



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

**MEJORAMIENTO DE LA DISTRIBUCIÓN DE PREÑEZ
UTILIZANDO UN PROGRAMA DE IATF CON SEMEN
REFRIGERADO HETEROSPERMICO EN UN RODEO DE
CRÍA**

Ana Laura Laplacette

Trabajo Final

Para optar al Grado Académico de
Especialista en Reproducción Bovina

INDICE

1.	RESUMEN.....	3
2.	INTRODUCCIÓN	4
	HIPÓTESIS DE TRABAJO	10
	OBJETIVO GENERAL	10
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1.	ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO	10
3.2.	DETERMINACIONES O TRATAMIENTOS	12
	MANEJO DE VACAS.....	12
	MANEJO DE TOROS Y PROCESAMIENTO DE SEMEN.....	14
	DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN Y RECOLECCIÓN DE DATOS	17
3.3.	ANÁLISIS DE DATOS.....	17
4.	RESULTADOS	18
	RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN.....	23
5.	DISCUSIÓN	25
6.	CONCLUSIONES	28
7.	BIBLIOGRAFÍA	29
8.	ANEXO	31

1. RESUMEN

El presente trabajo tiene por objetivo mejorar la distribución de la preñez de un rodeo de cría general utilizando un programa de IATF con semen refrigerado heterospérmico. El experimento se llevó a cabo en el establecimiento “Dos Anas”, ubicado en el cuartel VI del partido de Laprida; se utilizaron 195 vacas para carne, Bos Taurus raza Hereford, Polled Hereford y cruce. Se separaron las vacas en tres grupos de acuerdo a su fecha de parto; Grupo 1 (paridas entre el 25 de julio y el 25 de Agosto – CABEZA-) (n=80), Grupo 2 (paridas entre el 25 de Agosto y el 10 de Septiembre – CUERPO-) (n=54) y Grupo 3 (paridas entre el 25 de Septiembre y el 20 de Octubre – COLA-) (n=61). Cada uno de estos grupos se subdividió al azar en TRATAMIENTO (IATF con semen refrigerado heterospérmico) y CONTROL (servicio natural con toros). Se colectaron eyaculados de tres toros para lograr pajuelas de semen fresco heterospérmico para inseminar los grupos TRATAMIENTO 1 y 2, y dos toros para el TRATAMIENTO 3. Los grupos CONTROL recibieron servicio natural con los mismos toros que fueron colectados para el tratamiento. A través de ultrasonografía se registraron datos de Preñez anticipada y Distribución de preñeces logradas. Los resultados obtenidos fueron analizados por test de Chi-cuadrado y Regresión Logística, y no mostraron diferencias significativas para las variables: Tipo de servicio (IATF con semen refrigerado heterospérmico vs. Servicio natural), Condición corporal y Estado reproductivo previo al servicio (cíclicas vs. Anestro superficial). Es necesario repetir el trabajo para lograr mejores índices de preñez al tratamiento de IATF que nos permitan evaluar mejor el efecto del protocolo, el semen refrigerado y la heterospermia sobre la distribución de preñez.

Palabras clave: anestro postparto – inseminación a tiempo fijo – semen refrigerado– heterospermia

2. INTRODUCCIÓN

En un sistema de cría, lograr un ternero por vaca por año resulta el objetivo primario para optimizar la ganancia económica por ciclo (Carrillo, 1988). Para cumplir esa meta es necesario perseguir la máxima eficiencia reproductiva, donde la tasa de concepción y la distribución de la preñez en el rodeo resultan dos de los factores más importantes. Teniendo en cuenta que la duración de la gestación bovina es de alrededor de 283 días y que el intervalo entre partos debe mantenerse en 365 días, la época de servicio no debería superar los 82 días. En condiciones pastoriles, las vacas de cría recuperan su capacidad reproductiva en períodos variables de 40 a 60 días, significando que la posibilidad de quedar preñada manteniendo el intervalo entre partos está representada por la eficiencia del servicio de un estro o dos (Bó et al., 2005). La obtención temprana de la preñez durante ese corto período de servicio resultará en terneros de mayor edad, y consecuentemente peso, al momento del destete (Cutaia et al., 2003).

El objetivo de éste trabajo se basa en mejorar la distribución de la preñez de un rodeo de cría comercial. Basado en las necesidades del productor y sus capacidades económicas, utilizando las herramientas disponibles y con una baja inversión económica, se planteó un programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) con semen refrigerado heterospérmico que permitiera trabajar sobre la distribución en comparación al planteo actual de servicio natural del establecimiento.

Según Short et al. (1990), tras el parto, las vacas atraviesan un período variable de infertilidad hasta que recuperan su capacidad reproductiva. Hay varios factores que determinan esa incapacidad transitoria; entre ellos se encuentran la involución uterina, los ciclos cortos y los anestros, sumado a un componente de infertilidad general que decrece en un 20-30% la fertilidad en cualquier ciclo estral y no se restringe únicamente al período de posparto. En los rodeos de cría, pocas vacas muestran estro tan temprano como para que la involución uterina interfiera en el logro de la preñez, exceptuando los casos de enfermedades que afectan la restitución uterina normal. Es frecuente, en cambio, la aparición de ciclos estrales cortos después de la primera ovulación posparto en vacas de carne debido a la formación de un cuerpo lúteo subnormal, más pequeño que secreta menos progesterona, es menos sensible a la estimulación y se lisa antes de que el ovario reciba las señales de reconocimiento de preñez por parte del útero (Short et al., 1990). El anestro postparto es el factor que afecta por mayor tiempo el retorno a la capacidad reproductiva en sistemas productivos de cría;

éste período anovulatorio posterior al parto es afectado principalmente por factores como la nutrición (Randel, 1990), la presencia del ternero y el amamantamiento; y en menor medida por factores como la raza y genotipo, la estación del año, la edad de la vaca, el número de partos y la presencia del toro (Short et al., 1990).

De acuerdo con Macmillan y Burke (1996), en la mayoría de los casos, el anestro postparto se debe a que una serie de folículos dominantes fallan a la hora de ovular. Las ondas de crecimiento folicular se encuentran presentes en el post parto temprano. En vacas de carne, Murphy et al. (1990) documentaron el surgimiento de la primera onda de crecimiento folicular 5 a 10 días luego del parto. Sin embargo, aunque los niveles de progesterona son basales, el folículo dominante de la primera onda postparto, no siempre es ovulatorio; sólo se produce el 11% de ovulación del mencionado folículo (Murphy et al., 1990).

En el período posterior al parto, la relación establecida entre la vaca y su ternero afecta la regulación central de la secreción de gonadotrofinas. El estímulo inhibitorio al celo y la ovulación inducido por la succión, y/o especialmente por la presencia del ternero en vacas de carne está explicado por una disminución de la frecuencia pulsátil de liberación de LH, disminución de la concentración de receptores de LH foliculares y consiguiente disminución de síntesis de andrógenos que son los precursores del pico de estradiol en el proestro (Murphy et al., 1990). Las bajas concentraciones de LH no llegan a estimular la producción normal de Estradiol por las células de la granulosa en el folículo, el folículo dominante puede crecer y llegar hasta la desviación folicular pero no encuentra el ambiente hormonal adecuado para llegar al estadio preovulatorio; el estro no se produce, como tampoco el adecuado pico preovulatorio de LH, por lo tanto el folículo regresa y se producen nuevas ondas de emergencia folicular a intervalos de 8 a 10 días (Macmillan y Burke, 1996). En ésta condición, los picos de LH pueden ser producidos farmacológicamente mediante la inyección de Estradiol o GnRH pero esto no logra la ovulación ni la normal formación de la estructura luteal a menos que el pico de LH sea precedido por una fase luteal normal o una producida artificialmente utilizando progesterona o progestágenos.

Según Roche et al. (1992), los tratamientos con progesterona por 7 a 12 días, adelantan el tiempo de la primera ovulación posparto, disminuyen la incidencia de ciclos cortos y aumentan la ocurrencia y el comportamiento de celo a la primera ovulación. El fundamento de inducir actividad sexual en vacas en anestro mediante el uso de dispositivos intravaginales con progesterona se basa en que al permanecer el mismo colocado durante 7 u 8 días se generan niveles de progesterona en sangre que imitan la primera fase luteal que se produce luego de ocurrido el parto; la cual es de corta duración

en la mayoría de los casos (Murphy et al., 1990). A posteriori de ésta, los animales comienzan a tener ciclos estrales regulares.

En vacas lactantes, la baja eficiencia en la detección de celo y la alta presencia de anestro posparto son las principales características que afectan las estrategias de servicio y la obtención de la preñez temprana. Para afrontar estas limitaciones, se presentan como opción los protocolos de IATF, tratamientos farmacológicos designados para sincronizar celo, inducir ovulación y realizar inseminación sin detección de celo a través del uso de dispositivos intravaginales con progesterona combinado con sales de estrógenos al inicio y al retiro del dispositivo, y con una inyección de un agente luteolítico al final del tratamiento (Bó et al., 1995). Éste protocolo permite sincronizar celo y ovulación en animales que se encuentran ciclando y también inducir actividad ovárica en aquellos que están en anestro, permitiendo un acortamiento del intervalo parto-concepción individual y con esto, una mejor distribución de las preñeces durante el período de servicio a nivel rodeo.

Para determinar si una vaca está ciclando, se puede utilizar un equipo de ultrasonografía y caracterizar la estructura ovárica predominante. La ecografía ha permitido la designación de tres tamaños foliculares funcionalmente críticos durante las etapas finales del crecimiento folicular: emergencia (4 mm), desviación (9 mm) y tamaños ovulatorios (variables de 10 a 20 mm; Wiltbank et al., 2002). A ésta información se puede sumar la presencia o ausencia de estructura luteal y clasificar los vientres en tres categorías: Cíclicas (presencia de cuerpo lúteo), en Anestro Superficial (con folículos mayores a 9 mm) y en Anestro Profundo (folículos menores a 9 mm). La categorización en base a este criterio proporciona un diagnóstico del estado reproductivo posparto y permite trazar estrategias racionales a la condición fisiológica subyacente y elegir alternativas farmacológicas más eficientes. Por ejemplo, en vacas en Anestro Superficial, donde no hay evidencia de que haya ocurrido la primera ovulación posparto, la administración de 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en la extracción del dispositivo en un tratamiento basado en progesterona y estradiol tiende a aumentar la tasa de crecimiento del folículo ovulatorio y mejora la tasa de ovulación (Nuñez Olivera et al., 2014). A éste beneficio se suma la propiedad de eCG de inducir un CL más grande y mayores concentraciones de progesterona tras la ovulación; estos datos fueron reportados por Nuñez-Olivera et al. (2014), en un trabajo que muestra resultados con mayores índices de preñez al administrar eCG al retiro del dispositivo en vacas de carne en anestro.

