

# EFECTO DE DOS PROTOCOLOS HORMONALES A BASE DE PROGESTERONA SOBRE LA TASA DE OVULACIÓN Y OCURRENCIA DE CELOS ANOVULATORIOS EN VACAS MESTIZAS TROPICALES

## Effect of Two Hormonal Progesterone-based Protocols on Ovulation Rate and Occurrence on Anovulatory Estrous in Crossbred Tropical Cows

Roberto Palomares-Naveda<sup>1</sup>, Aitor De Ondiz-Sanchez<sup>1</sup>, Jorge Sandoval-Martínez<sup>2</sup>, Javier Goicochea-Llaque<sup>1</sup>, Decio González-Villalobos<sup>1</sup> y Eleazar Soto-Belloso<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigaciones en Reproducción Animal (UNIRA). <sup>2</sup>Unidad de Investigaciones en Radiología e Imaginología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.

<sup>3</sup>Venezolana de Inseminación Artificial y Transplante de Embriones, C.A. (VIATECA). La Villa del Rosario, Perijá, Edo. Zulia, Venezuela. E-mail: rapalomares@hotmail.com

### RESUMEN

Para estudiar el efecto del tratamiento con esponjas intravaginales impregnadas con Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) sobre la tasa de ovulación y celos anovulatorios de vacas mestizas durante el postparto temprano, se realizó un ensayo en una finca comercial localizada en el municipio Rosario de Perijá, estado Zulia. Un total de 61 vacas acíclicas entre los 40-47 días postparto, fueron asignadas a uno de tres tratamientos: Progesterona más Estradiol (MAP+E, n =20); Progesterona más GnRH y PGF<sub>2α</sub> (MAP+GnRH, n = 21) y testigo (T, n = 20). Las variables estudiadas fueron: Tasa de ovulación (TO), Tasa de Celos Anovulatorios (TCA), Niveles de Progesterona (NP) y Diámetro del Cuerpo Lúteo (DCL). Se midieron los niveles de progesterona en leche por Radioinmunoanálisis (RIA), determinando los ciclos ovulatorios. Las variables fueron analizadas a través del procedimiento PROC FREQ del paquete estadístico SAS, a excepción de NP y DCL, las cuales fueron analizadas a través de PROC GLM. La TO fue mayor (P < 0,05) con MAP+GnRH (57,1%) vs MAP+E y T (25%). El tratamiento MAP+E presentó mayor TCA (P < 0,05; 66,7%) vs MAP+GnRH (21,4%), y T en el cual ninguna vaca presentó celos anovulatorios. La TCA fue similar en los grupos MAP+GnRH y T. No se observó efectos de los tratamientos sobre los NP y DCL en las vacas que ovularon. En conclusión, las vacas del grupo MAP+E presentaron un mayor porcentaje de celos anovulatorios, sugiriendo un efecto negativo en la relación celo-ovulación en vacas mestizas acíclicas tratadas du-

rante el postparto temprano. Por otra parte, el uso de MAP en combinación con GnRH y PGF<sub>2α</sub> mejoró la tasa de ovulación y el porcentaje de celos ovulatorios.

**Palabras clave:** Esponjas intravaginales, progesterona, estradiol, vacas mestizas, celos anovulatorios.

### ABSTRACT

In order to study the effects of intravaginal sponges impregnated with Medroxi-progesterone acetate (MAP) on ovulation rate and anovulatory estrus rate, an assay was carried out in a commercial farm located at the Rosario de Perijá county, Zulia state, Venezuela. Noncycling crossbred cows (*B. taurus* x *B. indicus*, n = 61) between 40 and 47 days postpartum were randomly allotted into one of three treatments: Progesterone plus Estradiol (MAP+E, n =20); Progesterone plus GnRH and PGF<sub>2α</sub> (MAP+GnRH, n = 21) and Control (T, n = 20). The studied variables were: ovulation rate (TO), Anovulatory estrus rate (TCA), Progesterone levels (NP) and Corpus Luteum diameter (DCL). Progesterone concentrations in milk were measured by RIA to determine ovulation after sponge removal. The variables TO and TCA were analyzed using frequency procedures and chi-square test of SAS. The NP and DCL were analyzed by ANOVA using GLM procedure of SAS. The TO was increased (P<0.05) in MAP+GnRH (57.1%) vs 25% for MAP+E and T. The MAP+E had increased TCA (P < 0.05; 66,7%) compared to MAP+GnRH (21,4%), which was similar to T, where all cows ovulated following estrus. No effects of treatments on NP and DCL in ovulating cows were observed.

In conclusion, cows treated with MAP+E had an increased anovulatory estrus rate, suggesting a negative effect on estrus-ovulation ratio in noncycling crossbred cows during early postpartum. On the other hand, MAP combined with GnRH and PGF<sub>2α</sub> improved the ovulation rate and percentage of ovulatory estrus.

**Key words:** Intravaginal sponges, progesterone, estradiol, crossbred cows, anovulatory estrus.

## INTRODUCCIÓN

Para garantizar la eficiencia y rentabilidad de las ganaderías de doble propósito (GDP) es imprescindible lograr la meta de un intervalo entre partos menor de 13 meses, de manera que las vacas deben ciclar y concebir alrededor de los 90 días postparto [15]. El logro de esta meta se ve limitado en forma radical por múltiples factores (amamantamiento, estado nutricional, número de partos, edad de la vaca, mestizaje y condiciones ambientales) que contribuyen a que el primer celo postparto se retrase (hasta más de 90 días) [11].

El anestro postparto es el principal problema reproductivo de la GDP y la causa más frecuente de los largos intervalos entre partos [11]. La característica endocrina más notable asociada con el anestro es una reducida liberación de GnRH y una marcada supresión en la liberación pulsátil de LH [3]. Un incremento en los niveles basales de LH durante el período postparto es fundamental para un buen desarrollo folicular que culmine con la ovulación [20]. En el control del anestro en vacas con más de 90 días postparto se han aplicado tradicionalmente diversos métodos basados en el uso de la progesterona y progestágenos, a través de diversas vías de administración (oral, implantes subcutáneos, dispositivos intravaginales) combinados con GnRH, eCG y estrógenos [17].

