Krassel F., & Pursley J. R. (2017). Inducing sub-luteal circulating concentrations of progesterone and persistent follicles in Holstein heifers and non-lactating cows using a modified CIDR device. *Livestock Science*, 198(February), 191–194.
- Avilés M., Cutaia L., Aliso L., Peres L., and Picinato D. y Bo G. 2005. Efecto de la utilización del DIB con .5 o 1 g de progesterona sobre los porcentajes de preñez en vacas con cría al pie. *Resúmenes 6to Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba*, pp. 396.
- Avilés M., Cutaia L., Doma V., Aba M. y Bo G. 2005a. Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas ovariectomizadas tratadas con dispositivos intravaginales con 0.5 y 1.0 g de progesterona y previamente utilizados. *Resúmenes 6to Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba*, pp. 384.
- Avilés M., Cutaia L., Dorna L., Aba M. y Bo G. 2005b. Concentraciones plasmáticas de progesteronas en vacas ovariectomizadas tratadas con dispositivos intravaginales formulados con diferentes dosis de P4. *Resúmenes 6to Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba*, pp. 385.
- Balla E., Maraña P., Peres L., Picinato D., Borges L. y Bo G. 2005. Efecto del tratamiento con dispositivos intravaginales TRIU-B por 8, 9 y 10 días en programas de IATF en vaquillas cruces cebú. *Resúmenes 6to Simposio de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba*, pp. 389.
- Baruselli P.S., SáFhilo M., Matins C. M., Naser L.F., Nogueira M. F., Barros C. M. and Bó G.A. 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos Indicus* cattle. *Theriogenology*. 65: 77-88.
- Bisinotto R. S., E. S., Ribeiro F. S., Lima N., Martinez L. F., Greco L., Barbosa P. P., Bueno L. F. S., Scagion W. W., Thatcher and J. E. P. Santos. 2013. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the

- initiation of the timed artificial insemination protocol. *J. Dairy Sci.* 96:2214–2225.
- Bisinotto R. S., and Santos J. E. 2012. The use of endocrine treatments to improve pregnancy rates in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 24:258-266.
- Bisinotto S., Chebel C., and Santos P. 2010a. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93: 3578-3587.
- Bleach E.C., Glencross R.G., and Knight P.G. 2004 Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycle. *Reproduction* 127:621–629.
- Bó G.A., Baruselli P.S., and Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10: 137-142.
- Bó G., Cutaia L., Souza A. y Baruselli E. 2009. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. *Taurus* 11:20-34.
- Bó G. y Callejas S. 2008. Sincronización de celos y ovulaciones. En: *Biotecnología de Reproducción*, (2a Ed), Mar del plata, pp.189 – 199.
- Bó. G., Cutaia L., Souza A., Baruselli P. 2008. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. 3° Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. P 95-110.
- Bó G. A., Cutaia L. A., Veneranda G. 2006. Manejo de las Hormonas en los Programas Reproductivos del Ganado Lechero. 6° Congreso Internacional de Especialistas en Bovinos, Torreón, Coahuila, México, November 9 to 11.
- Bó G. A., Baruselli P. S., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tríbulo R., Tríbulo H. and Mapletoft, R. J. 2002 The control of follicular wave development for selfappointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology.* 57: 53-72.
- Bó G., Cutaia L., y Tribulo R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. *Taurus* 14: 10-21.
- Bó G. A. y Caccia M. 2000. Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino (en línea). Córdoba, Argentina. Consultado 14 de oct. 2013. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/ecografia\\_ultrasonido/39-ultrasonografia\\_reproductiva\\_en\\_bovino.htm](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/39-ultrasonografia_reproductiva_en_bovino.htm).
- Bó G.A. y Mapletoft R.J. 1999. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones (en línea). Córdoba, Argentina. Consultado 14 de nov. 2013. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/transplante\\_embrionario/01-control.htm](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/transplante_embrionario/01-control.htm).
- Bó G. A., Adams G. P., Caccia M., Martinez M., Pierson R. A. and Mapletoft R. J. 1995 Ovarian

- follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*. 39: 193–204.
