



TITULO: SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACION CON IATF EN VACAS CON CRÍA UTILIZANDO PROTOCOLOS QUE COMBINAN PROGESTERONA CON ESTRADIOL O GNRH: EFECTO DE LOS DÍAS POSTPARTO, CICLICIDAD Y CONDICIÓN CORPORAL

INTEGRANTES

FIRMA

Dr. Julián A. Bartolomé
Dra. M. Guillermina Bilbao
M.V. Luis O. Zapata
M.V. Hernán Romero Harry
M.V. M. Florencia Farcey
M.V. Karen D. Morán
Vilma Mángano
Leavi, Víctor
Braian Gallinger
María Cristina Troncoso
Camila Jauge
Maripán, Lucas
Franco, Gabriel

[Handwritten signatures in blue ink, corresponding to the names listed in the 'INTEGRANTES' column.]



(No llenar)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: sincronización de la ovulación con IATF en Vacas con cría utilizando protocolos que combinan progesterona con estradiol o gnRH: efecto de los días postparto, ciclicidad y condición corporal.

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS:

- Laboratorio de Reproducción, Cátedra de Reproducción, Departamento de Producción Animal, FCV-UNLPam.
- CIDEF, FCV-UNLPam.
- Departamento de Laboratorios – Histopatología, FCV-UNLPam.

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:

- Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) “Ing. Agr. Guillermo Covas”, Anguil, La Pampa.
- CONICET.

2.3. EQUIPO de TRABAJO: (En el caso de tratarse de un Plan de Tesis Doctoral o Tesis de Maestría, complete solamente el cuadro 2.3.5.)

2.3.1 . INTEGRANTES

Apellido y Nombre	Título Académico	Cat Inv.	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac. Hs./Sem
Bartolomé, Julián A.	Dr.	3	D	Cat. Reproducción	Adjunto Exc.	10h
Bilbao, M.	Dr.	4	CD	Invest. Excl. Conicet	Adscr. CIDEF	10 h
Guillermina	M.V.	5	I	Cat. Reproducción	Ayte 1 simple	5 h
Zapata, Luis O.	M.V.	-	I	Graduado FCV-UNLPam	Inv. Exc. INTA.	2 h
Romero Harry,	M.V.	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	4 h
Hernán. Farcey, M.	M.V.	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2 h
Florencia.	Estudiante	-	AI	Cat. Reproducción	Pasante Exactas	5 h
Morán, Karen D.	M.V.	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2 h
Leavi, Víctor	Estudiante	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2 h

Gallinger, Braian
Troncoso, María
Cristina



Jauge, Camila Lara	Estudiante	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2h
Maripán, Lucas	Estudiante	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2h
Franco, Gabriel	Estudiante	-	AI	Cat. Reproducción	Adscr. Simple	2h

(1) D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

2.3.1. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

2.3.2. TESISISTAS:

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
Zapata, Luis O.	Doctor en Medicina Veterinaria	Sincronización de la ovulación con IATF en vacas con cría utilizando protocolos que combinan progesterona con estradiol o GnRH: efecto de los días postparto, ciclicidad y condición corporal.	Univ. Nac. De La Plata, UNLP	Dra. Vanina L. Madoz	5 h

2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
Mángano, Vilma	Laboratorio. Jefe Dpto. de Laboratorios, FCV-UNLPam	5 h

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.



Mádoz, Vanina L. Bartolomé, Julián A. Zapata, Luis O.	Director Co-Director Tesisista	Sincronización de la ovulación con IATF en vacas con cría utilizando protocolos que combinan progesterona con estradiol o GnRH: efecto de los días postparto, ciclicidad y condición corporal.	5 h 10 h 5 h
---	--------------------------------------	--	--------------------

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 3 AÑOS

3.1. FECHA de INICIO: 01 / 01 / 2018 FINALIZACIÓN: 31 / 12 / 2020

4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)

El propósito de este trabajo es comparar la dinámica folicular, porcentajes de ovulación y concepción en respuesta a protocolos que combinan GnRH y progesterona por 5 días, con los que utilizan estrógenos y progesterona por 7 días, en vacas con cría al pie. Se trabajará durante los meses de noviembre-enero en tres años consecutivos, en las instalaciones de INTA Anguil con un rodeo de raza británica, con más de 30 días de posparto, alimentado a pasto llorón y disponibilidad de agua ad libitum. Los animales se asignarán al azar a: i) Grupo 7-días: dispositivo intravaginal de progesterona y benzoato de estradiol (Día 0), retiro de dispositivo, D-cloprostenol y cipionato de estradiol (Día 7) e IATF (Día 9); ii) Grupo 5-días: dispositivo de progesterona y gonadorelina (Día 1), retiro de dispositivo y primera de dos dosis de D-cloprostenol separadas por 24 h (Día 6) y gonadorelina seguida de IATF (Día 9). Se tomarán datos de condición corporal, ciclicidad, días posparto, espesor de grasa dorsal, endometritis clínica y subclínica y se analizará: i) tamaño del folículo preovulatorio (mm); ii) porcentaje de ovulación; iii) porcentaje de concepción a primer servicio, lo que permitirá determinar la mejor estrategia reproductiva del rodeo.