Sin embargo, el objetivo del ensayo no era trabajar en la distribución de la preñez exclusivamente acortando el período de anestro seguido a la parición, sino también utilizar técnicas que nos permitieran lograr mejores índices de concepción al primer servicio posparto. Siguiendo ésta línea,

se decidió inseminar con semen refrigerado de los mismos toros que utiliza el productor para su servicio natural y realizar pajuelas heterospérmicas.

El proceso de congelamiento es el responsable de una considerable disminución de la motilidad espermática, llevando a alteraciones estructurales y bioquímicas que afectan las distintas organelas espermáticas y llevan a la muerte celular durante el procesamiento (Watson, 1995).

Según Watson (1995), la criopreservación incluye todos los procesos desde la salida hasta el retorno de la célula al cuerpo, incluyendo la disminución de temperatura por debajo del punto de congelamiento del medio. Los estímulos nocivos están representados principalmente por los cambios de temperatura, los efectos dañinos de los componentes del medio de dilución y de los crioprotectores y los efectos del descongelamiento posterior (Visnawarth y Shannon 2000).

Los efectos físicos de refrigerar y posteriormente congelar una suspensión celular resulta en un número de cambios en el ambiente extracelular que incluyen el movimiento de agua y solutos; las células experimentan la caída de la temperatura, la eliminación de agua líquida de su interior, la concentración de solutos y la formación de cristales de hielo (Mazur, 1965). La determinación de las curvas de congelación con el fin de optimizar la supervivencia de los espermatozoides tras el descongelamiento, se han realizado prestando especial atención al período durante el proceso de congelamiento en el cual el agua sale del interior de la célula (Visnawarth y Shannon, 2000).

En el espermatozoide, los efectos de la criopreservación se evidencian en distintas estructuras. La mayoría de las organelas importantes se encuentran envueltas por membranas como es el caso de la membrana plasmática, la membrana acrosomal externa y las mitocondriales; éstas son particularmente vulnerables al congelamiento. Las membranas espermáticas presentan la conformación clásica de bicapa fosfolipídica con proteínas integrales, glicolípidos y glicoproteínas pero con una combinación de fosfolípidos y colesterol particular. Una de sus principales características es la asimetría entre las capas, necesaria para su funcionamiento normal. Cuando se produce enfriamiento o recalentamiento, enzimas termodependientes rompen esa asimetría y vuelven la membrana más fluída, fusionable, permeable e inestable resultando en la capacitación del espermatozoide con una disminución de la expectativa de vida del mismo. Se documentan también efectos sobre el citoesqueleto, producidos por los cambios de volumen celular y por el efecto de los cambios de temperatura en los procesos de despolimerización y repolimerización de proteínas termodependientes; en el axonema, considerado más resistente igual experimenta variaciones en su permeabilidad, cambios en el transporte activo y menor disponibilidad de energía; en la estructura

mitocondrial, puesto que se produce la formación de cristales de hielo de gran tamaño que generan pérdidas de la estructura interna evidenciables a la descongelación, con probable efecto sobre la producción de ATP y por tanto menor disponibilidad de energía; y en el núcleo, que aunque está demostrado que es una estructura estable, se han registrado ciertas alteraciones producto del cambio de temperatura y del efecto del diluyente (Watson, 1995).

El semen refrigerado, previene el daño asociado a congelamiento, asegurando una mayor viabilidad espermática. Esto permite disminuir la dosis inseminante, optimizando el uso de toros de alto mérito genético en programas de inseminación artificial. Representa una alternativa al semen criopreservado que puede resultar en mayores porcentajes de preñez y menores costos totales de los programas de IATF (Cresphilo et al., 2014). Se fundamenta que el semen refrigerado asegura un mayor número de espermatozoides motiles intactos que contactan al óvulo y son capaces de fertilizar en comparación con el congelado (Cresphilo et al., 2012). La refrigeración a valores de 5°C resulta en la reducción del metabolismo espermático y tiene como principio la preservación de la viabilidad y el aumento de la longevidad de los espermatozoides (Vishwanath y Shannon, 2000).

En un experimento, Cresphilo et al. (2012) reportaron un porcentaje de concepción un 15% mayor obtenido luego de IATF con semen refrigerado por 24 horas comparado con semen congelado convencional. En el mismo trabajo, documentaron como período crítico de almacenamiento del semen líquido en frío previo a la IA, a aproximadamente 48 horas, registrando a partir de ese tiempo disminución en viabilidad espermática y fertilidad; y cómo momento de máxima eficiencia en relación a viabilidad a 24 horas en diluyentes de yema de huevo. En una revisión bibliográfica realizada por Ibañez et al. (2017), se documentaron los resultados de trabajos realizados en Argentina, Brasil y Estados Unidos comparando protocolos de IATF con semen refrigerado y congelado con distintos diluyentes y métodos de colecta de semen y en distintas categorías de animales (vaquillonas y vacas con cría al pie). De los trabajos realizados en Argentina en los que se puede descartar el efecto toro, aunque sin diferencias significativas, se desprenden resultados de preñez mayores en los grupos de animales inseminados con semen refrigerado.

La heterospermia se define como la condición en la cual una hembra recibe semen de más de un macho en un corto período cerca de la ovulación, de modo que se produce una mezcla de esperma que queda disponible para la fertilización (Beatty et al., 1969). En la naturaleza y en los sistemas productivos de servicio natural, ésta condición no es infrecuente. Mezclar cantidades iguales de esperma de diferentes machos e inseminar las mezclas resulta una práctica con un resultado más cercano a lo que ocurre naturalmente y permite comparar de una forma más representativa los

resultados de la IATF en relación al servicio natural, disminuyendo el efecto individual de cada toro. Hay trabajos que posicionan a la heterospermia como una medida objetiva de la fertilidad relativa de cada macho incluso mejor que las evaluaciones de calidad seminal, puesto que cada espermatozoide tiene teóricamente una oportunidad igual de fertilizar un óvulo sin tener en cuenta la variación entre hembras, estaciones, manejo o técnico (Beatty et al., 1969). Pero no es esa ventaja la que lleva a utilizar ésta técnica en este trabajo, sino las evidencias de obtención de mejores tasas de concepción en favor de la inseminación con mezclas de semen de distintos toros.

Hess et al. (1958) reportaron experimentos, comparando la tasa de preñez producto de inseminaciones con mezclas heterospermicas refrigeradas de toros de raza Holstein y Guernsey versus material homóspermico de los mismos, registrando un mayor porcentaje de concepción al No Retorno (60-90 días) en favor de las mezclas. Beatty et al. (1969) también registraron al medir el No Retorno a las 16 semanas, una diferencia (2,6% superior) en favor de mezclas seminales de dos toros en comparación con las muestras individuales en forma de semen liquido refrigerado. Hay otros trabajos con resultados más variables (Nelson et al, 1975), que no demuestran diferencias significativas de fertilidad inseminando con mezclas de semen de dos toros congeladas comparado con inseminación homospérmica, pero sí hay un aumento cuando las mezclas son de tres toros. Más cercanos a la actualidad, Almeida et al. (2017) trabajaron en Brasil sobre ganado Nelore, comparando los efectos sobre el porcentaje preñez del uso de semen heterospermico de tres toros versus semen convencional de los mismos, dentro de un programa de inseminación a tiempo fijo, concluyendo que no hubo diferencias significativas.

Hay poca evidencia que determine la causa por la cual las mezclas de semen lograrían mejores tasas de concepción, y en algunos trabajos mejores parámetros de calidad seminal (Hess et al., 1958). Factores involucrados podrían ser una mayor capacidad de buffer, una sinergia en la acción enzimática del semen y la presencia de distintos reguladores metabólicos o nutrientes plasmáticos seminales. Se considera posible que el efecto potenciador se deba a las considerable diferencias que existen en los constituyentes seminales entre eyaculados de diferentes toros y también de distintos eyaculados del mismo toro; si el semen careciera de algún componente, se vería beneficiado por un plasma seminal más rico con el que fue unido (Hess et al., 1958).

2.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El uso de IATF con semen refrigerado heterospérmico mejora la distribución de la preñez en un rodeo de cría.

2.2. OBJETIVO GENERAL

El presente trabajo tiene por objetivo mejorar la distribución de la preñez de un rodeo de cría general utilizando un programa de IATF con semen refrigerado heterospérmico.

2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Mejorar la performance reproductiva general de los lotes seleccionados del establecimiento.

Realizar un ranking de reproductores machos del establecimiento que optimicen la eficiencia reproductiva tanto del servicio natural como de la inseminación con el material seminal de los mismos.

Evaluar la respuesta a los protocolos de sincronización a través de la expresión de celo (pintura) sobre la tasa de preñez obtenida.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO

El presente trabajo se llevó a cabo en el establecimiento “Dos Anas”, ubicado en el cuartel VI del partido de Laprida (Provincia de Buenos Aires), cuya principal actividad consiste en la cría de animales raza Hereford y Polled Hereford sobre praderas de pastizal natural, con una carga anual promedio de 0,83 EV/ha.

El planteo de cría del establecimiento consiste en un sistema de pastoreo rotativo en parcelas de campo natural. Después del destete de sus crías, las vacas preñadas son sometidas a una concentración preparto en sorgos forrajeros, doble propósito y graníferos con el objetivo de darle descanso a los potreros de parición de pastizal natural y, sobre todo garantizar que las vacas lleguen al parto con CC 3-3.5 –escala 1 a 5- para mejorar el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto (Randel, 1990). Un mes antes del parto se distribuyen de acuerdo a su fecha de parición estimada durante el diagnóstico de gestación por palpación rectal (cabeza, cuerpo y cola) a distintos potreros de parición.