- Bó G. A., Adams G. P., Nasser L. F., Pierson R. A. and Mapletoft, R. J. 1993. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*. 40:225-239.
- Bó G. A., Pierson R. A. and Mapletoft R. J. 1991. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. *Theriogenology*.36: 169-183.
- Burke C. R., Macmillan K. L. and Boland M. P.1996. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Animal Reproduction Science*. 45: 13-28.
- Butler W.R., 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *LivestprodSci*. 83: 211-218.
- Callejas S. 2007. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en rodeos de cría. 1er Seminario de Ganadería NEA. Libro de conferencias, pp. 21-31.
- Callejas S., Ochionero P., González S. y Cledou G. 2007a. Control farmacológico del ciclo estral en vacas Holando argentino en producción utilizando un dispositivo intravaginal con progesterona combinado con benzoato de estradiol o GnRH. Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproduccion Animal, IRAC, Córdoba, pp. 232.
- Callejas S., Ochionero P., González S. y Cledou, G. 2007b. Uso de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de progesterona para controlar el ciclo estral en vaquillonas Holando Argentino inseminadas a tiempo fijo. Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, pp. 233.
- Carter F., N. Forde, Duffy M., Wade T., Fair M. A., Crowe A. C., Evans D. A., Kenny J. F., Roche, and P. Lonergan. 2008. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev*. 20:368–375.
- Cavalieri J., Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shepard RW, Macmillan KL. 2006. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology* 65, 45-64.
- Cavestany D., Costa G., Martínez Barbitta M. 2011. Comparación entre dos fuentes de progesterona (dispositivo intravaginal o inyectable subcutánea) incluidas en un protocolo de sincronización de ovulaciones en vacas Holando posparto, tratadas en fase folicular o luteal del ciclo estral. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buatría, Paysandú, Uruguay, 258 p.
- Cerri R. L., Chebel R. C., Rivera F., Narciso C. D.,Oliveira R. A., Thatcher W. W. and J. E. P. Santos. 2011a. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *J. Dairy Sci*. 94:3342-3351.

- Cerri R. L., Chebel R. C., Rivera F., Narciso C. D., Oliveira R. A., Amstalden M., Baez-Sandoval G. M., Oliveira L. J., Thatcher W. W., and J. E. P. Santos. 2011b. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *J. Dairy Sci.* 94:3352-3365.
- Cerri R. L., Rutigliano H. M., Chebel R. C. and Santos J. E. P. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction*, 137: 813-823.
- Cerri R. L., Rutigliano H. M., Bruno R. G., Santos J. E. 2009. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Anim. Reprod. Sci.* 110:56-70.
- Cerri R. L., Santos, J.E., Juchem, S.O., Galvao, K.N., Chebel, R.C. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87:3704-3715.
- Chagas L.M., Bass J.J., Blache D., Burke C.R., Kay J.K., Lindsay D.R., Lucy M.C., Martin G.B., Meier S., Rhodes F.M., Roche J.R., Thatcher W.W. and Webb, R. 2007. New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 4022-4032.
- Chebel R., Al-Hassan M., Fricke P., Santos J., Lima J., Martel C., Stevenson J., Garcia R., and Ax R. 2010. Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J. DairySci.* 93: 922-931.
- Cledou G., Nosetti L., Callejas S. 2005. Uso de dos dispositivos intravaginales con progesterone para controlar el ciclo estral en vaquillonas sin cuerpo lúteo al momento de coloca el dispositivo. Sexto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, p. 393.
- Clemente M., de la Fuente J., Fair T., A. Al Naib, A. Gutierrez-Adan, Roche J., D., Rizos D. and P. Lonergan. 2009. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction* 138:507-517.
- Cunha A.P., Guenther J.N., Maroney M.J., Giordano J.O., Nascimento A.B., Bas S., Ayres H. and Wiltbank, M.C. 2008. Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. *J DairySci.* 91: 246.