4.1 Palabras claves: (de 4 a 6)

VACAS DE CRÍA / PROGESTERONA / GnRH / ESTRADIOL / DÍAS POSPARTO / CICLICIDAD

4.2 Abstract en Inglés: (Máximo 200 palabras) Res.N° 097-CS-12.

The aim of this study is to compare follicular dynamics, ovulation rates and pregnancy rates per AI in response to protocols that combine GnRH and progesterone for 5 days or traditional protocols that combine estradiol and progesterone for 7 days in suckled beef cows. All experimental procedures will be realized between November-January of three consecutive years with the commercial herd of INTA Anguil. For that, suckled beef cows with more than 30 postpartum days, grazing natural pastures and water ad libitum, will be randomly allocated



in two experimental groups: cows in to 7-day Experimental Group will receive oestradiol benzoate and progesterone device on day 0, device removal D-cloprostenol and oestradiol cypionate on day 7, and fixed AI at day 9; cows in 5-days Experimental Group will receive progesterone device and gonadoreline on day 1, device removal and the first of two 24 h apart PGF 2 alpha dose on day 6, and gonadoreline and FTAI on day 9. Body condition score, ciclicity, postpartum days, backfat thickness, clinical and subclinical endometritis will be recorded and dominant follicle diameter, ovulation rate and pregnancy rate per AI will be analyzed to assess the best reproductive strategy for the herd.

4.3. Key words: (de 4 a 6)

Suckled beef cows / PROGESTERONE/gnrh / oestradiol / POSTPARTUM / CICLICITY

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA

La inseminación artificial (IA) es una herramienta eficiente para introducir características genéticas de interés productivo. Combinada con protocolos de sincronización de la ovulación, que evitan la detección de celo, la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), aumenta notablemente el número de vacas inseminadas, lo que potencialmente conlleva a una mayor cantidad de vacas paridas al inicio de la temporada de partos, cuyos terneros poseen mayor peso al momento del destete. Datos recogidos en nuestro país demuestran que, cuando la IATF se aplica adecuadamente en vaquillonas o vacas de 45 a 70 días posparto en buena condición corporal, los porcentajes de preñez superan el 50 % (Bó and Baruselli 2014).-

Básicamente, hay dos tipos de protocolos que se usan en la actualidad para sincronizar ovulación en ganado de cría, los que se basan en el uso de hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), y los que utilizan estrógeno como base. La elección entre protocolos de sincronización basados en estrógenos o en GnRH depende principalmente del acceso a hormonas (Bó, Baruselli, and Mapletoft 2013). En nuestro país, aún pueden sincronizarse rodeos utilizando derivados de estradiol, aunque esa opción es inviable en América del Norte y Europa. Mientras la utilización de estrógenos en ganado vacuno sea permitida en Argentina, los protocolos basados en GnRH no solo se posicionan como una buena herramienta de reemplazo, sino como primera opción en situaciones en que aventajen a los primeros en lograr elevados porcentajes de preñez, y/o viceversa. En los protocolos basados en GnRH, la discusión se ha orientado a especular con el efecto de incrementar el proestro para favorecer la preñez. En ese sentido, la comparación entre protocolos de 7 días o 5 días ha arrojado resultados muy interesantes.-

La incorporación de dispositivos de progesterona en protocolos de IATF reduce la proporción de vacas con fases luteales cortas luego de la IA (Stevenson and Lamb 2016), favorece la manifestación de celo y permite que se alcancen buenos niveles de progesterona (Lamb et al. 2001), aumentando así el porcentaje de preñez en vacas con cría al pie (Echternkamp and Thallman 2011), y también en vaquillonas (Lamb et al. 2006).-

En vacas de cría en posparto, los porcentajes de preñez por IA alcanzados en animales tratados con un protocolo de 5 días más dispositivo de progesterona e inseminación a las 72 h han sido más elevados en comparación a los alcanzados con protocolos de 7 días más dispositivo e inseminación



a las 60 h, por lo que la disminución en el tiempo entre la primera dosis de GnRH y la PGF 2α y el incremento en el tiempo entre la administración de PGF 2α y la IA parece favorecer la concepción (Bridges et al. 2008), permitiendo a su vez que manifiesten celo antes de la IA (Whittier et al. 2013). Son varios los trabajos que dan cuenta de mayores porcentajes de preñez alcanzados con protocolos de 5 días en combinación con dispositivo intravaginal de progesterona en vacas de cría (Bridges et al. 2008; Whittier et al. 2013; Gunn et al. 2016).-