Con excepción de las vaquillonas de primer servicio, que son entoradas en otoño al cumplir 22 meses, se realiza sobre todo el rodeo un servicio natural estacionado de aproximadamente 120 días

que se extiende desde el 20 octubre al 10 febrero. Se utilizan toros de producción propia, hijos de un grupo de vacas plantel seleccionadas producto de la implementación de IATF con semen congelado de toros de cabañas y repaso con toros comprados. Todas las vacas del campo entran a servicio natural el 20 de octubre. Generalmente sólo las vacas paridas durante el primer y segundo mes de iniciada la temporada de partos, cumplen los 40-45 días de puerperio a la fecha; para el resto de animales que no lo hacen, el productor igual decide entorar en esa fecha buscando que la presencia del toro estimule el reinicio de la actividad ovárica más temprano (Zalesky et al., 1984).

La zona donde se encuentra el establecimiento sufrió dos años de fuerte sequía (2016-2017) que provocaron una disminución en la oferta y calidad forrajera impactando nutricionalmente en los estados generales de los animales. Éste impacto se vio reflejado en la condición corporal de los mismos y coincidentemente se registraron durante éstos períodos menores índices de preñez relacionados con los históricos y menores porcentajes de terneros cabeza logrados.

Tabla 1. Registro del porcentaje y de la distribución de preñez a la palpación rectal realizada 60 días de finalizado el servicio en los vientres del establecimiento Dos Anas durante tres años consecutivos (2016 a 2018).

CATEGORÍA/AÑO	2016	2017	2018
CABEZA	296 (52%)	365 (54%)	252 (41 %)
CUERPO	139 (24%)	92 (13,5%)	156 (26 %)
COLA	114 (20%)	126 (18,5%)	101 (17 %)
VACÍAS	24 (4%)	96 (14%)	97 (16 %)

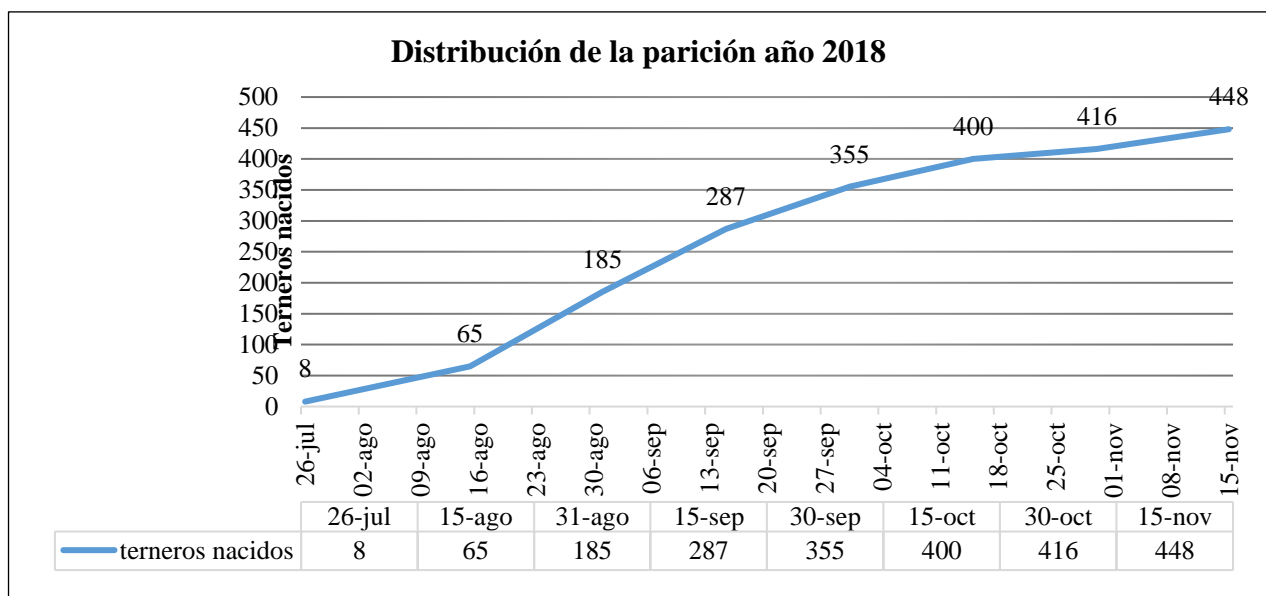


Figura 1. Curva que registra los nacimientos ocurridos durante el período de parición 2018. Obsérvese que el porcentaje de terneros nacidos cabeza (primer mes) es considerablemente menor (alrededor del 41%) al 60% deseado (Carrillo, 1988).

3.2. DETERMINACIONES O TRATAMIENTOS

MANEJO DE VACAS

Se utilizaron 195 vacas para carne, Bos Taurus raza Hereford, Polled Hereford y cruce (carena). Las vacas fueron seleccionadas por condición corporal (superior a 2,5, en una escala del 1 al 5), edad (boca llena hasta 1/4 diente), ciclicidad (presencia de CL o folículo > 9 mm en ovarios por ultrasonografía – Tringa linear Vet, Esaote-) y completa involución uterina posparto (puerperio morfológico completo por palpación y ultrasonografía uterina). Todas las vacas seleccionadas se encontraban con cría al pie.

Durante los meses de parición de la temporada 2018 (Julio –inicio de la parición después del día 25-, Agosto, Septiembre, Octubre) se separaron las vacas en tres grupos de acuerdo a su fecha de parto. Grupo 1 (vacas paridas entre el 25 de julio y el 25 de Agosto – CABEZA; n=80), Grupo 2 (vacas paridas entre el 25 de Agosto y el 10 de Septiembre –CUERPO; n=54), Grupo 3 (vacas paridas entre el 25 de Septiembre y el 20 de Octubre – COLA; n=61).

A su vez, cada uno de estos grupos se subdividió al azar en dos subgrupos TRATAMIENTO (IATF con semen refrigerado heterospérmico) y CONTROL (servicio natural con toros).



Foto 1. Vacas seleccionadas para el grupo 1 paridas entre el 25 de julio y el 25 de Agosto (CABEZA) y luego separadas al azar para formar los grupos CONTROL 1 y TRATAMIENTO 1. A la izquierda con caravanas color rojo numeradas en la oreja izquierda se definió el grupo control destinado a

servicio natural; a la derecha, con caravanas rojas en la oreja derecha, el grupo tratamiento destinado a inseminación a tiempo fijo con semen refrigerado heterospérmico.

Para la fecha de inicio del servicio en el establecimiento (20 de octubre) los grupos 1 y 2 habían superado los 40 días posparto. Diez días previos al día de servicio, se inició un tratamiento de sincronización de celo y ovulación en las vacas del grupo TRATAMIENTO 1 –CABEZA- (n=40) y TRATAMIENTO 2 –CUERPO- (n=27), administrando 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Calier) intramuscular (im) y colocando un dispositivo intravaginal de progesterona (Pluselar 0,6 gr., Calier). En el Día 8, se retiraron los dispositivos y se administraron 150 µg de d-Cloprostenol (Veteglan, Calier), 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (Calier) y 400 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) por vía im a aquellas vacas que se encontraban en anestro superficial al inicio del tratamiento (Novormon, Syntex). Se pintaron todas las vacas con Celo-test en la base de la cola para tomar registro de la expresión de celo el día de la inseminación (Acosta Romero, 2012). El Día 10, se realizó la inseminación con semen refrigerado heterospérmico a partir de las 52 hs. del retiro de dispositivos. Un día antes de la inseminación, el grupo CONTROL 1 –CABEZA- (n=40) y el grupo CONTROL 2 –CUERPO- (n= 27) ingresaron a servicio natural. Diez días posteriores a la inseminación, ingresaron toros de repaso a los grupos TRATAMIENTO 1 y 2.

A diferencia de éstos grupos, los grupos 3 TRATAMIENTO (n= 33) y CONTROL (n= 28) –COLA- al día de inicio del servicio no habían completado su puerperio. Las vacas del grupo 3 CONTROL entraron a servicio natural el mismo día que los grupos CONTROL 1 y 2, siguiendo el esquema de trabajo habitual del establecimiento. El grupo 3 TRATAMIENTO fue enviado a la zona de recría del establecimiento para evitar el contacto con toros y aislado hasta cumplidos los 30 días posparto cuando se inició el protocolo de sincronización de celo y ovulación. El día fijado para el inicio del tratamiento de las vacas a inseminar, se evaluaron los dos grupos 3, CONTROL y TRATAMIENTO, por ultrasonografía y palpación rectal. Esto se realizó con el objetivo de recolectar los datos de estatus ovárico y uterino que no habían podido ser medidos al inicio del servicio como los otros grupos puesto que el puerperio no había finalizado, se tuvo especial cuidado en las vacas CONTROL 3 que estaban con toro por si al momento hubieran existido preñeces chicas. Se inició un tratamiento de sincronización de celo y ovulación en las vacas del grupo TRATAMIENTO 3, utilizando el mismo protocolo que en los TRATAMIENTOS 1 y 2, pero en este caso todas las vacas recibieron 400 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (Novormon, Syntex).

Tabla 2. Cronología y pasos de los tratamientos de todos los grupos de vacas.