- Cutaia L., Tríbulo R., Alisio L., Tegli J., Moreno D., Bo GA. 2001. Efecto de los Tratamientos con Dispositivos DIV-B Nuevos o Reutilizados en los Índices de Preñez en Vacas y Vaquillonas Inseminadas a Tiempo Fijo (IATF). Resúmenes 4º Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba. pp 244. Abstr.
- Cutaia L., Veneranda, G., Tribulo R., Baruselli P. S y Bó GA. 2003. “Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos”. Vº Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba. 119-132.

- Davoodi S., Cooke R. F., Fernandes A. C. C., Cappellozza B. I., Vasconcelos J. L. M. and Cerri R. L. A. 2016. Expression of estrus modifies the gene expression profile in reproductive tissues on day 19 of gestation in beef cows. *Theriogenology*. 85: 645-655.
- De la Sota R.L., Corva S.G. y Silvestrini M.P. 2011. Descripción de parámetros productivos y reproductivos de usuarios del protambo master 3.0 (DIRSA®).
- De Nava G. (2011). Un manejo reproductivo controlado en tambos del Uruguay. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp.35-43.
- DesCôteaux L., Colloton J. and Gnemmi G. 2010. Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. Iowa, USA. Blackwell Publishing, pp 246.
- Días E. 2011. Panamá. En: El Siglo, Panamá. Agosto, pp 4.
- Di Rienzo. 2011. Análisis de regresión logística- Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Consultado el 16 de mayo de 2016. Disponible en: <http://sites.google.com/site/dirienzojulio>
- Díaz T. 1999. Dinámica del desarrollo folicular ovárico durante el ciclo estral en el bovino. *Rev. Fac. Cien. Vet. UCV*. 40: 3-18.
- Diskin M. G., Morris D. G. 2008. Embryonic and early fetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Dom Anim*. 43:260-267.
- Diskin M. G., Murphy J J. Sreenan J. M. 2006. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *AnimReprod Sci*. 96:297-311.
- Edmonson A. J., Lean I. J., Weaver L. D., Ferver T. and Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci*. 72: 68-78.
- Eicker S.W., Grohn Y. T. and Hertl J.A. 1996. The association between cumulative milk yield, days open, and days to first breeding in New York Holstein cows. *J Dairy Sci*. 79:235-241.
- Evans A., Adams G. and Rawlings N. 1994. Follicular and hormonal development in prepuberal heifers from 2 to 36 weeks of age. *Journal of Reproduction and Fertility*. 102: 463-470.
- Federer W. 1951. Experimental design. Macmillan, New Cork, USA.
- Ferreira R. M., Ayres H., Chiaratti M. R., Ferraz M. L., Araújo A. B., Rodriguez C. A., Watanabe Y. F., Vireque A. A., Joaquim D. C., Smith L.C., Meirelles F.V., Barusselli P.S. 2011. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *J. Dairy Sci.*, 94, 2383-2392.
- Fetrow J., Eicker S. 2003. High production and health-A curious paradox. *BovPract*. 37:128-136.
- Forde N., Beltman M., Lonergan P., Diskin M., Roche J. and Crowe M. 2011. Oestrus cycles in

- Bostaurus cattle. *Animal Reproduction Science*, 124: 163-169.
- Fonseca F., Britt J., Mcdaniel T., Wilk J., and Rakes, A.H. (1983). Reproductive traits of Holsteins and Jerseys - Effects of age, milk-yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J. DairySci.* 66: 1128-1147.
- Fricke P.M. 2001. Manipulación de la Función ovárica (en línea). Wisconsin, USA. Consultado 14 de oct. De 2013. Disponible en: [http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Reproducci%F3n/du\\_605.es.pdf](http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Reproducci%F3n/du_605.es.pdf).
- Gigli I., Russo A. y Agüero A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *In. Vet.* 8: 183-204.
- Ginther O. J., Wiltbank M.C., Fricke P.M., Gibbons J.R., and Kot K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *BiolReprod.* 55: 1187-1194.
- Ginther O.J., Knopf L. and Kastelic J.P. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.* 87:223-230.