Sin embargo, es necesario considerar varios factores que condicionan la respuesta a los protocolos de IATF con dispositivo de progesterona. Por ejemplo, se ha visto que la preñez por AI fue menor en vacas de baja condición corporal (Whittier et al. 2013). Este factor, junto al anestro posparto, son los que más perjudican los porcentajes de preñez (Bó and Baruselli 2014). Para alcanzar valores de preñez deseables en un programa de IATF, es necesario que las vacas posean una buena condición corporal (≥ 3 en la escala de 1 al 5) cerca de cumplirse el primer mes de postparto (Moraes, Jaume, and De Souza 2007). Algunos trabajos indican que vacas que inician protocolos de sincronización ciclando, es decir con niveles de progesterona en sangre ≥ 1 ng/ml, tienen más chances de preñarse (Geary et al. 2001; Bridges et al. 2012). Si bien, la exposición a progesterona es un prerrequisito para favorecer el primer celo posparto en una gran proporción de vacas con cría al pie (Lamb et al. 2010), se ha documentado que el nivel de progesterona al momento del inicio de la sincronización no afecta la preñez en vacas multíparas, pero sí en primíparas (Stevenson et al. 2015; Stevenson and Lamb 2016).-

Otro de los factores que deben controlarse es el estado del útero al inicio de los programas de IATF. La inflamación del endometrio identificada por la presencia de descarga vaginal purulenta ($>50\%$ pus) o mucopurulenta (aproximadamente 50% pus, 50% mucus) más allá del día 21 de postparto, sin signos sistémicos, es considerada evidencia de endometritis clínica (Sheldon et al. 2006; Westermann et al. 2010). La endometritis subclínica se diagnostica en función del % PMN presentes en un extendido vaginal, en ausencia de los signos clínicos de enfermedad. El relevamiento de endometritis subclínica en vacas de cría es muy escaso, pero se reporta un puto de corte de 5,5 % PMN con buen valor predictivo (Santos et al. 2009).-

Por lo tanto, es importante esclarecer cómo los días postparto, ciclicidad y condición corporal afectan al porcentaje de preñez por IATF en vacas con cría al pie.-

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO

DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

Resultados obtenidos en trabajos realizados en rodeos de cría, publicados en revistas nacionales e internacionales indexadas

1.- Bilbao MG, Massara N, Ramos S, Zapata LO, Farcey MF, Pesóa J, Turic E, Vazquez ME, Bartolomé JA. "Extending the duration of treatment with progesterone and treatment with eCG improves fertility in suckled beef cows with low body condition score subjected to timed artificial insemination". *Theriogenology*, 2016. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.02.003.

Resultados obtenidos en trabajos realizados en rodeos de cría, publicados en actas de congresos nacionales e internacionales

1.- Bilbao MG, Blanco Sereno, M; Massara, N; Zapata, L; Castro, V; Suárez, A; Prado, F; Borrego, C; Fernández, P; Bartolomé, JA. "Efecto del tratamiento extendido con Progesterona sobre el



crecimiento folicular en vacas de cría”. Presentado en II Congreso Internacional de la Sociedad Argentina de Tecnologías Embrionarias (SATE) Buenos Aires, Argentina, 29-30/Mayo, 2014.

2.- Zapata LO, Romero Harry H, Farcey MF, Beierbach R, Gelid L, Borrego CD, Regalado JM, Bilbao MG, Bartolomé JA. “Tasas de concepción en vacas con cría al pie utilizando protocolos con estrógenos o GnRH para sincronizar la ovulación”. Presentado en I Congreso De La Sociedad Latinoamericana De Reproducción Animal - SOLARA, 25- Buenos Aires, Argentina, 28/Marzo, 2015.

3.- Blanco Sereno M, Zapata LO, Bilbao MG, Calvo CD, Morán KD, Borrego CD, Bartolomé JA. “Evaluación de la fertilidad en vaquillonas para carne utilizando diferentes protocolos para sincronización de la ovulación e IATF combinando progesterona con estrógenos o GnRH”. Presentado en XI Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Córdoba, Argentina, 13-15/Agosto, 2015, ISBN: 978-987-22915-9-4.

4.- Zapata LO, Romero Harry H, Bilbao MG, Farcey MF, Baierbach R, Gelid L, Borrego CD, Gonzales Tapia P, Regalado JM, Bartolomé JA. “Efecto de la utilización de protocolos con estrógenos o GnRH para sincronización y resincronización de la ovulación con IATF sobre la fertilidad de vacas con cría al pie”. Presentado en XI Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Córdoba, Argentina, 13-15/Agosto, 2015, ISBN: 978-987-22915-9-4.

5.- Zapata LO, Romero Harry H, Gelid L, Bilbao MG, Ramos S, Farcey MF, Massara N, Pesó J, Turic E, Bartolomé JA. “Extended progesterone treatment in suckled beef cows submitted to a timed artificial insemination protocol”. Presentado en XXXVIII Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Santa Rosa, La Pampa, 23-25/Septiembre, 2015.

Resultados obtenidos en trabajos realizados en rodeos de cría, publicados en Jornadas de Ciencia y Técnica de la UNLPam

1.- Bilbao MG, Zapata L, Blanco Sereno M, Castro V, Suárez A, Prado F, Borrego C, Fernández P, Bartolomé JA. “Efecto de un tratamiento extendido de Progesterona sobre la reanudación de la ciclicidad posparto en vacas de cría”. VIII Jornada De Ciencia y Técnica - I Jornada Interinstitucional Facultad de Ciencias Veterinarias - Facultad de Ingeniería UNLPam. Gral. Pico, LP, Argentina, 12/Diciembre, 2013. ISBN 978-950-863-297-4.