10 de octubre	Inicio tratamiento de sincronización grupos TRATAMIENTO 1 Y 2 (DISP + BE)₁
18 de octubre	Retiro de dispositivo (RET. DISP + PGF + CPE; anestro superf. ECG)₂ . Pintura.
19 de octubre	Colecta de semen toros e ingreso a servicio en grupo CONTROL 1 Y 2. Evaluación, procesamiento y refrigeración de semen. Inicio de servicio del grupo CONTROL 3.
20 de octubre	AM envasado de semen en pajuelas PM inseminación Grupo TRATAMIENTO 1 Y 2
30 de octubre	Ingreso toros repaso grupo TRATAMIENTO 1 Y 2
21 de noviembre	Inicio tratamiento de sincronización grupos TRATAMIENTO 3 (DISP + BE)₁
25 de noviembre	Descanso de 5 días a toros en servicio de vacas CONTROL GRUPO 3
29 de noviembre	Retiro de dispositivo (RET. DISP + PGF + CPE+ ECG)₃ . Pintura.
30 de noviembre	AM Colecta de semen toros y vuelta a servicio en grupo CONTROL 3 US ₄ lotes CONTROL y TRATAMIENTO 1 y 2
1 de diciembre	AM envasado de semen en pajuelas PM inseminación Grupo TRATAMIENTO 3
10 de diciembre	Ingreso toros repaso Grupo TRATAMIENTO 3
10 de enero	US ₄ lotes CONTROL y TRATAMIENTO 3

₁ DISP+BE= colocación de dispositivo intravaginal de progesterona y administración de Benzoato de Estradiol intramuscular.

₂ RET. DISP + PGF + CPE; Anestro superf. ECG= Retiro de dispositivo de progesterona, administración de dosis de prostaglandina F2 α y Cipionato de Estradiol intramuscular. Administración de eCG solo a vacas en Anestro superficial.

₃ RET. DISP + PGF + CPE+ ECG= Retiro de dispositivo de progesterona, administración de dosis de prostaglandina F2 α y Cipionato de Estradiol intramuscular. Administración de eCG a todas las vacas del grupo Tratamiento 3.

₄ US= Ultrasonografía.

MANEJO DE TOROS Y PROCESAMIENTO DE SEMEN

Con el fin de seleccionar los toros para el ensayo, se realizó el examen pre-servicio clínico y sanitario de todos los toros del campo 60 días antes del inicio del servicio. Todos los toros resultaron negativos a los dos raspajes para el diagnóstico de Trichomoniasis y Campylobacteriosis (Laboratorio Azul), al análisis BPA para el diagnóstico de Brucelosis (Laboratorio Azul) y a la prueba de la tuberculina. Se registraron los datos de circunferencia escrotal de todos los animales.

Tres semanas previas al servicio se realizó la prueba de capacidad de servicio con duración de 20 minutos (parámetros: baja C.S: 0-1 servicio, media C.S: 2-3 servicios, alta C.S: 4-6 servicios, muy alta C.S: 7 o más servicios; Blockey, 1981). Se confeccionó un ranking de toros, seleccionando

para el trabajo sólo animales con alta capacidad (mayor a 4 servicios en 20 minutos) y buena circunferencia, quedando elegidos los 12 mejores toros de acuerdo a estos parámetros.

Dos semanas previas al inicio del tratamiento de sincronización de las vacas TRATAMIENTO se realizó un examen de calidad seminal a los 12 toros pre-seleccionados. Se solicitaron datos de motilidad masal, motilidad individual progresiva/vigor, concentración y morfología. Con excepción de un toro que fue descartado por valores inadecuados e insuficientes, los demás animales evaluados presentaron parámetros de buena calidad seminal y fueron seleccionados para formar los grupos de toros para las colectas y los repasos.

Tabla 3. Datos recolectados para la selección de toros; entre ellos, número de identificación, edad por boqueo, resultados de raspajes y pruebas BPA y tuberculina, medida de circunferencia escrotal, capacidad de servicio, potencial de entore y parámetros de calidad seminal.

Nº FUEGO	DIEN- TOS	RASP 1º Y 2º	BPA/P PD	CE (cm)	C.SERV	P.E	CAL. SEM (MM)	CAL. SEM (MI/V)	CAL. SEM (Conc. -10*6 z/ml-)	CAL. SEM (aspecto)	CAL. SEM (Morfología)
140	BD	-	-	38.5	5 (alta)	55	3	75/3	900	cremoso	87%N
153	BD	-	-	42.5	6(alta)	60	4+	90/4	1400	cremoso	88%N
522	BD	-	-	36	5(alta)	55	3	80/3	900	cremoso	85%N
519	BD	-	-	38.5	7(alta)	65	3	80/3	600	lechoso	94,5%N
510	BD	-	-	37	4 (alta)	50	2+	45/3	1000	cremoso	42%N
520	BD	-	-	37.5	9(alta)	75	3+	90/4	1000	cremoso	91%N
521	BD	-	-	36	6 (alta)	60	3+	80/3	600	lechoso	85%N
523	BD	-	-	35.5	10(alta)	80	5	90/5	1500	cremoso	72%N
507	BD	-	-	38	7(alta)	65	4	80/4	1500	cremoso	88,5%N
518	BD	-	-	38.5	10 (alta)	80	4+	90/4	1400	cremoso	81,5%N
654	BD	-	-	36	9(alta)	75	5	85/4	900	cremoso	88% N
602	BD	-	-	37	9(alta)	75	3	70/3	500	lechoso	85%N

(MM: motilidad masal, MI/V: motilidad individual/ vigor, Conc.: concentración, %N: porcentaje de espermatozoides normales). Figura en colorado, el único toro que no resultó apto por datos de calidad seminal.

Sobre la base de éstos resultados y con el objeto de obtener pajuellas de semen heterospérmico refrigerado, el día previo a la inseminación de las vacas TRATAMIENTO del grupo 1 y 2 se realizó la colecta de semen de tres toros. La colecta se llevó a cabo por la mañana, utilizando un electroeyaculador (Electrojac 5), y se realizó la evaluación del material obtenido de cada toro, resultando en parámetros aptos y similares a los de los exámenes de calidad seminal previos. Los valores mínimos establecidos fueron de 60% de motilidad progresiva y vigor 4 al final de la evaluación con el objetivo de seleccionarlos para el posterior procesamiento del semen refrigerado con el 70 % espermatozoides normales, no más de 15% de defectos de cabeza y 25 % de cola. Tras la colecta, los toros ingresaron a servicio natural en el lote CONTROL 1 y 2.

El semen se procesó con diluyente natural en base a leche descremada con un 20% de yema de huevo y se unió el semen de los tres toros con el objetivo de lograr la heterospermia.

La motilidad progresiva del semen final fue del 90% y el vigor de 4 (escala 1 a 5) con una concentración de 30 millones de espermatozoides por pajuela.

Se realizó un enfriamiento rápido del semen diluido, que se hallaba envasado en una botella de vidrio, a 5°C.

El día de la inseminación por la mañana, se llevó a cabo la evaluación de la motilidad progresiva individual y del vigor del semen refrigerado (MI/V: 80/4) y se realizó el envasado del mismo en forma manual en un ambiente con temperatura de 5°C en pajuelas de 0.5 ml. Se evaluaron dos pajuelas para controlar calidad seminal apta y homogeneización correcta para lograr concentración esperada por pajuela (30 millones de espermatozoides). Por la tarde, a 52hs del retiro de dispositivos de progesterona, inició la inseminación de los grupos 1 y 2 TRATAMIENTO que se llevó a cabo en un período de 40 minutos.

Diez días posteriores a la inseminación, ingresaron los toros de repaso al lote de los grupos TRATAMIENTO 1 Y 2.

El protocolo de toros para los Grupos 3 fue diferente, puesto que a la fecha del inicio de servicio del establecimiento no había transcurrido un período de posparto de 40 días. Para las vacas del Grupo 3, se utilizaron dos toros que fueron enviados a servicio natural al lote CONTROL 3, el día que inició el servicio para los otros grupos CONTROL 1 y 2. Se estableció la fecha de inseminación del grupo TRATAMIENTO 3 respetando el período de 40 días posparto cumplidos al día de la inseminación y por ende la colecta de semen de esos toros se realizó el día previo. Siguiendo éste esquema, los toros que debían colectarse en ese entonces se hallaban en servicio y fue necesario asegurar un descanso previo a la extracción de semen, por lo que fueron retirados de servicio 5 días antes de la colecta. Por ese período de 5 días, ingresaron al lote CONTROL dos toros con similares características de capacidad de servicio y CE. El día de colecta por la mañana, se realizó la obtención de semen con electroeyaculador, se realizó la evaluación, procesamiento con diluyente natural en base a yema de huevo y leche descremada y mezcla del semen de los dos toros siguiendo el mismo procedimiento explicado para el grupo 1 y 2. Al otro día por la mañana, se realizó el envasado en pajuelas de 0,5 ml y la evaluación de dos pajuelas del total de logradas (MI/V: 75/4).

Cumplidas las 52 horas del retiro de dispositivos, inicio la inseminación del grupo TRATAMIENTO 3, concluyendo 30 minutos más tarde.

Pasados 10 días de la inseminación, los toros de repaso ingresaron a servicio en el grupo TRATAMIENTO 3.

DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN Y RECOLECCIÓN DE DATOS

El primer diagnóstico de gestación se realizó a las 40 días de la IATF mediante ultrasonografía (Tringa linear Vet, Esaote), con el objetivo de determinar las preñeces producto de la IATF en las vacas TRATAMIENTO y compararlas con la dispersión de las logradas por servicio natural del CONTROL en los primeros días. Posteriormente se realizaron evaluaciones cada 30 días para ir registrando nuevas preñeces y su distribución en el período de servicio. Tradicionalmente en el establecimiento, se realiza el diagnóstico de gestación general por palpación rectal, a los 60 días de finalizado el período de servicio, por lo que fueron incluidos los datos de preñez final pertenecientes a los grupos de trabajo recolectados durante esta evaluación.

3.3. ANÁLISIS DE DATOS

Mediante el programa InfoStat (InfoStat, 2018), se determinó el nivel de asociación de la preñez anticipada y de la distribución de preñeces con el tipo de servicio realizado (tratamiento o control) utilizando un test de chi-cuadrado. Se declara asociación significativa a un valor de P inferior a 0,05 ($\alpha=0,05$).

A su vez, los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa SPSS (IBM SPSS Statistics 22, 2013). Se utilizó regresión logística binaria, donde se evaluaron las variables independientes: Tipo de servicio (IATF con semen refrigerado heterospérmico vs. Servicio natural), Condición corporal (medido en escala de 1 a 5) y Estado reproductivo (status ovárico y uterino por US). Se analizaron los efectos sobre la variable dependiente: preñez anticipada (preñez a la primera US).