- González S., Uslenghi G., Cledou G., Cabodevila J. y Callejas S. 2009. Porcentaje de preñez en vacas con diferentes estructuras ováricas tratadas con dispositivos intravaginales con distintas cantidades de progesterona. *Resúmenes 8vo. Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. Córdoba. 2009.*
- Goodman A. y Hodgen G.D. 1983. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Progress in Hormone Research* 39:1-73.
- Gregory R.M., Melo L., Beskow A., Mattos R.C., Jobim M.I.M., e Gregory J.W. 2009. Dinâmicafollicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo estral na vaca. *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, pp. 29-35.*
- Hafez E.S.E. and Hafez B. 2000. Folliculogenesis, egg maturation, and ovulation. En Hafez ESE, Hafez B (Eds.) *Reproduction in Farm Animals.* Lippincott Williams and Wilkins. Pennsylvania, EEUU, pp. 68-81.
- Hansen P. J., Drost M., Rivera R. M., Paula-Lopez F. F., Al-Katanani Y. M., Krininger III C. E., Chase Jr C. C. 2001. Adverse impact of heat stress on embryo production: Causes and strategies for mitigation. *Teriogenology*, 55: 91-103.
- Hawk, H. W. 1983 Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *Journal of DairyScience*, v. 66, pp. 2645–2660.
- Hidromet. 2014. Datos históricos. Publicado en internet, disponible en [http://www.hidromet.com.pa/clima\\_historicos.php](http://www.hidromet.com.pa/clima_historicos.php). Activo diciembre 2014.
- Ibarra D., Prieto L., Pimienta J., Coronel A., Costa N., Alvarez M. y Kmaid S. 2007. Efectos de la

- sincronización con progesterona sobre la performance reproductiva y productiva en vacas lecheras de alta producción. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal Córdoba, Argentina. pp 247.
- LeBlanc S. 2010. Does higher production imply worse reproduction? *WCDS Advances in dairy technology*. 22: 253-263.
- Lopez H., Satter L.D. and Wiltbank M.C. 2004. Relationship between level of milk production and estrus behavior of lactating dairy cows. *AnimReprod Sci*. 81:209-223.
- López-Gatius F., Santolaria P., Mundet I. and Yániz J.L. 2005. Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology* . 63:1419-1429.
- Lucy M. C., McDougall S, Nation D. P. 2004. The use of treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture based management systems. *AnimReprodSci* 82-83, 495-512.
- Lucy M.C., Jiang H. and Kobayashi Y. 2001. Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. *J Dairy Sci*. 84: 113-119.
- Lucy M.C., Savio J.D., Badinga L., De la Sota R.L. and Thatcher W.W. 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science* 70: 3615-3626.
- Madureira, A.M.L., Silper B.F., Burnett T. A., Polsky L. B., Cruppe L.H., Vasconcelos J.L.M., and Cerri. 2015. Risk factors affecting expression of estrus measured by activity monitors and pregnancy per artificial insemination of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*. 98: 7003-7014.
- Mann G. E. and Lamming G. E. 2000. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Animal Reproduction Science*. 64: 171–180.
- Melo L. F., Monteiro P. L., Surjus J. R. S., Drum J. N., Wiltbank M. C., and Sartori R. 2016. Progesterone-based fixed-time artificial insemination protocols for dairy cows: Gonadotropin-releasing hormone versus estradiol benzoate at initiation and estradiol cypionate versus estradiol benzoate at the end. *J. DairySci*. 99:1–11.
- MIDA. 2011. Plan estratégico para el desarrollo del subsector lechero, 2007 – 2013.
- Monteiro P. L., Borsato J. Jr., M., Silva F. L. M., Prata A. B., Wiltbank M.C. and R. Sartori. 2015. Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. *J. Dairy Sci*. 98: 3826–3839.
- Morton J. M. 2006. Potential bias in observed associations between milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Proc 11th IntSymp Vet Epidem Econ*.
- Murphy M.G., Enright W.J., Crowe M. A., McConnell K., Spicer L. J., Boland M. P. and Roche J. F. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the

- oestrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 92: 333-338.