2.- Zapata LO, Romero Harry H, Gelid L, Bilbao MG, Farcey MF, Rial C, Alza F, Borrego CD, Regalado JM, Bartolomé JA. “Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas de cría utilizando diferentes estrategias de sincronización de la ovulación”. “Veinte años de las Jornadas de Ciencia y Técnica”, Facultad de Ingeniería UNLPam, Gral. Pico, LP, Argentina, 14/Octubre, 2016.

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

1.- Utilización de dispositivos de progesterona específicos para el tratamiento del anestro y el incremento de la fertilidad en vacas. Director: Dr. Julián A. Bartolomé.PICTO-UNLPam 2011-0238 (FONCYT):

2.- Desarrollo de tecnologías no inyectables para incrementar la productividad de carne y leche a través de mejoras en la sanidad y el bienestar animal. Director: Esteban Turic. Aprobado por

Resolución ANPCYT 269/15 del 26 Mayo 2015. FONARSEC-FITR 2013-Plan “Argentina Innovadora 2020”. En curso.



3.- Caracterización y estrategias farmacológicas para mejorar los problemas de fertilidad en rodeos lecheros. Del 01/01/2014 al 31/12/2016. Becario: Sebastián Ramos. Director: Dr. Julián A. Bartolomé. UNLPam Res. 362/13 CD.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

Problema científico:

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) es una herramienta que permite el mejoramiento genético del rodeo. Los protocolos que sincronizan la ovulación permiten la inseminación artificial sin necesidad de detectar celos y a su vez, pueden inducir la ciclicidad durante el postparto temprano y reducir el intervalo parto-concepción con el correspondiente aumento en los kilogramos de ternero destetados.-

El protocolo más utilizado en vacas con cría al pie incluye la combinación de estrógenos y progesterona por 7 u 8 días¹. Este protocolo logra tasas de concepción aproximadas de 50 % cuando se aplica al inicio de la temporada de servicios. En los últimos años, la combinación de GnRH y progesterona durante 5 días² ha sido utilizada en países donde los estrógenos no están permitidos logrando resultados también aproximados al 50 %. A su vez, estos protocolos han sido utilizados en resincronización para un segundo servicio por inseminación artificial.-

No está claro como los días postparto, ciclicidad y condición corporal podrían afectar los resultados obtenidos por ambos protocolos que a su vez, no han sido comparados en rodeos de cría de raza británica de la Región Pampeana.-

Hipótesis

Los días posparto, la ciclicidad y la condición corporal afectan en forma diferencial el porcentaje de concepción logrado por protocolos que utilizan una combinación de progesterona y estradiol por 7 días o progesterona y GnRH por 5 días para sincronizar la onda folicular y la ovulación, y realizar IATF en vacas con cría. Los protocolos con estradiol elevan el porcentaje de preñez en vacas en anestro, mientras que los que utilizan GnRH son más efectivos en vacas cíclicas y con buena condición corporal.-

Objetivos

El objetivo general del presente trabajo es comparar la dinámica folicular, porcentajes de ovulación y concepción en respuesta a protocolos que usan GnRH y progesterona por 5 días, con los tradicionales que utilizan estrógenos y progesterona por 7 días, ambos en primer servicio, en vacas con cría al pie.-

Los objetivos específicos son:

- 1.- Comparar los porcentajes de preñez a primer servicio obtenidos en respuesta a ambos protocolos, considerando los días postparto, la ciclicidad y la condición corporal.-
- 2.- Evaluar el efecto de los protocolos de sincronización sobre la dinámica folicular y el porcentaje de ovulación.-



3.- Caracterizar y evaluar el efecto diferencial de los días posparto (35 días vs. 45 días) sobre los porcentajes de preñez en respuesta a ambos protocolos en primer servicio.-

Resultados esperados

Se espera determinar en qué forma la condición corporal, la ciclicidad y los días posparto al inicio de la sincronización afectan la respuesta a los protocolos que combinan Progesterona con Estradiol o con GnRH y, en función de esta información, brindar a médicos veterinarios y productores de la zona las herramientas concretas que les permitan elegir entre uno u otro protocolo, en función de las condiciones de su rodeo, para lograr los mayores rindes.-

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.