Fisiológicamente, la acción de la progesterona combinada con el estradiol bloquea el estro y la ovulación al ejercer un "feed back" negativo sobre la adenohipófisis. Los estrógenos producen atresia del folículo dominante y se produce el reinicio de una nueva onda de crecimiento folicular aproximadamente entre los 4 y 5 días [16].

Cuando la GnRH es administrada al inicio del tratamiento con progesterona en vacas acíclicas bajo condiciones de pastoreo [13], ésta provoca la ovulación de aquellos folículos dominantes mayores de 9 mm presentes en el ovario. El cuerpo lúteo formado incrementa las concentraciones de progesterona de estas vacas durante los últimos días del tratamiento con el dispositivo [45]. La concentración de progesterona durante el final de la fase luteal ha sido correlacionada positivamente con la tasa de concepción [33]. La GnRH puede causar en dichas vacas la liberación de FSH y LH y el inicio sincronizado de una nueva onda de crecimiento folicular, de manera

que un nuevo folículo dominante joven y competente puede estar presente para el momento del retiro de la fuente de progesterona [40].

Las esponjas intravaginales producidas en Venezuela (Pregnaheat-E®), impregnadas con Acetato de Medroxi-progesterona, han sido utilizadas para el control del anestro en vacas mestizas a los 60 y 90 días postparto, mostrando resultados satisfactorios de celo y fertilidad [22, 25, 26]. Un reporte previo [21] sobre su utilización para prevenir el anestro durante el período postparto temprano (40-47 días) en vacas mestizas acíclicas, indicó una reducida fertilidad, sin causar mejoras en la eficiencia reproductiva, sugiriéndose entre las posibles causas una baja respuesta ovulatoria.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la relación entre el celo y la ovulación mediante la tasa de celos anovulatorios en vacas mestizas acíclicas tratadas con esponjas intravaginales en combinación con estradiol o GnRH más PGF<sub>2α</sub> a los 40-47 días post-parto. Adicionalmente, se determinaron los niveles de progesterona y el diámetro del cuerpo lúteo en las vacas que ovularon.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del ensayo

Esta investigación se realizó en la hacienda "Caracas" propiedad de la Agropecuaria Doña Blanca C.A., ubicada en el municipio Rosario de Perijá del estado Zulia, Venezuela, en una zona agroecológica de bosque seco tropical. Está ubicada a 86 m.s.n.m, 10°19'50" L.N y 75°17'50" L.O, con una temperatura media anual de 28,4°C, una precipitación promedio de 1475 mm/año y humedad relativa anual de 34,7% [29].

### Unidades experimentales y manejo

Se seleccionaron 61 vacas mestizas cebú entre 1 y 7 partos, en el periodo comprendido entre 40 y 47 días postparto. Las vacas incorporadas al ensayo debían presentar una condición corporal entre 3 y 3,5 (en una escala del 1 al 5; 1= muy flaca; 5= muy gorda) y libre de alteraciones genitales. Las vacas pastorearon en potreros de pasto guinea (*Panicum maximum*) y fueron suplementadas estratégicamente con una mezcla de melaza-urea (5%) en la época seca. Las vacas presentaban una producción láctea promedio de 1952,0 litros de leche a los 244 días de lactancia.

Antes de su incorporación al ensayo, las vacas fueron examinadas por vía rectal a los 30 días postparto para determinar las estructuras ováricas presentes y la condición del útero. Sólo fueron incorporadas al ensayo vacas sin cuerpo lúteo y con un tracto reproductivo normal. Además la ausencia de ciclicidad se confirmó mediante los niveles de progesterona en leche (< 0,5 ng/mL).

### Evaluación ultrasonográfica (USG)

La exploración ovárica se realizó el día 40 postparto previo al inicio de los tratamientos para determinar las estructuras ováricas presentes y confirmar la condición de anestro a través de la ausencia de cuerpo luteo. Para tal fin, se utilizó un ultrasonógrafo Pie Medical, modelo Scanner 100 Vet, provisto de un transductor lineal con doble frecuencia (5,0-7,5 MHz) en modo B, indicada para el examen transrectal de grandes animales. Ambos ovarios de cada vaca fueron explorados en sentido dorsoventral, lateral-medial y medial-lateral, usando una frecuencia de 5,0 MHz como lo describen Perea y col. [24]. Cada imagen seleccionada en la pantalla del monitor fue congelada y registrada en un impresor fotográfico Sony.

Quince días después de finalizados los tratamientos se evaluaron los ovarios para verificar la presencia o no del cuerpo lúteo, el cual se identificó como una estructura esférica u ovalada, hipoecoica, con una ecogenicidad menor a la del estroma ovárico y en ocasiones con una cavidad central anecoica [27, 28].

### Tratamientos

Se constituyeron aleatoriamente tres grupos de vacas, a cada uno de los cuales se aplicó uno de los tratamientos siguientes:

**Tratamiento con Progesterona más Estradiol (MAP+E):** (n=20) Se procedió a la colocación de una esponja intravaginal PREGNAHEAT-E® de poliuretano de forma cilíndrica con unas dimensiones de 10 cm x 6 cm, la cual estaba impregnada con 250 mg de Medroxi-acetato de progesterona (MAP; 6  $\alpha$ -methyl-17  $\alpha$ -acetoxy-pregne-4 ene-3,20 dione). Esta esponja se mantuvo durante 7 días. Al momento de la colocación de la esponja, fueron aplicados 50 mg de MAP y 5 mg de 17 $\beta$ -estradiol por vía intramuscular (i.m) y 24 horas después de retirada la esponja se inyectó 1,0 mg de 17 $\beta$ -estradiol i.m.

**Tratamiento con Progesterona más GnRH (MAP+GnRH):** (n=21) Se procedió a la colocación de una esponja intravaginal PREGNAHEAT-E® impregnada con 250 mg de MAP, durante 8 días. Al momento de la colocación de la esponja fueron aplicados 50 mg de MAP y 20  $\mu$ g de un agonista de GnRH (Buserelina, Conceptal®, Hoescht, A. Germany) i.m. El día 7 fue aplicada una inyección de 25 mg de un análogo de PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  i.m. (Dinoprost, Lutalyse® Pharmacia Upjohn, Kalamazoo, MI, USA) y 12 horas después de retirada la esponja se inyectó 1,0 mg de 17 $\beta$ -estradiol i.m.