- O'Rourke M., Diskin M.G., Screenan J. M. and Roche J. F. 2000. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of estradiol and FSH. *Anim. Reprod. Sci.* 59:1-12.
- Pereira M. H., Rodrigues A. D., Martins T., Oliveira W. V., Silveira P.S., Wiltbank M.C., and Vasconcelos, J.L. 2013a. Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. *J. Dairy Sci.* 96: 6904–6914.
- Pereira M. H., Rodrigues A. D., De Carvalho R. J., Wiltbank M. C., and Vasconcelos J.L. 2014. Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97: 1454–1464.
- Perry G. A., Swanson O. L., Larimore E. L., Perry B. L., Djira G. D. 2014. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 48, 15-20.
- Pohler K.G., Geary T.W., Atkins J.A., Perry G.A., Jinks E.M. and Smith M.F. 2012. Follicular determinants of pregnancy establishment and maintenance. *Cell Tissue Res.* 349: 649-664.
- Quintela L.A., Días C., Garcia P., Peña A. and Becerra J.J. 2006. *Ecografía y reproducción en la vaca.* Santiago de Compostela, España. Universidad de Santiago de Compostela, pp 92.
- Rajakoski E. 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinologica*, 34: 1-68.
- Rathbone M. J., Bunt C. R., Ogle C. R., Burggraaf S., Macmillan K. L., Burke C. R., and Pickering K. L. 2002. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *J. Control. Release* 85:105-115.
- Revah I., and Butler W.R. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod. Fertil.* 106: 339-347.
- Roa N., Linares T., Barrios D., Ramirez M. and Tamasauka R. 1997. Plasmatic progesterone determination by ELISA assay in bovine embryo recipient heifers. *Rev. cient.FCV-LUZ.* 7:133-138.
- Robinson R.W., Mann G.E., Lamming G.E., and Wathes D.C. 2001. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrus cycle and pregnancy in cows. *Reproduction* 122: 965-979.
- Rogan D., Martinez M. F., Bó G. A, Chesta P., Feresin F. Mapletoft R. J. 2007. Progesterone release patterns from Cue-Mate in comparison to other intravaginal progesterone-releasing devices in lactating dairy cows. *Reproduction Fertility and Development* 19, 126-127.
- SáFilho M.F., Baldrighi J.M., Sales J.N., Crepaldi G.A., Carvalho J.B.P., Bo G.A. and Baruselli

- P.S. 2011. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for Bos indicus cattle. *Animal Reproduction Science*. 129: 132-139.
- Sangsrivavong S., Combs D.K., Sartori R.F., Armentano L.E. and Wiltbank M.C. 2002. High Feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol 17 $\beta$  in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **85**, 2831-2842. X Simposio Internacional de Reproducción Animal – IRAC, pp. 90.
- Santos J. y Bisinotto R. 2015. Eficacia de los tratamientos con progesterona en vacas lecheras de alta producción XI Simposio Internacional de Reproducción Animal – IRAC. P 167-180.
- Sartori R., Bastos M.R., and Wiltbank M.C. 2010. Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 22:151-158.
- Sartori R., Suarez-Fernandez C. A., Monson R. L., Guenther J. N., Rosa G. J. M., and M. C. Wiltbank. 2003. Improvement in recovery of embryos/ova using a shallow uterine horn flushing technique in superovulated Holstein heifers. *Theriogenology* 60:1319–1330.
- Savio J. D., Boland M. P. and Roche J. F. 1990. Developmental of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 88: 581-591.
- Savio J. D., Keenan L., Boland M. P. and Roche J.F. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 83: 663-671.
- Searle S. 1971. *Linear models*. John Wiley & sons, Inc. New York, USA.
- Siriois J. and Fortune J.E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. *Biology of Reproduction*. 39: 308-317.
- Steel R. and Torrie J. 1980. *Principles and procedures of statistics: A biometrical approach*. 2<sup>nd</sup> Edition. McGraw-Hill Book Company. New York, USA.