Población en estudio:

Los ensayos se realizarán durante los meses de noviembre-enero en tres años consecutivos, en las instalaciones de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) “Ing. Agr. Guillermo Covas”, situado en Ruta Nacional N° 5 Km. 580, Anguil, La Pampa. Se utilizará un rodeo de animales de razas británicas, con más de 30 días de posparto, alimentado por pastoreo de pasto llorón y campo natural sin suplementos dietarios, y disponibilidad de agua ad libitum. Todos los procedimientos experimentales se realizarán conforme a las normas establecidas por la Resolución 247/11 del Comité de Ética en Investigación en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam) y de acuerdo a “GuidefortheCare and Use of AgriculturalAnimals in AgriculturalResearch and Teaching”.-

Protocolos de sincronización:

Se seleccionarán vacas con cría al pie con más de 30 días de posparto y se asignarán al azar a uno de los siguientes grupos experimentales de sincronización:

- Grupo 7-días: el Día 0 recibirán un dispositivo intravaginal de progesterona (DIB® 0,5 g, Zoetis SRL, Argentina) y 2 mg de benzoato de estradiol (2 mL, i.m., Benzoato de Estradiol Zoetis SRL, BE); el Día 7 se retirará el dispositivo y se administrará una dosis de 0,5 mg de D-cloprostenol (2 mL, i.m., Ciclase DL®, Zoetis SRL) y 0,5 mg de cipionato de estradiol (1 mL, i.m., Cipiosyn®, Zoetis SRL, CE). El Día 9 se realizará IATF.-

- Grupo 5-días: el Día 1 recibirán un dispositivo de progesterona y una dosis de 0,1 mg de gonadorelina (2 mL, i.m., Gonasyn GDR®, Zoetis SRL); el Día 6 se retirará el dispositivo y se administrará la primera de dos dosis de 0,5 mg de D-cloprostenol separadas por 24 h; el Día 9 se administrará 0,1 mg de gonadorelina, seguida de IATF.-

Criterios de exclusión:

Se excluirán animales con patologías severas, que estén sometidos a tratamientos sistémicos o intravaginales, que hayan abortado o desarrollado patologías durante el periparto como distocia o retención de membranas fetales y que no hayan completado el protocolo de sincronización.-

Ensayo1:



Se incluirán 150 animales en cada grupo de sincronización. Se diagnosticará gestación por ultrasonografía transrectal los Días 28-29 post IATF y 35 días post re-IATF.-

El Día 0 se registrará condición corporal en una escala de 1 a 9⁵, y en base a los hallazgos de palpación, ultrasonografías y niveles de progesterona plasmática, se caracterizará el estadio del ciclo estral (diestro, metaestro, proestro, estro, anestro superficial y profundo)⁶. Para las ultrasonografías, se utilizará un ecógrafo con transductor lineal transrectal de 5 MHz (HONDA HS-101v, IMG Advantage S.A., Argentina).-

La toma de muestras de sangre se realizará conforme la hemos descrito en trabajos previos⁷. Brevemente, las muestras se obtendrán por punción de la arteria o vena coccígea en tubos recubiertos con EDTA (Vacutainer1; BD, Franklin Lakes, NJ, USA) y se mantendrán a 4 °C hasta su traslado al laboratorio. Se centrifugarán a 3000 x g por 30 min para recuperar el sobrenadante, y el plasma se almacenará a -20 °C hasta su posterior utilización. La determinación de progesterona plasmática se realizará por radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida, utilizando el kit SIEMENS (Siemens HealthcareDiagnostics Inc. Los Angeles, CA 90045 USA).-

En una sub-muestra (ciclado: n=30; en anestro: n = 30) se realizarán ultrasonografías cada 24 h entre los Días 0 a 9 para monitorear el crecimiento folicular y a los 7 días post IATF para confirmar ovulación.-

Ensayo2:

Se incluirán 150 animales en cada grupo de sincronización. Al igual que en el Ensayo 1, se diagnosticará gestación por ultrasonografía transrectal los Días 28-29 post IATF y 35 días post re-IATF.-

El Día 0 se registrará condición corporal y en base a los hallazgos de palpación y ultrasonografías se caracterizará el estadio del ciclo estral⁶. Para realizar las ecografías de grasa dorsal (EGD), se utilizará un ecógrafo con transductor lineal ASP con peine de 18 cm y frecuencia de trabajo de 3,5 MHz (Pie Medical Falco Vet 100, IMG Advantage S.A., Argentina).-

En una sub-muestra (ciclado: n=30; en anestro: n = 30) se realizarán ultrasonografías cada 24 h entre los Días 0 a 9 para monitorear el crecimiento folicular y a los 7 días post IATF para confirmar ovulación.-

Ensayo3:

Se incluirán 120 animales en cada grupo de sincronización. Al igual que en los ensayos previos, se diagnosticará gestación por ultrasonografía transrectal los Días 28-29 post IATF y 35 días post re-IATF.-

El Día 0 se registrará condición corporal y se caracterizará el estadio del ciclo estral, como se describe en los ensayos previos.-

En una sub-muestra de animales con 35 ± 2 días posparto (Grupo 7-días: n=10; Grupo 5-días: n =10) o con 45 ± 2 días (Grupo 7-días: n=10; Grupo 5-días: n =10) se realizará ecografías, metrichcek, cytobrush y biopsia uterina (n= 5 por grupo) al Día 0. La presencia o ausencia de



descarga vaginal purulenta se evaluará como criterio diagnóstico en base a una escala en la que se asignará 0 al mucus claro translúcido sin olor, 1 al mucus claro pero con flóculos de pus blanco, 2 al exudado que contenga 50 % de pus blanco cremoso, y 3 al exudado con más del 50 % de pus cremoso blanco o sanguinolento y olor fétido^{8,9,10,11,12}.-