Se utilizó regresión logística multinomial (IBM SPSS Statistics 22, 2013) para evaluar los efectos de las variables independientes: Tipo de servicio (IATF con semen refrigerado heterospérmico vs. Servicio natural), Condición corporal (medido en escala de 1 a 5) y Estado reproductivo (status ovárico y uterino por US), sobre la variable dependiente: distribución de la parición (mes de servicio en el que se logró la preñez).

Se evaluó el efecto de la expresión del celo de las vacas que recibieron tratamientos hormonales, evaluada a través de la aplicación de pintura, sobre el porcentaje de preñez a la inseminación, usando para su análisis estadístico la Prueba de Chi Cuadrado ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Los resultados generales, de acuerdo a la prueba de Chi-cuadrado, mostraron que las variables tipo de servicio y obtención de preñez anticipada son independientes ($P > 0,05$). El efecto ocasionado por la elección de IATF con semen refrigerado heterospérmico o de servicio natural no puede ser asociado con el logro de una preñez temprana durante los primeros días de servicio, tanto cuando las variables fueron evaluadas individualmente como cuando fueron evaluadas en relación a otras variables como la Condición corporal y el Estatus reproductivo al inicio del servicio.

Los resultados por grupo, indicaron que en el GRUPO 1 (Cabeza) y en el GRUPO 3 (Cola), hay asociación entre el Tipo de Servicio y la Preñez anticipada ($P=0,03$ y $P= 0,0083$ respectivamente). Sin embargo al observar la fuerza de la asociación a través de los ODD Ratio (OR), nos damos cuenta que ésta es inversa si comparamos los dos grupos; en el GRUPO 1, el $OR\ 2/1 = 3,05$ es mayor a 1 lo que implica que la asociación positiva con la preñez temprana está dada por el servicio a través de IATF con semen fresco heterospérmico: las vacas que recibieron este tratamiento tuvieron un poco más de tres veces mayor probabilidad de lograr una preñez anticipada que las que fueron a servicio natural. En el GRUPO 3 la asociación fue inversa ($OR\ 1/2 = 4,05$), indicando que las que tuvieron un poco más de 4 veces mayor posibilidad de preñarse temprano fueron las entoradas.

En el Grupo 3 la asociación entre el Tipo de servicio y la preñez anticipada se mantiene tanto cuando la evaluación es por fuera del modelo (efecto individual de la variable independiente sobre la preñez anticipada), como dentro del mismo siendo afectado por la Condición corporal y el Estado reproductivo. En el Grupo 1 la asociación solo se produce cuando el efecto de la variable Tipo de servicio es evaluada individualmente por fuera del modelo. En el Grupo 1 también se observa asociación entre el estado reproductivo y la ocurrencia de preñez temprana, cuando esta variable es evaluada individualmente.

Tabla 4. Resultados de preñez anticipada a la primer ultrasonografía por grupo en función al tipo de servicio.

GRUPO	PREÑADAS EN DIAGNOSTICO DE GESTACIÓN ANTICIPADA	PORCENTAJE DE PREÑEZ ANTICIPADA	VALOR P
TRATAMIENTO 1	16/40	40%	0,031
CONTROL 1	7/40	17,50%	

TRATAMIENTO 2	4/27	14,80%	0,159
CONTROL 2	1/27	3,70%	
TRATAMIENTO 3	6/33	18,20%	0,0083
CONTROL 3	14/28	50%	
TOTAL TRATAMIENTOS	26/100	26%	0,675
TOTAL CONTROLES	22/94	23,40%	

En un segundo paso, se evaluó la relación entre el Tipo de Servicio y el momento dentro del período de servicio donde fue lograda la preñez (distribución de la preñez). Los datos de distribución de la preñez se tomaron de las series de ecografías realizadas a todos los grupos.

Tabla 5. Datos de gestación del grupo 1.

DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ/ GRUPO 1	TRATAMIENTO 1		CONTROL 1	
	Preñez detectada	Preñez acumulada	Preñez detectada	Preñez acumulada
US 30/11 (0-10 días de servicio) ^a	16/40	16/40 (40%)	7/40	7/40 (17,5%)
US 28/12 (10-40 días de servicio) ^a	18/40	34/40 (85%)	29/39	36/39 (92,3%)
US 31/1 (40-70 días de servicio) ^a	5/40	39/40 (97,5%)	3/39	39/39 (100%)
TACTO 18/3 (70-110 días de servicio) ^a	0/40	39/40 (97,5%)	0/39	39/39 (100%)

a. Período de servicio dentro del cual se logró la preñez detectada.

Tabla 6. Datos de gestación del grupo 2.

DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ/ GRUPO 2	TRATAMIENTO 2		CONTROL 2	
	Preñez detectada	Preñez acumulada	Preñez detectada	Preñez acumulada
US 30/11 (0-10 días de servicio) ^a	4/27	4/27 (14,8%)	1/27	1/27 (3,7%)
US 28/12 (10-40 días de servicio) ^a	18/27	22/27 (81,5%)	19/27	20/27 (74,1%)
US 31/1 (40-70 días de servicio) ^a	4/27	26/27 (96,3%)	6/27	26/27 (96,3%)
TACTO 18/3 (70-110 días de servicio) ^a	1/27	27/27 (100%)	0/27	26/27 (96,3%)

a. Período de servicio dentro del cual se logró la preñez detectada.

Tabla 7. Datos de gestación del grupo 3.

DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ/ GRUPO 3	TRATAMIENTO 3		CONTROL 3	
	Preñez detectada	Preñez acumulada	Preñez detectada	Preñez acumulada
US 10/1 (40-50 días de servicio) ^a	6/33	6/33 (18,2%)	14/28	14/28 (50%)
US 7/2	15/33	21/33 (63,6%)	6/28	20/28 (71,4%)

(50-80 días de servicio) a				
TACTO 20/3				
(80-110 días de servicio) a	8/33	29/33 (87,9%)	4/28	24/28 (85,7%)

a. Período de servicio dentro del cual se logró la preñez detectada.

De acuerdo al momento de diagnóstico donde fueron registradas las preñeces se les otorgó una clasificación para analizar su distribución:

GRUPOS 1 y 2

0= vacía.

1= preñez registrada por US al 30/11.

2= preñez registrada por US al 28/12.

3= preñez registrada por US al 31/1.

4= preñez registrada al tacto 18/3.

GRUPO 3

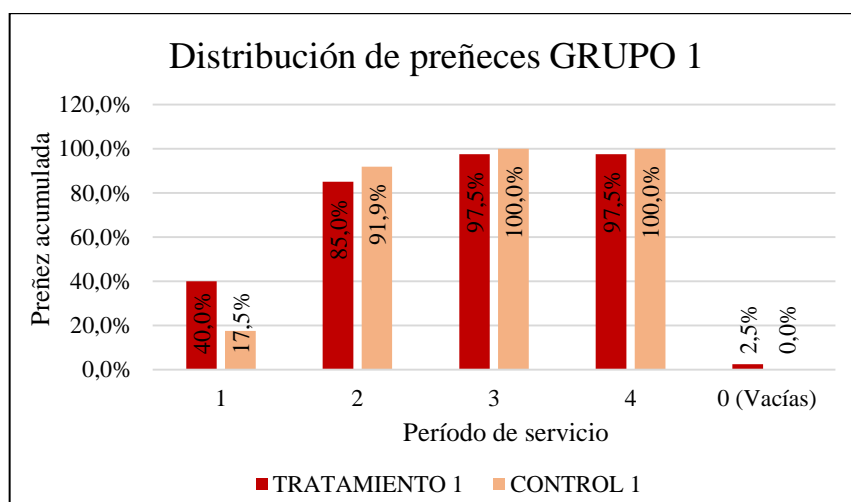
0= vacía

2= preñez registrada por US al 10/1

3= preñez registrada por US al 7/2

4= preñez registrada al tacto 20/3

En concordancia con esta clasificación, se graficaron los porcentajes de preñez acumulada de cada grupo de trabajo en las distintas etapas del servicio y se obtuvo la distribución final de preñeces para visualizar el efecto del tipo de servicio.



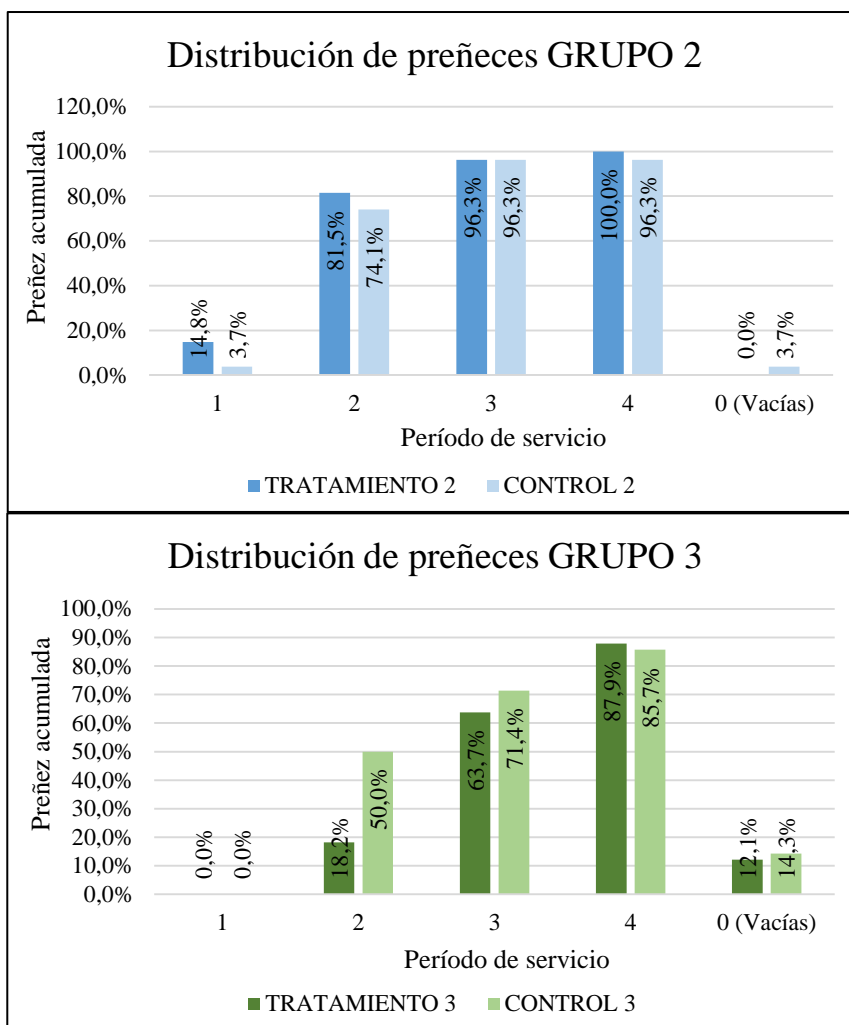


Figura 2. Distribución de preñeces logradas de cada grupo de trabajo.