**Testigo (T):** (n=20) Las vacas de este grupo no fueron sometidas a ningún tratamiento, manteniendo el manejo rutinario de la unidad de producción.

Para la colocación de la esponja fue utilizado un aplicador cilíndrico de plástico previamente desinfectado y lubricado para facilitar su entrada hasta la porción anterior de la vagina, donde fue depositada la misma. Las esponjas presentaban una cuerda de nylon, la cual quedaba proyectada fuera de la

vulva facilitando su remoción al final del tratamiento. Previo a la colocación de las esponjas intravaginales, estas fueron inyectadas con 250 mg de oxitetraciclina para minimizar el riesgo las posibles infecciones vaginales.

La técnica de Radioinmunoanálisis (R.I.A) fue utilizada para determinar los niveles de progesterona en leche descremada, indicativos de la ocurrencia o no de la ovulación y la posterior formación de un cuerpo lúteo activo. El objetivo fue evaluar en forma precisa los efectos producidos por los tratamientos en la reanudación de la ciclicidad ovárica postparto de las vacas. En tal sentido, se comenzó a determinar los niveles de progesterona en leche a partir del día 30 postparto, evitando así la incorporación al ensayo de animales que hubiesen ovulado previamente.

Las muestras de leche (10 mL aproximadamente) fueron recolectadas dos veces por semana (lunes y viernes) durante el ordeño de la tarde descartando los primeros chorros de la misma. Las muestras fueron depositadas en tubos de ensayo adicionando previamente una tableta de ázida sódica (SIGMA, St. Louis, Mo USA) como preservativo. Luego fueron refrigeradas a 4°C y transportadas al laboratorio de Radioinmunoanálisis de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia, donde fueron centrifugadas a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos para favorecer el descremado de las mismas. Posteriormente fueron colocadas en tubos de polipropileno y almacenadas a una temperatura de -20°C para su análisis posterior. La metodología para la determinación de progesterona en leche descremada fue la descrita en el manual de la Agencia Internacional de Energía Atómica [7].

El celo fue detectado por observación visual dos veces al día por un periodo de una hora cada uno con la ayuda de toros receladores.

### Variables evaluadas

**Tasa de ovulación:** Se consideró que los animales con niveles de progesterona mayores de 0,5 ng/mL en dos muestras de leche consecutivas dentro de 30 días posteriores al retiro del tratamiento habían ovulado. Este índice representa el porcentaje de vacas con ovulación en base al total de animales sometidos a los tratamientos.

**Tasa de celos anovulatorios:** Se refiere al número de celos anovulatorios ocurridos en un periodo de evaluación de 30 días post-tratamiento, dividido entre el número total de celos ocurridos durante dicho periodo y expresado en porcentaje. Se definió como animales con celo anovulatorio aquellas vacas que mostraron signos de celo en respuesta al tratamiento y presentaron niveles de progesterona menores a 0,5 ng/mL en las muestras de leche posteriores a dicho estro.

**Niveles de progesterona:** Fueron determinados los niveles de progesterona (ng/mL) en las muestras de leche de las vacas durante los días 4, 7, 11 y 15 posteriores al celo, así como también el promedio durante el periodo de evaluación.

**Diámetro del cuerpo lúteo:** Se refiere al promedio de los diámetros longitudinal y transversal de los cuerpos luteos encontrados durante las evaluaciones ultrasonográficas ejecutadas posterior a los tratamientos.

**Análisis estadístico**

Una vez que los datos fueron colectados y codificados electrónicamente, las proporciones de ocurrencia de los eventos para las variables tasa de ovulación y tasa de celos anovulatorios fueron obtenidas con el procedimiento FREQ del paquete estadístico SAS [38], con el cual se determinaron las diferencias entre las variables independientes con pruebas de j-cuadrado. Las concentraciones de progesterona y el diámetro de los cuerpos lúteos se analizaron mediante análisis de varianza con el procedimiento GLM del SAS.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Tasa de ovulación**

La tasa de ovulación fue mayor ( $P < 0,05$ ) en el grupo MAP+GnRH (57,1%) en comparación con los grupos MAP+E y T, con valores de 25,0% para ambos (TABLA I).

El mayor porcentaje de ovulaciones observado en el grupo MAP+GnRH sugiere que la GnRH posiblemente provocó la liberación de FSH y LH, causando reclutamiento y crecimiento folicular, la ovulación y la formación de un cuerpo lúteo de vida corta y reforzando la concentración plasmática de progesterona (endógena más exógena), lo que favoreció un "feedback" negativo para la LH. Posteriormente, la lisis del tejido luteal por efecto de la PGF<sub>2α</sub> y el retiro de la esponja, resultaron en la eliminación de tales efectos inhibitorios, favoreciendo el creci-

miento de folículos nuevos y produciéndose finalmente la ovulación [45]. Estos resultados resaltan la importancia de la GnRH dentro de los protocolos hormonales aplicados en el postparto temprano a las vacas mestizas acíclicas amamantadas. Xu y col. [45], determinaron que a los 11 días después del retiro del progestágeno, un mayor porcentaje de las vacas tratadas con CIDR más GnRH y PGF<sub>2α</sub>, tenían cuerpo lúteo palpable en comparación con las vacas con sólo el dispositivo (48,6 vs 21,4%, respectivamente); es decir, un mayor porcentaje de vacas del primer grupo ovularon aun sin presentar estro.

Es posible que en esta investigación la presencia del becerro, el periodo temprano postparto y la ausencia de hormona liberadora de gonadotrofinas en el protocolo MAP+E hayan sido factores claves limitantes de la ovulación y del reinicio de la ciclicidad ovárica postparto. Una menor liberación de GnRH y secreción de LH inducidas por la presencia del becerro [23] es aparentemente responsable de la falla de los folículos dominantes para ovular [32].

**Tasa de celos anovulatorios**

El grupo MAP+E mostró un porcentaje alto de celos anovulatorios ( $P < 0,05$ ; 66,7%), en comparación con el grupo MAP+GnRH (21,4%; TABLA II; FIG. 1).

Todas las vacas del grupo testigo que presentaron signos de celo durante el período de evaluación ovularon, sugiriendo que los celos producidos espontáneamente durante el postparto temprano de las vacas mestizas culminan con la ovulación [5].