Las muestras de endometrio se colectarán mediante la técnica de cytobrush, previamente descrita^{12,13,14}. Brevemente, un cepillo cytobrush (Medibrush XL, Medical Engineering Co. SA, Buenos Aires, Argentina) atornillado en una varilla de metal y protegido por un catéter plástico por encima del cual se colocará una camisa sanitaria, se introducirá en la cavidad uterina. La camisa y el catéter se retraerán permitiendo que el cepillo entre en contacto con la superficie del endometrio. Los portaobjetos se prepararán descargando el material recogido por el cepillo, secando al aire y fijando en el momento con alcohol etílico en aerosol (Roby®, Argencos S.A., San Martín, Argentina). Las muestras se teñirán con una coloración panóptica (Color Fast Kit, Biopack® Productos Químicos, Zárate, Buenos Aires, Argentina). El porcentaje de polimorfonucleares (% PMN) se determinará respecto de 200 células nucleadas (presumiblemente endometriales, macrófagos, linfocitos y PMN) bajo una magnificación de 400x (Nikon, Eclipse Ni, Tokio, Japón) por dos operarios de manera independiente^{9,10,15,16}.-

La inflamación del endometrio identificada por la presencia de descarga vaginal purulenta (> 50% pus) o mucopurulenta (aproximadamente 50% pus, 50% mucus) más allá del día 21 de posparto, sin signos sistémicos, es considerada evidencia de endometritis clínica^{9,17}. La endometritis subclínica se diagnostica en función del % PMN presentes en un extendido vaginal, en ausencia de los signos clínicos de enfermedad. Si bien existen en la bibliografía distintos puntos de corte, principalmente establecidos en vacas lecheras^{9,12,18,19}, en este estudio correlacionaremos % PMN con el aumento de días en el intervalo parto a primer servicio o la disminución en los porcentajes de concepción²⁰. El relevamiento de endometritis subclínica en vacas de cría es muy escaso, pero se reporta un punto de corte de 5,5 % PMN con buen valor predictivo²¹.-

Se colectarán muestras de endometrio utilizando una pinza de biopsia Tipo Wittner para histología. Se colocarán en formol al 10 % y luego de ser incluidos en parafina serán teñidas con hematoxilina-eosina, se evaluarán y cuantificarán los cambios histopatológicos siguiendo la escala de Kenny (1978) para equinos adaptada al bovino²².-

Análisis estadístico:

Las variables independientes serán: i) Grupo de sincronización (7-días vs. 5-días); ii) días posparto; iii) ciclicidad; iv) CC; v) signos de endometritis clínica o subclínica; vi) técnico inseminador y vii) toro.-

Las variables dependientes serán: i) tamaño del folículo preovulatorio (mm); ii) porcentaje de ovulación; iii) porcentaje de concepción a primer servicio.-

Las comparaciones basales y el análisis univariable para variables categóricas se realizarán mediante el test de Chi-cuadrado (ProcFreq, SAS System®) mientras que las variables continuas se analizarán por ANOVA. En el análisis multivariable, el efecto de las variables independientes y sus interacciones serán evaluados por regresión logística múltiple (ProcLogistic, SAS System®). Utilizando el procedimiento backwardelimination, permanecerán en el modelo aquellas variables e interacciones con $P < 0,10$ ²³. En las submuestras, el efecto de los tratamientos sobre tamaño del folículo preovulatorio (mm) será

evaluado mediante ANOVA para medidas repetidas. Se considerarán diferencias significativas cuando $P < 0,05$ y tendencias cuando $P < 0,10$.



6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

Hasta el momento, no hay reportes en los que se compare el efecto que podrían ejercer los días postparto, la ciclicidad y la condición corporal, sobre la respuesta a protocolos de sincronización que combinan Progesterona con Estradiol o GnRH en vacas de razas británicas, en la Región Pampeana. Los porcentajes de preñez a primer servicio obtenidos en respuesta a cada protocolo, permitirán determinar en qué condiciones es conveniente aplicar uno u otro. A su vez, los estudios sobre la dinámica folicular y el porcentaje de ovulación en rodeos con las características propias de la región, permitirán comparar los mecanismos fisiológicos implicados en ambos y estimar el alcance de las distintas combinaciones de hormonas en estimular el crecimiento folicular y la ovulación.-

En materia de contribución al conocimiento tecnológico, el presente proyecto tiene como objeto de estudio a rodeos de cría de la Región Pampeana, que demandan análisis detallados de los efectos que tiene la aplicación de los diferentes protocolos de sincronización, por sus características propias, ya que se utilizan principalmente razas británicas alimentadas a base de pasturas naturales, y porque la inseminación artificial a tiempo fijo es una práctica incipiente en nuestra provincia, que si bien va cobrando más relevancia a medida que los médicos veterinarios y productores de la zona evalúan los réditos de la relación costo/beneficio, aun no se cuenta con datos fidedignos de porcentajes de preñez logrados con estos protocolos, ni de su impacto en el intervalo parto a primer servicio.-