En las figuras anteriores se puede observar en todos los grupos de trabajo que el tipo de servicio no modificó significativamente la distribución de las preñeces a lo largo del servicio.

Se evaluaron los efectos del tipo de servicio (IATF con semen refrigerado heterospérmico vs. Servicio natural) sobre la distribución de la preñez dentro de un modelo donde actúan otras variables independientes como la Condición corporal (medido en escala de 1 a 5) y el Estado reproductivo de los animales al inicio del ensayo (estatus ovárico y uterino por US).

En las tablas a continuación se registraron las preñeces acumuladas de cada grupo por período de servicio y el resultado del análisis de asociación entre el tipo de servicio utilizado y el momento de obtención de la preñez. Los resultados del análisis por grupo arrojaron independencia del tipo de servicio y la distribución de las preñeces en los grupos 1 y 2 ($P > 0,05$) pero asociación en el 3 ($P < 0,05$).

Tabla 8. Registro de la distribución de preñeces del grupo 1 en función del tipo de servicio.

GRUPO 1	0 (vacías)	PREÑECES ACUMULADAS				VALOR P
		1	2	3	4	
TRATAMIENTO	1/40 2,5%	16/40 40,0%	34/40 85,0%	39/40 97,5%	39/40 97,5%	0,055 b
CONTROL	0/40 0,0%	7/39 ^a 17,5%	36/39 92,2%	39/39 100,0%	39/39 100,0%	

a. Una vaca del grupo fue encontrada muerta.

b. Valores de P no significativos ($P > 0,05$).

Tabla 9. Registro de la distribución de preñeces del grupo 2 en función del tipo de servicio.

GRUPO 2	0 (vacías)	PREÑECES ACUMULADAS				VALOR P
		1	2	3	4	
TRATAMIENTO	0/27 0,0%	4/27 14,8%	22/27 81,5%	26/27 96,3%	27/27 100%	0,376 b
CONTROL	1/27 3,7%	1/27 3,7%	20/27 74,1%	26/27 96,3%	26/27 96,3%	

b. Valores de P no significativos ($P > 0,05$).

Tabla 10. Registro de la distribución de preñeces del grupo 3 en función del tipo de servicio.

GRUPO 3	0 (vacías)	PREÑECES ACUMULADAS				VALOR P
		1	2	3	4	
TRATAMIENTO	4/33 12,1%	-	6/33 18,2%	21/33 63,7%	29/33 87,9%	0,045 c
CONTROL	4/28 14,3%	-	14/28 50,0%	20/28 71,4%	24/28 85,7%	

c. Valores de P significativos ($P < 0,05$).

Cuando se analizaron los tres grupos en conjunto, los resultados generales indicaron asociación ($P = 0,012$) entre el tipo de servicio realizado y el momento en que fue lograda la preñez.

Tabla 11. Registro de la distribución de preñeces total en función del tipo de servicio.

GRUPO	0 (vacías)	PREÑECES ACUMULADAS				VALOR P
		1	2	3	4	
TOTAL TRATAMIENTOS	5/100 5,0%	20/100 20,0%	62/100 62,0%	86/100 86,0%	95/100 95,0%	0,012 c
TOTAL CONTROLES	5/94 5,3%	8/94 8,5%	70/94 74,5%	85/94 90,4%	89/94 94,7%	

c. Valores de P significativos ($P < 0,05$).

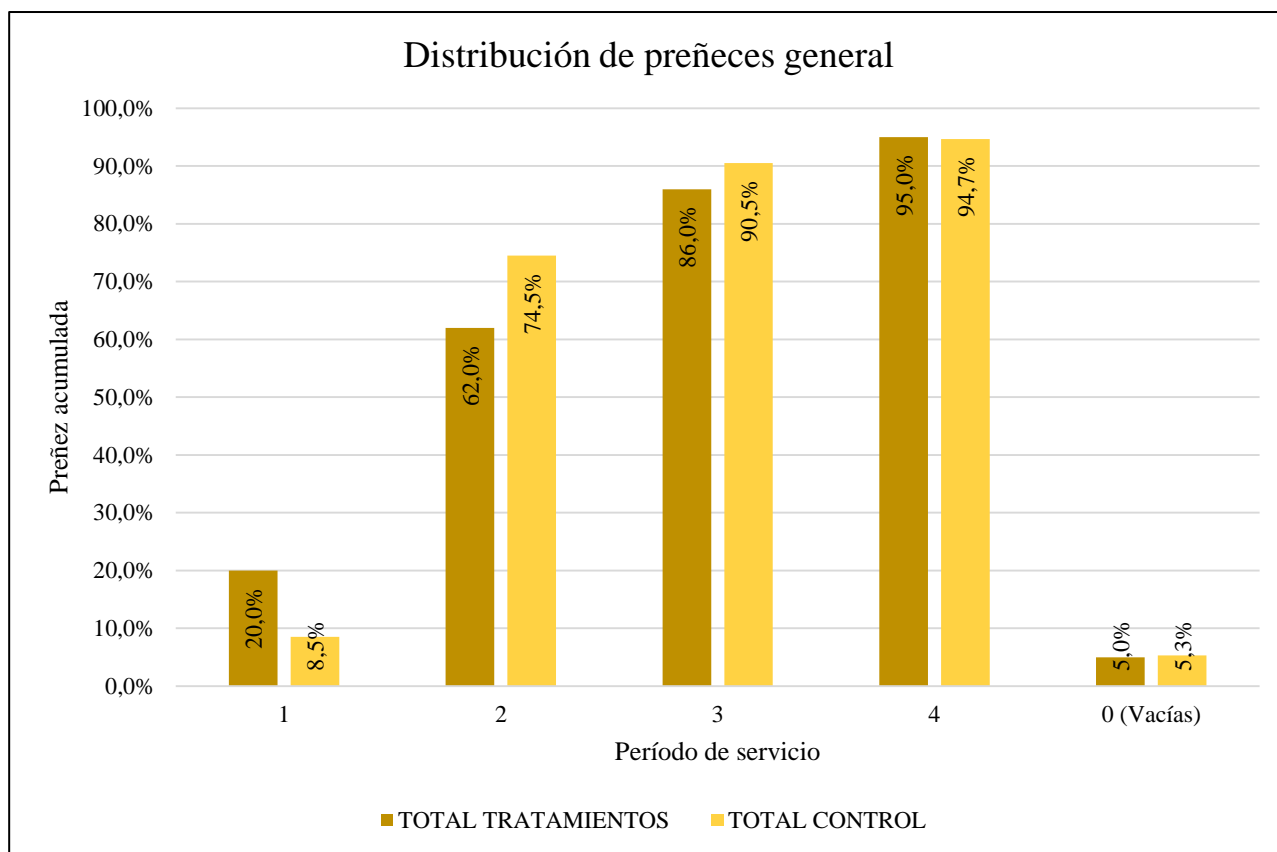


Figura 3. Distribución de preñeces totales logradas.

RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN

Se observó la expresión del celo en las vacas que recibieron tratamientos hormonales. En los tres grupos que recibieron los protocolos hormonales para la inseminación a tiempo fijo, TRATAMIENTO 1 (n=40), TRATAMIENTO 2 (n =27) y TRATAMIENTO 3 (n=33) se registró la expresión del celo el día de la inseminación. De las 40 vacas TRATAMIENTO 1 –CABEZA-, 33 (82,5%) estaban despintadas (ausencia de más del 50% de la pintura aplicada) y con signos de monta; de las 27 vacas TRATAMIENTO 2 –CUERPO-, 13 estaban despintadas (48%) y de las 33 del TRATAMIENTO 3 –COLA-, 28 (84,8%). Se observa que en los grupos 1 y 3 el porcentaje de vacas despintadas fue muy superior al del grupo 2.

Tabla 12. Registro de expresión de celo, con pintura de los grupos TRATAMIENTO 1, 2 y 3.

GRUPO	DESPINTADAS	PINTADAS
TRATAMIENTO 1	33/40 (82,5%)	7 /40(17,5%)

TRATAMIENTO 2	13/27 (48,1%)	14/27 (51,8%)
TRATAMIENTO 3	28/33 (84,8%)	5/33 (15,1%)
TOTAL	74/100 (74%)	26/100 (26%)

Se evaluó el efecto de la expresión del celo de las vacas que recibieron tratamientos hormonales, evaluada a través de la aplicación de pintura, sobre el porcentaje de preñez a la inseminación, pero no se encontró asociación significativa ($P=0,360$) Aun así podemos observar que el porcentaje de vacas preñadas a la IATF que expresaron celo (28,37%), es mayor al de aquellas que no lo hicieron (19,2%).

Tabla 13. Resultados de preñez a la IATF de todos los grupos TRATAMIENTO, en función de la expresión de celo detectada con pintura.

EXPRESIÓN DE CELO	PREÑADAS A LA IATF	VACÍAS
DESPINTADAS	21/74 (28,4%)	53/74 (71,6%)
PINTADAS	5/26 (19,2%)	21/26 (80,8%)
TOTAL	26/100 (26%)	74/100 (74%)

5. DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis planteada debido a que no se encontró una asociación significativa entre el uso de IATF con semen refrigerado heterospérmico y la mejora de la distribución de la preñez en el rodeo de cría estudiado.