Palomares y col. [21], utilizando los mismos protocolos hormonales durante el postparto temprano, reportaron que las vacas sin tratamiento hormonal presentaron un mayor interva-

**TABLA I**  
**TASA DE OVULACIÓN EN VACAS MESTIZAS ACÍCLICAS TRATADAS CON MAP A LOS 40 DÍAS POSTPARTO**

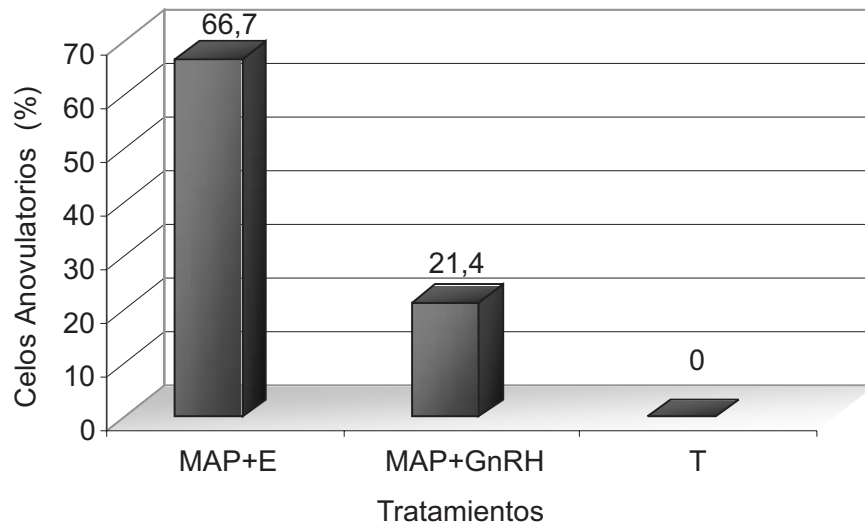
Tratamiento	N	Ovulación*	Tasa de ovulación (%)
MAP+ E	20	5	25,0 <sup>a</sup>
MAP+GnRH.	21	12	57,1 <sup>b</sup>
T	20	5	25,0 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> valores con diferentes índices difieren significativamente ( $P < 0,05$ ). \*Evaluada durante 30 días posteriores al tratamiento.

**TABLA II**  
**TASA DE CELOS OVULATORIOS Y ANOVULATORIOS EN VACAS MESTIZAS TRATADAS CON MAP A LOS 40 DÍAS POSTPARTO**

Tratamiento	Celos anovulatorios		Celos ovulatorios	
	n	%	n	%
MAP+ E	6/9	66,7 <sup>a</sup>	3/9	33,3 <sup>a</sup>
MAP+GnRH	3/14	21,4 <sup>b</sup>	11/14	78,6 <sup>b</sup>
T	0/5	0 <sup>b</sup>	5/5	100 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Valores con diferentes índices en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).



**FIGURA 1. TASA DE CELOS ANOVULATORIOS EN VACAS MESTIZAS TRATADAS CON MAP A LOS 40-47 DÍAS POSTPARTO.**

lo tratamiento-servicio y una mayor tasa de ovulación, lo que podría sugerir una mayor sensibilidad y estabilidad del sistema hipotálamo-hipofisiario para el momento en el cual estas vacas presentan su primer celo, produciéndose la ovulación [21].

Un trabajo previo [30] utilizando vacas mestizas sin tratamiento hormonal alguno, reveló que el 10,9% de los animales presentaron celos anovulatorios durante el postparto temprano.

Las cifras de anovulaciones en el grupo MAP+E son superiores a las evidenciadas en vacas tratadas con progesterona intravaginal (CIDR) en ordeño mecánico y en ausencia del becerro, dentro de las cuales sólo un 10% presentaron celo sin ovulación [45].

Trabajos realizados utilizando esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos más estradiol en novillas, han revelado que las relaciones entre el celo y la ovulación son completamente normales [44].

Por otra parte, el 78,6% de los celos presentados por las vacas del grupo MAP+GnRH fueron ovulatorios, lo que confirma las ventajas del uso de los factores liberatorios en combinación con progesterona durante el postparto temprano de las vacas mestizas acíclicas con la presencia del becerro.

Los ciclos anovulatorios han sido observados más frecuentemente cuando los celos se presentan antes de los 45 días postparto [30]; sin embargo, se han reportado incidencias de celos anovulatorios del 24% durante los primeros días postparto [36].

Trabajos previos [21] han reportado una baja fertilidad al primer servicio en vacas tratadas con esponjas intravaginales impregnadas con progesterona durante el postparto temprano, sugiriendo que parte de la reducción en la tasa de concepción podría ser explicado por la presencia de vacas que presentan estro sin ovulación.

Las altas tasas de celos anovulatorios presentadas por el grupo MAP+E en el presente estudio, posiblemente expliquen la baja fertilidad al primer servicio reportada previamente en vacas tratadas hormonalmente a los 40 días postparto [21].

Un estudio realizado en vacas mestizas acíclicas tratadas con dispositivos intravaginales impregnados con MAP bajo el mismo protocolo empleado en este estudio pero a los 60 días postparto [22], mostró una óptima tasa de celo y concepción, sugiriendo una normal relación entre el estro y la ovulación en esta etapa más avanzada del postparto, logrando así prevenir el anestro y mejorar significativamente la eficiencia reproductiva en un rebaño mestizo de doble propósito. Los resultados de dicho estudio podrían sugerir que posiblemente en esa etapa del postparto existe una mayor sensibilidad del sistema hipotálamo-hipofisiario, que favorece una mayor respuesta a los progestágenos.

En el presente estudio, la etapa temprana del postparto aunado a la presencia del becerro pudieron ser factores críticos y limitantes de la eficiencia de los tratamientos. Probablemente en esta etapa temprana del postparto, aún el sistema hipotálamo-hipofisiario no se encuentra apto para el comienzo de una terapia hormonal.

Williams y col. [42] demostraron que el tratamiento con un implante con progestágeno aplicado durante el postparto temprano de vacas de carne amamantadas, no fue capaz de mejorar la secreción de gonadotropinas, proporcionando evidencias de la existencia de un bloqueo neuroendocrino asociado con el amamantamiento en esta etapa del postparto, evidenciando una disminuida y anormal liberación de LH, una asincronía en los pulsos de FSH-LH y fallas para responder a la progesterona como potenciador de las funciones del sistema hipotálamo-hipofisiario. De manera similar, la aplicación de un tratamiento con un dispositivo de progesterona (CIDR) en vacas Holstein y Jersey en anestro durante la tercera semana



postparto, no fue efectivo para inducir un pico de LH, el celo y la ovulación [18].