- Souza A.H., Viechnieski, S., Lima F. A., Araujo R., Bó G.A., Wiltbank M.C. and Baruselli P.S. 2009. Effects of equine gonadotropin and type of ovulatory stimulus (GnRH or ECP) on progesterone-based timed AI protocols in dairy cows. *Theriogenology*. 72: 10-21.
- Sunderland S.J., Crowe M.A., Boland M.B., Roche J.F. and Ireland J.J. 1994. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal Reproduction and Fertility*. 101: 547-555.
- Tatcher W. W., Bilby T. R., Bartolome J. A., Silvestre F. Staples C. R., and Santos E. E. 2006. Strategies for improving fertility in the modern dairy cows. *Theriogenology*. 65: 30-40.
- Taylor C. and R. Rajamahendran. 1991. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 61-68.
- Torres-Júnior J. R., Penteadó L., Sales J. N., SáFilho M. F., Ayres H. and Baruselli, P. S. 2014.

- Comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. *Animal Reproduction Science*.151: 9-14.
- Tschopp J. C. (2016). Efecto de la expresión de celos y la adición de GnRH sobre la tasa preñez en vacas holando argentino en lactancia sincronizadas con estradiol y dispositivos con progesterona (Tesis de Maestría). Instituto de Reproducción Animal de Córdoba Argentina (IRAC).
- Vasconcelos J. L. M., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56:307–314.
- Vater A., Aguilar R. S., Otero I. M., Cadodevilla J. y Callejas S. 2007a. Efecto de la estructura ovárica predominante al momento de colocar dispositivos intravaginales con progesterona nuevos o usados sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, pp. 239.
- Vater A., Aguilar R., Cifuentes A. y Cutia L. 2007b. Efecto de la utilización de benzoato de estradiol o de GnRH y de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de P4 sobre los porcentajes de preñez a la IATF en vacas Holando lactando. Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, pp. 256.
- Veneranda G., Filippi L., Racca D., Romero G., Balla E., Cutaia L., Bó GA. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. *Reprod, Fertil Dev* 18,118, 2006.
- Walsh S. W., Williams E. J. and Evans A. C. 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *AnimReprod Sci*. 123: 127-138.
- Webb R., Garnsworthy P., Gong J. and Armstrong D. 2004. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science*. 82: 63-74.
- Wiltbank M. C., Souza, Carvalho P. D., Cunha A. P., Giordano J. O., Fricke P. M. , Baez G. M. and DiskinM. G.. 2014. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 8:70–81.
- Wiltbank M. C., and Pursley J. R. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 81:170–185.
- Wiltbank M., Souza A., Carvalho P.D., Bender B. and Nascimento A. 2013. Cómo mejorar la fertilidad a la IATF mediante la manipulación de las concentraciones de progesterona circulante en el ganado lechero. 10° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, pp. 77-90.
- Wiltbank M. C., Sartori R., Herlihy M. M., Vasconcelos J. L., Nascimento A. B., Souza A. H., Ayres H., Cunha A. P., Keskin A., Guenther J. N. and Gumen A. 2011. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 76:1568–1582.

- Wiltbank M.C., Cunha, A.P., Souza, A.H., Lopez, H., Sartori, R., Gumen, A., Piccinato, C., Sangsritavong, S., 2008. Mechanisms underlying the effect of milk production on duration of estrus and other reproductive traits in lactating dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 20.
- Wiltbank M., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S. and A. Gumen. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17–29.
- Wiltbank M.C., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S. and Gümen A. 2005. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*. 65:17-29.
- Wiltbank, M.C., Pursley, J.R. and Fricke P.M. 1996. Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. *Proceedings of the XV annual convention AETA*, pp 62.
- Wikipedia. 2014. Volcán-Chiriquí. Publicado en internet, disponible en [https://es.wikipedia.org/wiki/Volc%C3%A1n\\_\(Chiriqu%C3%AD\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Volc%C3%A1n_(Chiriqu%C3%AD)). Activo agosto 2014.
- Wolfenson D., Roth Z., Meidan R. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: Basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 535-547.
- Zeitoun M. M., Rodriguez H. F. and Randel R. D. 1996. Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology*. 45: 1577-1581.