La implementación de programas de IATF con semen fresco heterospérmico no tuvo un efecto considerable sobre la obtención de preñeces tempranas. Se observaron ciertos grados de asociación, en algunos grupos entre el tipo de servicio y la preñez anticipada pero la fuerza de la asociación era contraria, uno en favor del semen refrigerado heterospérmico y el otro en favor del servicio natural.

En cuanto a la distribución de la preñez, el tipo de servicio elegido mostro su efecto a nivel general, pero en la matriz de interacciones los valores de P no fueron significativos. La asociación significativa que existió entre el tipo de servicio utilizado (servicio natural o IATF con semen refrigerado heterospérmico) y el momento en que se logró la preñez no permitieron determinar un efecto de mejora sobre la distribución de preñez, puesto a que éste resultado se observó cuando las variables tipo de servicio, estado reproductivo y condición corporal se evaluaron por separado. Cuando se evaluaron las interacciones ésta asociación no fue significativa. Así mismo, este análisis permitió observar la tendencia de obtención de preñeces por período según la técnica de servicio utilizada, pero para evaluar la distribución propiamente dicha fue necesario comparar el registro de preñeces acumuladas por etapa de cada tipo de servicio. Cuando se observa el gráfico general de preñeces acumuladas según técnica de servicio, se visualiza similitud en las curvas de distribución de preñeces.

En la evaluación por grupo, sólo se observó relación entre el tipo de servicio y el período donde se logró la preñez en el grupo 3. Éste resultado, demuestra en este grupo una tendencia contraria a la esperada, puesto que la asociación se da entre el servicio natural y el logro de preñez en períodos más tempranos del servicio.

Los tratamientos de inseminación a tiempo fijo han arrojado resultados muy positivos, promediando tasas de preñez de alrededor del 50% con semen congelado en vacas de carne lactantes. Sin embargo hay una gran dispersión en los resultados de las tasas de preñez que generalmente está determinada por el estatus ovárico y por el score corporal de las madres al inicio de los programas de sincronización (Bó y Baruselli, 2014). Habitualmente, las condiciones de las vacas lactantes en sistemas netamente pastoriles de cría no son las mejores en estos aspectos y son causantes de esa

variabilidad. En éste trabajo aunque los valores de condición corporal y de estatus ovárico estaban predeterminados, los valores de preñez a la inseminación estuvieron muy por debajo de lo esperado y de ese promedio. En el lote cabeza (GRUPO 1 TRATAMIENTO) el porcentaje de preñez a la inseminación (P/IA) fue del 40%; al compararlo con el CONTROL 1 (17,5%) observamos un mayor número de preñeces logradas durante los primeros días pero cuya diferencia no fue significativa. En el lote cuerpo (GRUPO 2), el TRATAMIENTO, registró un P/IA de 14,81% mientras que la preñez del CONTROL fue del 3,7% resultando insignificante el efecto de acortamiento del período parto-concepción. En el lote cola de parición, el efecto fue contrario; el 50% de las vacas del CONTROL 3 se encontraba preñada al primer diagnóstico por ultrasonografía mientras que solo el 18,2% del TRATAMIENTO 3 lo estaba, por lo tanto se observaba un efecto más positivo del servicio natural sobre la distribución natural en la categoría más crítica para adelantar.

En este sentido, los índices de concepción se registraron muy distantes a los valores promedio normales expresados para IATF con semen congelado; si además se comparan con los valores de P/IA en programas de IATF con semen refrigerado la distancia es mayor; por ejemplo Cresphilo et al. (2012) documentó un 61,5% en vacas lactantes y Lopepe et al. (2015) un 66,0% en vacas y vaquillonas. Lo mismo sucede cuando se referencian los resultados con los valores de P/IA con pajuelas heterospermicas, por ejemplo con el 55,6% reportado por Almeida et al. (2017).

En el trabajo de Acosta Romero (2012) se observó que las vacas que manifestaron celo (despintadas) al momento de la IATF, presentan un porcentaje de preñez significativamente superior (63,3% versus 21,9%) que aquellas que no lo hacen (pintadas). En este trabajo la superioridad del porcentaje se mantiene pero la diferencia es mucho menor entre los mismos producto de los bajos índices de concepción a la IATF (28,4% versus 19,2%). Exceptuando el grupo TRATAMIENTO 2 que manifestó una menor expresión de celo, los porcentajes de vacas despintadas en los grupos tratamiento fue alta (>80%). Esto nos permitiría considerar que el efecto de los protocolos de sincronización sobre el anestro y el reinicio de ciclicidad posparto fue positivo y que los bajos porcentajes de preñez pueden haber estado relacionados con otras variables que impactaron en el logro de la concepción a la IATF.

Considerando los exámenes previos al servicio de los machos utilizados, la evaluación de los estatus ováricos y uterinos de las hembras, la selección por condición corporal y la oferta forrajera abundante que se presentaba esa primavera cuesta individualizar la causa de los bajos índices de concepción a la inseminación. El semen proveniente de toros con buena calidad seminal, con

morfología adecuada, MP y vigor, con evaluación de las pajuelas el día de la inseminación, control de la temperatura de almacenamiento y traslado, dificulta ésta tarea.

Cómo observaciones de posibles efectos negativos durante el ensayo podemos mencionar la aplicación de la vacuna de AFTOSA y CARBUNCLO durante el inicio de los tratamientos de sincronización de los GRUPOS 1 y 2, el diagnóstico en un lote adyacente al campo de animales Persistentemente Infectado (DVB) y la posibilidad de errores humanos por parte del inseminador y equipo. En relación al tiempo posterior al parto que se respetó antes de hacer los tratamientos, aunque se realizaron las ecografías ováricas y se seleccionaron vacas ciclando o en anestro superficiales, se observó que las vacas que parieron últimas del GRUPO 2, al día de la inseminación (45 días) no habían cumplido el puerperio histológico; Se observó en los resultados menor expresión de celo en el Grupo TRATAMIENTO 2 y en general menos preñez que en el GRUPO 1.

Se debe repetir el trabajo, teniendo en cuenta los aspectos negativos, en búsqueda de mejores índices de preñez al tratamiento de IATF que nos permitan evaluar el efecto del protocolo, el semen refrigerado y la heterospermia sobre la distribución de preñez.

6. CONCLUSIONES

Dentro de la ecuación económica de un planteo ganadero de cría, el porcentaje de preñez y la distribución de la misma resultan piezas fundamentales a la hora de cumplir objetivos y percibir mayores ganancias. En los sistemas pastoriles, factores como la nutrición y el efecto inhibitorio de succión en las vacas lactantes contribuyen a prolongar el período de anestro postparto y representan obstáculos a la hora de disminuir el intervalo entre partos, así como también para lograr terneros más pesados al destete. Para mejorar la distribución de las preñeces logradas es posible trabajar sobre dos aspectos; por un lado disminuir el período de anestro seguido a la parición y por otro utilizar estrategias que permitieran optimizar los índices de concepción al primer servicio postparto. La Inseminación a tiempo fijo permite sincronizar el celo y ovulación en animales que se encuentran ciclando y también inducir actividad ovárica en aquellos que están en anestro, acortando el intervalo parto-concepción individual y mejorando la distribución de las preñeces a nivel rodeo durante el período de servicio. El semen fresco y la heterospermia, son consideradas estrategias que pueden elevar por encima de los márgenes habituales los parámetros de concepción al primer servicio postparto por inseminación.

Este trabajo, no arrojó datos significativos del efecto de estas tecnologías utilizadas con el fin de mejorar la distribución de la preñez. Sin embargo, la información que provee este experimento no es suficiente para llegar a una conclusión puesto a que los %P/IA obtenidos en los tratamientos fueron muy por debajo de los promedios normales, lo que resulta no representativo de los beneficios de éstos protocolos que trabajan aumentando los índices de concepción a la inseminación.

Se necesita seguir trabajando para lograr mejores índices de preñez a la inseminación artificial que permitan evaluar el uso de semen refrigerado y la inseminación con pajuelas heterospermicas en programas de sincronización de celo y ovulación, como herramientas para mejorar la distribución de las preñeces en el rodeo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Romero, M. L. 2012. Uso de pintura para detección de celo en programas de IATF en bovinos de carne y su incidencia en el valor del semen a utilizar. Trabajo final de Especialidad en Reproducción bovina. Instituto de Reproducción Animal Córdoba.
- Almeida, R. G., Faria, F. J., Fernandes C. A., Santos, M. D., Costa, D. S. Use of heterospermic semen in fixed-time artificial insemination of nelore cows. 2017. Redvet. Revista electrónica de Veterinaria. Volumen 18 N° 12. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121217.html>.
- Beatty, R. A., Bennett, G. H., Hall, J. G., Hancock, J. L., Stewart, D. L. An experiment with heterospermic insemination in cattle. 1969. J.Reprod. Fert.19, 491-502.
- Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology, 43 (1), 31-40.
- Bó, G.A., Baruselli, P.S. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. Animal, 8 suplement. 1:144-150.
- Bó, G. A., Cutaia, L., Chesta, P., Balla, E., Picinato, D., Peres, L., Maraña, D., Avilés, M., Menchaca, A., Veneranda, G., Baruselli P.S. 2005. Implementacion de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de argentina. Resúmenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal.
- Blokey, M.A. 1981. Modification of a serving capacity test for beef bulls. Applied Animal Ethology; 7:321–336.
- Carrillo, J. (INTA- Editorial Hemisferio Sur S.A). 1988. Manejo de un rodeo de cría, p28.
- Crespilho, A. M., Papa, F. O., Santos, M., Sa Filho, M. F. 2012. Use of Cooled Bull Semen as a Strategy to Increase the Pregnancy Rate in Fixed-Time Artificial Insemination Programs- Case Report. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 7: 175-179
- Crespilho, A.M., Nichi, M., Guasti, P.N., Freitas-Dell'Aquac, C.P., SáFilho, M.F., Maziero, R.R., Dell'AquaJr, J.A., Papa, F.O. 2014. Sperm fertility and viability following 48 h of refrigeration: Evaluation of different extenders for the preservation of bull semen in liquid state. AnimReprodSci., 146: 126-133.
- Cutaia, L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruselli, PS., Bó, G.A. 2003. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo fijo en rodeos de cría: Factores que lo afectan y resultados productivos. Resúmenes V Simposio Internacional de Reproducción Animal. 119-132.
- Hess, E. A., Ludwick, T. M., Rickard, H. E., Ely, F. 1958. Some of the Effects of Heterospermic Processing on Semen Quality and Bovine Fertility. Fertility and Sterility 9, 238.
- Ibañez, F., Lissarrague, C., Callejas, S., Cabodevila, J. 2017. Utilización de semen fresco en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. Revista Taurus. Año 20, N°77.