Las tasas de celos anovulatorios en los grupos MAP+E y MAP+GnRH contradicen los resultados obtenidos en vacas mestizas tratadas con similares protocolos hormonales en etapas avanzadas del postparto [25], en los cuales el tratamiento con MAP más GnRH y PGF<sub>2α</sub> provocó un 41,6% de celos anovulatorios (5/12), en comparación con 16,6% para las vacas tratadas con MAP más estradiol (3/18) [25].

**Resultados ultrasonográficos**

La TABLA III muestra el diámetro del cuerpo lúteo (DCL) en los diferentes grupos experimentales.

La evaluación ultrasonográfica 15 días después de finalizado el tratamiento, reveló DCL de 20,2 ± 3,2; 17,3 ± 1,7 y 13,5 ± 2,6 mm, (promedio 16,8 ± 4,5 mm, FIG. 2) para MAP+E, MAP+GnRH y T, respectivamente y sin diferencias significativas entre ellos. De Ondiz y col. [6], utilizando vacas anéstricas mestizas cebú tratadas con Norgestomet y eCG reportaron promedios similares de DCL (16,5 ± 3,8 mm). Un trabajo previo reveló un diámetro máximo de cuerpo lúteo de 18,0 mm el día 11,6 del ciclo estrual de vacas mestizas de doble propósito [24]; mientras que en vacas Nellore han sido reportados valores entre 16,5 [1] y 17,0 mm [8].

**Niveles de Progesterona**

En la TABLA IV y FIG. 3, se muestran las concentraciones medias y máximas de progesterona en vacas mestizas que ovularon en respuesta al tratamiento con esponjas intravaginales impregnadas con MAP.

Los niveles de progesterona alcanzaron una concentración máxima de 3,81; 1,42 y 2,76 ng/mL el día 11 del ciclo estrual para MAP+E; MAP+GnRH y T respectivamente, siendo estadísticamente similares. Estos niveles máximos de progesterona son superiores a los reportados en un estudio realizado en vacas mestizas [24], en el cual la máxima concentración de progesterona fue 1,1 ng/mL el día 15 del ciclo estrual.

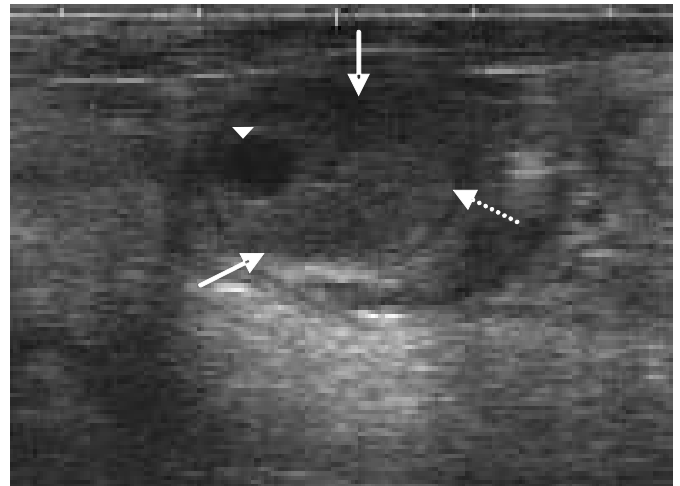
Por otra parte, en vacas mestizas con ciclos espontáneos se han reportado concentraciones de progesterona durante el ciclo estrual muy superiores, con un pico de 8,3 ng/mL el día 13, y una concentración durante el diestro de 4,11 ng/mL [10], aunque dicho estudio comprende ciclos en diferentes momentos del postparto. Otros estudios [34, 37] realizados en vacas mestizas y cebú en el trópico han revelado concentraciones de progesterona sérica mayores a las encontradas en el presente experimento, con un promedio general de 6,62 ng/mL y niveles máximos que variaron entre 13 y 20,7 ng/mL.

Es importante enfatizar que aun cuando el diámetro luteal se encuentra dentro de los valores reportados, las concentraciones de progesterona se muestran en niveles inferiores a las encontradas en vacas mestizas de doble propósito [10].

**TABLA III  
DIÁMETRO DEL CUERPO LÚTEO EVALUADO POR USG  
EN VACAS MESTIZAS QUE OVULARON  
EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON MAP MÁS  
ESTRADIOL O GnRH Y PGF<sub>2α</sub>**

Tratamiento	N	Diámetro del Cuerpo Lúteo (mm)
MAP+E	2	20,2 ± 3,2 <sup>a</sup>
MAP+GnRH	9	17,3 ± 1,7 <sup>a</sup>
T	3	13,5 ± 2,6 <sup>a</sup>
Promedio	14	16,8 ± 4,5

Sin diferencia estadística (P > 0,05).



**FIGURA 2. CUERPO LÚTEO HIPOECOICO (ENTRE FLECHAS) CON RESPECTO AL ESTROMA OVÁRICO Y UNA ZONA ANECOICA QUÍSTICA (TRIÁNGULO).**

Sin embargo, Ribadu y col. [31] reportaron una correlación positiva entre el volumen del CL y las concentraciones de progesterona.

Las bajas concentraciones de progesterona sugieren que probablemente el cuerpo lúteo formado fue de baja calidad, lo cual explicaría los resultados de un reporte previo [21] utilizando los mismos tratamientos hormonales en vacas acíclicas durante el postparto temprano en el cual, aun cuando las tasas de ovulación fueron superiores al 50%, las tasas de concepción resultaron sumamente bajas (entre 10 y 26,7%).