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

Ensayo 1 - Año 1 / Meses	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
Sincronización	X											
Ultrasonografías	X	X	X									
Examen clínico	X											
Extracción de sangre	X											
RIA							X	X	X			
Análisis de datos				X	X					X		
Actualización bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Publicación parcial de resultados						X					X	
Ensayo 2 - Año 2 / Meses	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
Sincronización	X											
Ultrasonografías	X	X	X									
Examen clínico	X											
Análisis de datos			12	X	X					X	X	



Actualización bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Publicación parcial de resultados						X						X
Ensayo 3 - Año 3 / Meses	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
Sincronización	X											
Ultrasonografías	X	X	X									
Examen clínico	X									X		
Metrichek	X											
Recolección de muestras por cytobrush y biopsia de endometrio	X											
Evaluación de las muestras de cytobrush y biopsias de endometrio			X	X	X							
Análisis de datos						X	X			X	X	
Actualización bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Publicación parcial de resultados								X				X

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

La concreción de los ensayos estará a cargo del M.V. Luis O. Zapata, adscripto a la Cátedra de Obstetricia, Fisiopatología de la Reproducción desde 2007, docente interino durante 2013 – 2016 y 2017, responsable desde 2009 del Laboratorio de Análisis de Semen Bovino, y responsable por la seguridad radiológica con permiso individual vigente (N° 25653/0/0/05-21) ante la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN) dependiente de la Presidencia de la Nación.-

El procesamiento de muestras y el análisis de datos se llevarán a cabo en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Cátedra Obstetricia, Fisiopatología de la Reproducción, que pertenece al Departamento de Producción Animal (FCV-UNLPam). Las instalaciones del laboratorio son las adecuadas para el desarrollo de tareas de investigación. Éste cuenta con el espacio físico suficiente para albergar a un grupo de trabajo; dispone de un área de escritorio, equipada con computadora e impresora, y de un laboratorio en completo funcionamiento (mesadas, pileta, ecógrafos portátiles,



lupa, microscopio, microscopio de contraste de fase DIC-Nomarski, aglutinoscopio, platina y baño térmicos, centrífuga de mesada, microcentrifugarefrigerada, estufa gaseada, freezer, heladera, etc). Durante 2017 se realizará una ampliación del laboratorio y se adquirirán nuevos equipos, entre ellos un contador de centelleo, un espectrofotómetro de microvolúmenes, un termociclador a tiempo real y otros equipos de menor porte (por medio del subsidio Fondo de Innovación Tecnológica Regional FITR 2013 del Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva “Argentina Innovadora 2020” del Ministerio de Ciencia y Técnica).-

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

Los ensayos a campo se realizarán en las instalaciones de la EEA-INTA “Ing. Agr. Guillermo Covas”, situado en Ruta Nacional N° 5 Km. 580, Anguil, La Pampa. Esta estación cuenta con un rodeo de vacas de cría debidamente identificadas, con datos de fechas de nacimiento, parición, alimentación y sanidad. A su vez, cuenta con corrales, mangas techadas, con acceso a agua y corriente eléctrica, y personal a disposición para las tareas de encierre y aparte.-

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

Para llevar a cabo los objetivos propuestos en este proyecto, es necesario contar con un rodeo de cría estacionado, en el que la historia de cada animal a enrolar en el ensayo sea conocida (edad, dieta, parición, sanidad, etc.) y pueda acompañarse, en caso de ser necesario, de valores de temperatura, humedad y radiación solar promedios. De esta manera, se pueden obtener datos fidedignos, acompañados de un volumen de información valioso para identificar potenciales confundidores o variables independientes que modifiquen la respuesta a los tratamientos. En ese sentido, el rodeo que se encuentra en las instalaciones de la EEA-INTA “Ing. Agr. Guillermo Covas” posee todas estas características, además de que ésta estación se encuentra provista de las instalaciones apropiadas para su manejo.-

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:

Para el financiamiento de las drogas, se contará con el apoyo de Zoetis S.A., por intermedio del Dr. Santiago Pérez Wallace. -

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual) *

Año 1	\$ 66600
Equipamiento e infraestructura: Pipeta repetidora.....	\$ 23400
Bienes de consumos: Kits para determinación de progesterona.....	\$ 27600
Bibliografía (SocietyforTheriogenology).....	\$ 1600
Viajes:.....	\$ 10000
Otros: Congresos y jornadas	\$ 4000
Año 2.....	\$ 51200
Equipamiento e infraestructura: Microcentrifugade mesada.....	\$ 8000
Bienes de consumos: Kits para determinación de progesterona.....	\$ 27600



		Bibliografía
(SocietyforTheriogenology).....		\$ 1,600
Viajes:.....		
.....\$ 10000		
Otros:	Congresos	y
jornadas.....		\$ 4000
		Año
3.....		
		\$ 50600
Equipamiento e infraestructura: Pinza de biopsia y estilete para cytobrush.....		\$ 5000
Bienes de consumos: Tinción 15; alcoholes y solventes.....		\$ 30000
Bibliografía (SocietyforTheriogenology).....		\$ 1600
Viajes:.....		\$10000
Otros: Congresos y jornadas.....		\$ 4000
Total		\$ 168400