Todas las vacas con celos anovulatorios dentro del grupo MAP+E presentaron un ligero y corto aumento (sub-luteal) en los niveles de progesterona el día 15 posterior al celo (FIG. 4). Esta pequeña y corta elevación en los niveles de progesterona podría estar asociada a la presencia de folículos persistentes luteinizados [35]. Posiblemente las concentraciones plasmáticas de progesterona durante el tratamiento en el

TABLA IV

**NIVELES DE PROGESTERONA (ng/mL) EN VACAS MESTIZAS QUE OVULARON EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ESPONJAS INTRAVAGINALES IMPREGNADAS CON PROGESTERONA**

Tratamiento	N	Concentración máxima de progesterona (ng/mL)	Promedio de Progesterona durante el diestro (ng/mL)
MAP+E	3	3,81 ± 1.6 <sup>a</sup>	1,36 ± 0.4 <sup>a</sup>
MAP+GnRH	11	1,42 ± 1.1 <sup>a</sup>	0,97 ± 0.3 <sup>a</sup>
T	2	2,76 ± 2.0 <sup>a</sup>	1,54 ± 0.4 <sup>a</sup>

Sin diferencia estadística (P> 0,05).

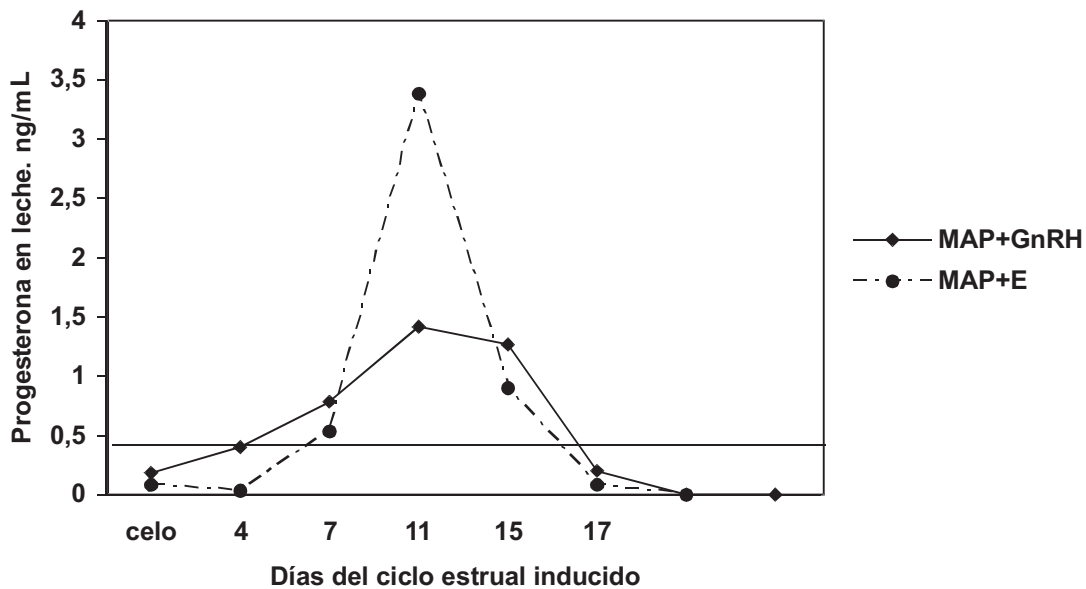


FIGURA 3. NIVELES DE PROGESTERONA EN VACAS MESTIZAS TRATADAS CON MAP PRESENTANDO CELOS OVULATORIOS (MAP+GNRH, N= 11; MAP+E, N=3).

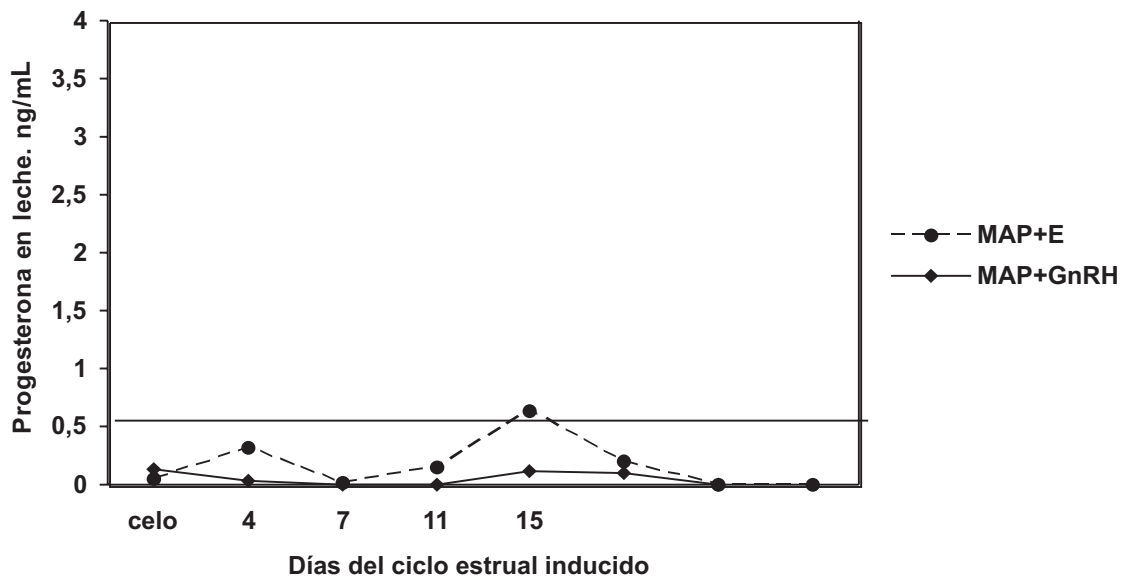


FIGURA 4. NIVELES DE PROGESTERONA EN VACAS MESTIZAS TRATADAS CON MAP PRESENTANDO CELOS ANOVULATORIOS (MAP+E, N= 6; MAP+GNRH, N=3).

grupo MAP+E (en ausencia de factores liberatorios exógenos al comienzo del tratamiento) no fueron lo suficientemente altas para inhibir en forma absoluta la liberación de LH. La frecuencia del pulso de LH es significativamente mayor cuando la progesterona se encuentra en niveles sub-luteales, al compararla con una fase luteal normal [12]. Por lo tanto, la LH pudo haber incrementado su frecuencia de pulsos y luteinizar los folículos presentes en los ovarios haciéndose persistentes sin ovulación, lo cual incrementa su capacidad de producir progesterona y estradiol [35]. Esto pudiera ser un factor involucrado en una maduración meiótica prematura con envejecimiento del oocito [14], comprometiendo su viabilidad y la fertilidad en el próximo ciclo. En un estudio realizado en vacas Holstein en E.U.A se determinó que la fertilidad fue menor en animales con folículos persistentes (14,0%) en comparación con animales con folículos de duración normal (54,2%), lo cual podría estar asociado con un incremento en las concentraciones de LH y estradiol antes del estro y la ovulación [4].

## CONCLUSIONES

- El tratamiento con MAP intravaginal más estradiol a los 40 días postparto produjo una baja tasa de ovulación y un alto porcentaje de celos anovulatorios, lo que se traduce en una baja fertilidad, indicando que dicho tratamiento no es efectivo para inducir la ciclicidad ovárica y prevenir el anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito.
- El uso de MAP en combinación con GnRH y PGF<sub>2</sub> a los 40-47 días postparto mejoró la tasa de ovulación y el porcentaje de celos ovulatorios en vacas mestizas acíclicas ordeñadas con apoyo del becerro.- Los niveles de progesterona en las vacas que ovularon fueron similares en los tres grupos; sin embargo, mostraron valores inferiores a los reportados en vacas mestizas tratadas con progestágenos.
- El diámetro promedio de los cuerpos lúteos fue similar en los grupos experimentales, presentando valores similares a los reportados en vacas mestizas acíclicas tratadas hormonalmente.
- Se recomienda continuar las investigaciones desarrollando protocolos hormonales que mejoren la tasa de celos ovulatorios y así prevenir el anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BARROS, C.M.; FIGUEREIDO, R.A.; PAPA, F.O.; ROCHA, G. Follicular growth in Nelore cows (*Bos indicus*) after PGF<sub>2</sub> administration. **J. Anim Sci** (Suppl 1) 71:216-219. 1993.
- [2] CACCIA, M.; BO, G.A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenol.** 49 (1) (Abstract): 341. 1998.
- [3] CARRUTHERS, T. D.; HAFS H. D. Suckling and four-times daily milking: influence and ovulation, estrus and serum luteinizing hormone, glucocorticoids and prolactin in postpartum Holsteins. **J. Anim. Sci.** 50:919-925. 1980.
- [4] COOPERATIVE REGIONAL RESEARCH PROJECT, NE-161. Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. **J. Anim. Sci.** 74: 1943-1952. 1996.
- [5] DAY, M.L.; BURKE, C. R.; TAUFHA, V. K.; DAY, A. M.; MACMILLAN, K. L. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in dairy herds. **J. Anim. Sci.** 78: 523-529. 2000.
- [6] DE ONDIZ, A.; PEREA, F.; CRUZ, R.; PORTILLO, G.; SOTO, E. Evaluación ultrasonográfica del crecimiento del folículo ovulatorio en vacas anéstricas mestizas cebu post-tratamiento con Norgestomet y eCG. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** 10 (1): 20-23. 2002.
- [7] FAO/IAEA. Progesterone RIA kit. Joint Division. Agriculture laboratory saeiberdorf. Austria. Animal Production and Health Unity. Viena-Austria. 25pp. 1988.
- [8] FIGUEREDO, R. A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; SOLER, J.M.P. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenol.** 47:1489-1505. 1997.
- [9] GARVERICK, H.A.; ZOLLERS, W.G.; SMITH, M.F. Mechanisms associated with copus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Anim. Reprod. Sci.** 28:111-124.1992.
- [10] GOICOCHEA, J. Niveles de progesterona durante el ciclo estrual en vacas y novillas mestizas. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo, Venezuela. (Trabajo de ascenso). 98 pp.1992.
- [11] GONZÁLEZ, S. C.; SOTO, B. E.; SOTO, C. G.; GOICOCHEA, L. J.; GONZALEZ, F. R. Identificación de los factores causales y control del anestro, principal problema reproductivo en la ganadería de doble propósito. Premio Agropecuario Banco Consolidado. 99pp. 1988.
- [12] KINDER, J.E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G. M.; WEHRMAN, M.E.; FIKE, K. E. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **J. Anim. Sci.** 74: 1424-1431. 1996.