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

8.1. BIBLIOGRAFÍA

1. Bó, G. a & Baruselli, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal* 8 Suppl 1, 144–50 (2014).
2. Bó, G. A., Baruselli, P. S. & Mapletoft, R. J. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod.* 10, 137–142 (2013).
3. Stevenson, J. S. & Lamb, G. C. Contrasting effects of progesterone on fertility of dairy and beef cows. *J. Dairy Sci.* (2016). doi:10.3168/jds.2015-10130
4. Lamb, G. C. et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F₂?? for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79, 2253–2259 (2001).
5. Echternkamp, S. E. & Thallman, R. M. Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 89, 3060–3068 (2011).
6. Lamb, G. C. et al. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂α, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84, 3000–3009 (2006).
7. Bridges, G. A. et al. Decreasing the interval between GnRH and PGF₁₅α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69, 843–851 (2008).
8. Whittier, W. D., Currin, J. F., Schramm, H., Holland, S. & Kasimanickam, R. K. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology* (2013). doi:10.1016/j.theriogenology.2013.07.019
9. Gunn, P. J., Culp, K. C., Lemenager, R. P. & Bridges, G. A. Efficacy of the 5-day CO-Synch ovulation synchronization protocol with or without the inclusion of exogenous progesterone



in beef cows. *Prof. Anim. Sci.* (2016). doi:10.15232/pas.2015-01423

10. Moraes, J. C. F., Jaume, C. M. & De Souza, C. J. H. Body condition score to predict the postpartum fertility of crossbred beef cows. *Pesqui. Agropecu. Bras.* (2007).

11. Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M. & MacNeil, M. D. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J. Anim. Sci.* 79, 1–4 (2001).

12. Bridges, G. A. et al. Determination of the appropriate delivery of prostaglandin f2a in the five-day co-synch + controlled intravaginal drug release protocol in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 90, 4814–4822 (2012).
13. Lamb, G. C., Dahlen, C. R., Larson, J. E., Marquezini, G. & Stevenson, J. S. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. *Journal of animal science* (2010). doi:10.2527/jas.2009-2349
14. Stevenson, J. S., Hill, S. L., Bridges, G. A., Larson, J. E. & Lamb, G. C. Progesterone status, parity, body condition, and days postpartum before estrus or ovulation synchronization in suckled beef cattle influence artificial insemination pregnancy outcomes. *J. Anim. Sci.* 93, 2111–23 (2015).
15. Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S. & Gilbert, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516–1530 (2006).
16. Westermann, S., Drillich, M., Kaufmann, T. B., Madoz, L. V & Heuwieser, W. A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterine bacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology* 74, 1248–55 (2010).
17. Santos, N. R. R., Lamb, G. C. C., Brown, D. R. R. & Gilbert, R. O. O. Postpartum endometrial cytology in beef cows. *Theriogenology* 71, 739–745 (2009).
18. Mcglone, J. et al. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching.* (2010).
19. Wagner, J. J. et al. Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66, 603–12 (1988).
20. Pierson, R. A. & Ginther, O. J. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21, 495–504 (1984).
21. Bartolome, J. A. et al. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* (2005). doi:10.1016/j.theriogenology.2004.05.020
22. Bilbao, M. G. et al. Extending the duration of treatment with progesterone and treatment with eCG improves fertility in suckled beef cows with low body condition score subjected to timed artificial insemination. *Theriogenology* (2016). doi:10.1016/j.theriogenology.2016.02.003
23. Bullock, K. D., Bertrand, J. K., Benyshek, L., Williams, S. E. & Lust, D. G. Comparison of real-time ultrasound and other live measures to carcass measures as predictors of beef cow



energy stores. *J. Anim. Sci.* (1991). doi:10.2527/1991.69103908x

24. Rumph, J. M. & Genetics, P. A. Interpretation and Use of Expected Progeny Differences (EPD) Statistics Associated with EPD. 363–376 (2007).

25. Williams, E. J. et al. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*63, 102–117 (2005).

26. Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. N. A., Nash, D. M. & Herath, S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet. J.*176, 115–21 (2008).
27. Hendricks, K. E. M., Bartolome, J. a, Melendez, P., Risco, C. & Archbald, L. F. Effect of repeated administration of PGF2alpha in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology*65, 1454–64 (2006).
28. Madoz, L. V. et al. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.*96, 4333–4339 (2013).
29. Kasimanickam, R. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*62, 9–23 (2004).
30. Madoz, L. V., Giuliadori, M. J., Migliorisi, A. L., Jaureguiberry, M. & de la Sota, R. L. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.*97, 195–201 (2014).
31. Madoz, L. V et al. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.*96, 4333–9 (2013).
32. Gilbert, R. O. et al. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*64, 1879–88 (2005).
33. Chapwanya, A. et al. Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology*71, 1396–1407 (2009).
34. Agresti, A. An introduction to categorical data analysis. 135, (Wiley New York, 1996).