- [13] MCDUGALL, S.; BURKE, C.R.; WILLIAMSON, N. B.; MACMILLAN, K. L. The effect of stocking rate and breed on the period of postpartum anoestrus in grazing dairy cattle. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** 55 (Abstract): 236. 1995.
- [14] MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTE, P.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Resumption of meiosis in cattle oocytes from preovulatory follicles with a short and long duration of dominance. **J. Reprod. Fertil.** 13 (Abstract):14. 1994.
- [15] MUNRO, P. K. Factors affecting oestrus response and calves rates following 7- day intravaginal progesterone treatment of cattle. **Austr. Vet. J.** 64 (6): 192-194. 1987.
- [16] NANDA, A. S.; WARD, W. R.; DOBSON, H. Effect of endogenous progesterone on the oestradiol-induced LH surge in dairy cows. **J. Reprod. Fertil.** 84:367-371. 1988.
- [17] NARASIMHA, A.V.; SURYAPRAKASAM, T. B. Induction of synchronized estrus in anestrus Zebu x Taurus crossbred cows. **Theriogenol.** 36 (1): 123-128. 1991.
- [18] NATION, D.P.; BURKE, C.R.; PARTON, G.; STEVENSON, R.; MACMILLAN, K.L. Hormonal and ovarian response to a 5-day progesterone treatment in anoestrus dairy cows in the third week post-partum. **Anim. Reprod. Sci.** 63 (1-2):13-25. 2000.
- [19] ODDE, K.G.; WARD, H.S.; KIRACOFE, G.H., MCKEE, R.M.; KITTOCK, R., Short, J. Estrus cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. **Theriogenol.** 14:105-112. 1980.
- [20] ODDE, K. G.; KIRACOFE, G. H.; SCHALLES, R. R. Effect of forty-hour calf removal, once or twice-daily suckling and Norgestomet on beef cow and calf performance. **Theriogenol.** 26 (3): 371-381. 1986.
- [21] PALOMARES-NAVEDA, R.; DE ONDIZ-SANCHEZ, A.; SANDOVAL, J.; BRAVO, R.; GONZALEZ-FERNANDEZ, R.; SOTO-BELLOSO, E. Inducción del celo y fertilidad en vacas mestizas Cebú acíclicas tratadas a los 40 días postparto con esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XII (5): 371-378. 2002.
- [22] PALOMARES-NAVEDA, R.; PEREA-GANCHOU, F.; HERNÁNDEZ-FONSECA, H.; SANDOVAL-MARTINEZ, J.; DE ONDIZ-SANCHEZ, A.; GOICOCHEA-LLAQUE, J.; GONZALEZ-FERNANDEZ, R.; SOTO-BELLOSO, E. Prevention of anoestrus using an intravaginal progestagen device combined with 17- $\beta$  estradiol, GnRH and PGF2 a at 60 days postpartum in dual purpose crossbred zebu cows. **Reprod. Fertil. Devel.** 16 (2) (Abstract): 131. 2004.
- [23] PARFET, J. R.; MARVIN, C. A.; ALLRICH, R. D.; DIEKMAN, M. A.; MOSS, G. E. Anterior Pituitary concentrations of gonadotropins, GnRH-receptors and ovarian characteristics following early weaning in beef cows. **J. Anim. Sci.** 62: 717-722. 1986.
- [24] PEREA, F.; GONZALEZ, R.; CRUZ, R.; SOTO, E.; RINCÓN, E.; GONZALEZ, C.; VILLAMEDIANA, P. Evaluación ultrasonográfica de la dinámica folicular en vacas y en novillas mestizas. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** VIII (1): 14-24. 1998.
- [25] PEREA-GANCHOU, F.; SOTO-BELLOSO, E.; RAMIREZ-IGLESIA, L.; GONZALEZ-FERNANDEZ, R.; GOICOCHEA-LLAQUE, J.; DE ONDIZ-SANCHEZ, A. Tratamiento del anestro postparto con progesterona intravaginal más eCG en vacas mestizas tropicales. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XIII (1): 38-44. 2003.
- [26] PEREA-GANCHOU, F.; SOTO-BELLOSO, E.; PALOMARES-NAVEDA, R.; DE ONDIZ-SANCHEZ, A.; HERNÁNDEZ-FONSECA, H.; CARRILLO, D.; CASTELLANOS, G.; GONZALEZ-FERNANDEZ, R. Postpartum anoestrus treatment with intra-vaginal progesterone device or calf removal for 120 hours in suckled crossbred dual purpose cows. **Reprod Fertil Devel.** 16 (2) (Abstract) 132. 2004.
- [27] PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenol.** 21:495-504. 1984.
- [28] PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenol.** 29:21-37. 1988.
- [29] PORTILLO, G.; SOTO, E.; PALOMARES R.; RAMÍREZ, E. Evaluación de tratamiento con implantes de Norgestomet más PMSG, para el control del Anestro Post Parto en vacas mestizas. **Rev. Cient. FCV-LUZ IX (5):** 440-445. 1999.
- [30] RAMÍREZ, I. L.; SOTO, E.; GONZALEZ, S. C.; SOTO, G.; RINCÓN, U. E. Postpartum ovarian activity and anovulatory estrus in primiparous crossbred cows in Venezuelan tropic. **Rev. Cient., F.C.V-LUZ.** VI (3): 191-196. 1996.
- [31] RIBADU, A.Y.; WARD, W.R.; DOBSON H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. **Vet. Rec.** 135:452-457. 1994.
- [32] RIVERA, G. M.; CHAVES, M. A.; FERRERO, S. B.; BO, G.A. Ovarian follicular synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. **Theriogenol.** 49: 1365-1375. 1997.
- [33] ROSEMBERG, M.; KAIM, M.; HERZ, Z.; FOLMAN, Y. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. I. Effects on plasma progesterone and manifestation of estrous. **J. Dairy. Sci.** 73: 2807-2816. 1990.

- [34] RUIZ-CORTEZ, Z.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Anim Reprod Sci.** 54 (4): 211-220. 1999.
- [35] SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **J. Reprod. Fert.** 97: 197-203. 1993.
- [36] SCHAM, D.; SCHALLENBERGER, E.; MENZER, C. H.; STANGL, J.; ZOTTMEIER, K.; HOFFMANN, B.; KARG, H. Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. **Theriogenol.** 10: 453-468. 1978.
- [37] SOTO, H.; GONZALEZ, B.; GODOY, S.; BELLO, A.; BRETANA, A. Palpación transrectal y cuantificación de progesterona sérica en la evaluación de la actividad ovárica de bovinos mestizos explotados en condiciones tropicales. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** X (1): 56-62. 2000.
- [38] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. SAS User's guide. Statics. 3<sup>rd</sup> Ed., Cary, NC: USA, 750 pp. 1990.
- [39] TAYLOR, C.; RAJAMAHDRAN, R. Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. **Anim. Reprod. Sci.** 22:171-180. 1990.
- [40] TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L. A.; PROULX, J.; DUFOUR, J. J. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of Buserelin and prostaglandin. **Theriogenol.** 38: 1131-1144. 1992.
- [41] VELES, J.S.; RANDEL, R.D. Relationships between plasma progesterone and 13-14 dihydro-15-keto-prostaglandin F<sub>2</sub>á and resumption of ovarian activity during the postpartum period in Brahman cows. **Theriogenol.** 39: 1377-1389. 1993.
- [42] WILLIAMS, G. L.; TALAVERA, F.; PETERSEN, B. J.; KIRSCH, J. D.; TILTON, J. E. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: Effects of suckling and low level increases of systemic progesterone. **Biol. Reprod.** 29:362-373. 1983.
- [43] WILLIAMS, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. **J. Anim. Sci.** 68: 831-852. 1990.
- [44] WISHART D. F.; HOSKIN, B. D. Synchronization of oestrus in heifers using intra-vaginal pessaries impregnated with SC-9880 and PMSG. **J. Reprod. Fert.** 17: 285-289. 1968.
- [45] XU, Z. Z.; BURTON, L. J.; MCDUGALL, S.; JOLLY, P. D. Treatment of noncyclic lactating dairy cows with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, Prostaglandin F<sub>2</sub>á, and Estradiol. **J. Dairy Sci.** 83: 464-470. 2000.
- [46] ZOLLER, W.G.; GARVERICK, H.A.; SMITH, M.F.; MOFFATT, R.J.; SALFEN, B.E.; YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrus cycle. **J. Reprod. Fert.** 97:329-337. 1993.