- Lopepe H. E.; Bonadeo B.; Tríbulo A.; Bó G.A. 2015. Comparación entre el uso de semen fresco versus congelado en programas de IATF. Resúmenes XI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba- Argentina 13 al 15 agosto 2015. p346
- Macmillan, K. L., Burke, C. R. 1996. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 42 (1-4), 307-320.
- Mazur, P. 1965. Causes of injury in frozen thawed cells. *Cryobiology*, 2, 94
- Murphy, M.G., Boland, M.P, Roche, J.F. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Journals of Reproduction and Fertility* 90:523-533.
- Nelson, L.D., Pickett B. W., Seidel G. E. Jr. 1975. Effect of heterospermic insemination on fertility of cattle. *Journal of Animal Sci.* 40:1124-1129. Colorado State University, Forir Collins
- Núñez-Olivera, R., de Castro, T., García-Pintos, C., Bó, G., Piaggio, J., Menchaca, A. (2014). Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol' based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Anim. Reprod. Science*, 146 (3-4), 111-116.
- Randel, R. D. 1990, Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Scie.* 68: 853-862.
- Roche, J.F., Crowe, M.A. and Boland, M.P., 1992. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 28 (1-4), 371-378.
- Short, R. E., Bellows, R. A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E. (1990). Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*, 68 (3), 799.
- Vishwanath, R., Shannon, P. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science* 62 (1-3), 23-53.
- Watson, P.F., 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reproduction Fertility and Development* 7, 871-891.
- Wiltbank, M. C., Gümen, A., Sartori, R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57 (1), 21-52.
- Zalesky, D. D., Day, M. L., García-Winder, M., Imakawa, K., Kittok, R. J., dOcchio, M.J., Kinder, J.E. 1984. Influence of exposure to bulls on resumption of estrous cycles following parturition in beef cows. *Journal of Animal Science*, 59, 1135-1139.

8. ANEXO

En las figuras a continuación se presentan los datos registrados por los diagnósticos de gestación a través de ultrasonografía, que nos permiten conocer la fecha aproximada del servicio donde se lograron las preñeces en cada grupo y nos permite hacer la comparación entre la distribución de las mismas en los subgrupos TRATAMIENTO y CONTROL. En las figuras de preñez acumulada, se observa claramente siguiendo las curvas que no se produjeron grandes diferencias en la distribución de las preñeces.

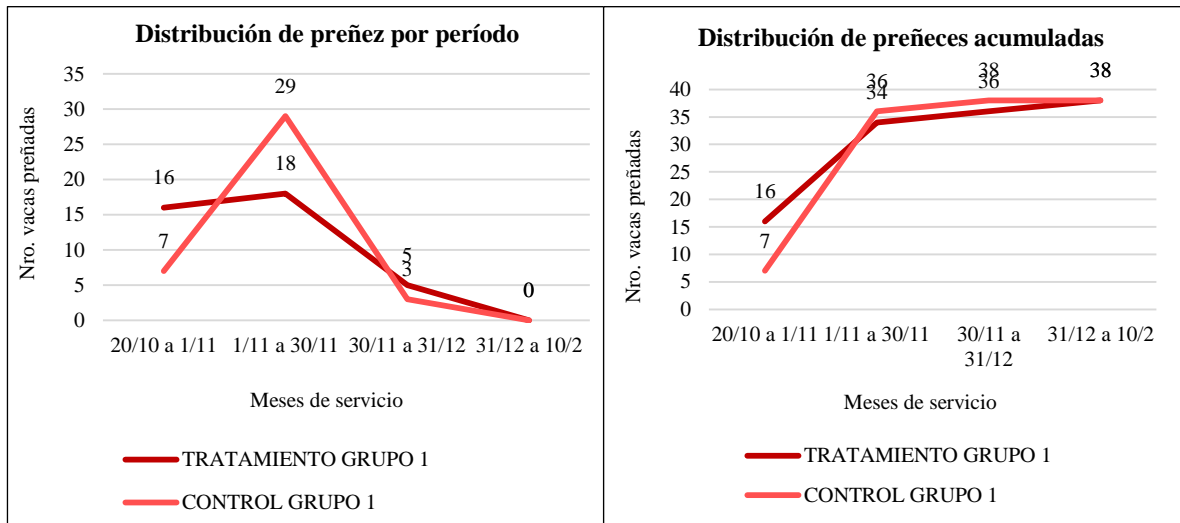


Figura A-1 y A-2. Registro de preñeces del GRUPO 1 a lo largo del período de servicio, de acuerdo al examen ultrasonográfico (registrado en la tabla 4). En la figura de la izquierda se observa el número de preñeces por etapa, y en el de la derecha el número de preñeces acumulada.

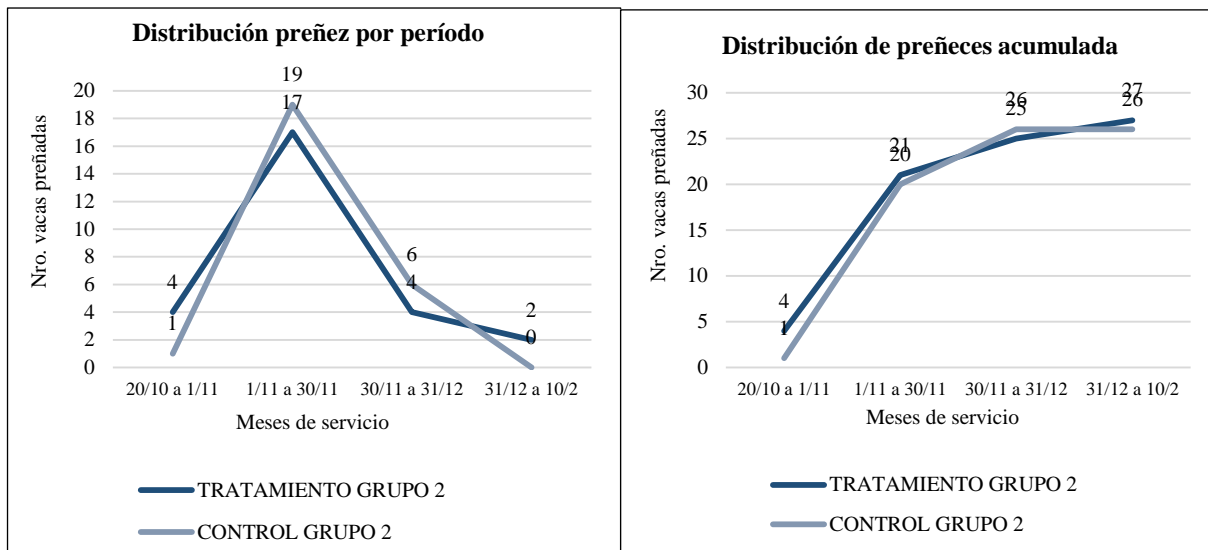


Figura A-3 y A-4. Registro de preñeces del GRUPO 2 a lo largo del servicio, de acuerdo al examen ultrasonográfico (datos en la tabla 5). En la figura de la izquierda se observa el número de preñeces por etapa, y en el de la derecha el número de preñeces acumulada.

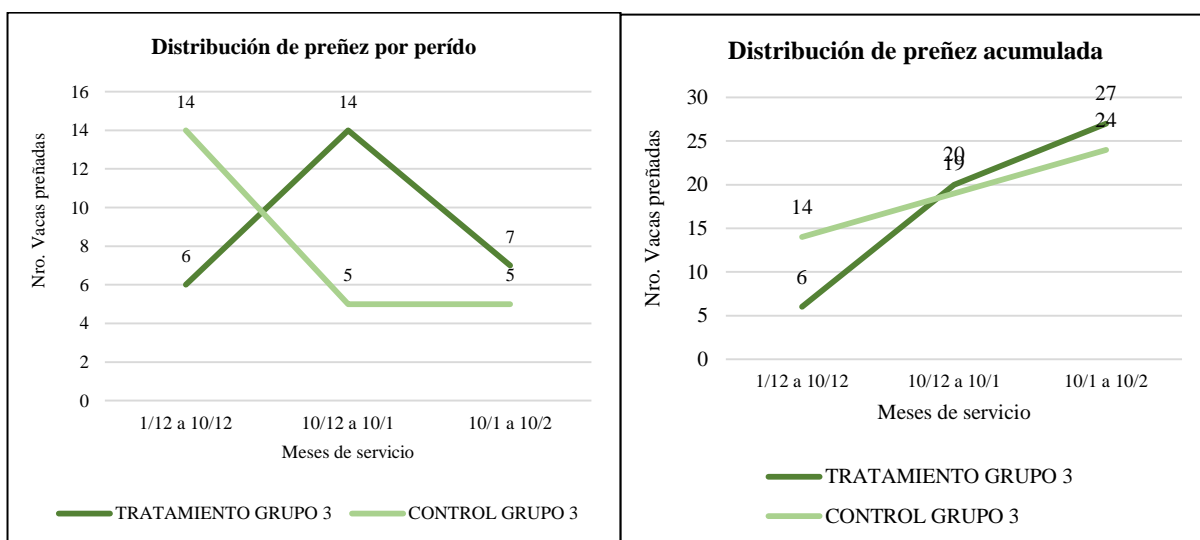


Figura A-5 y A-6. Datos de preñeces del GRUPO 3 a lo largo del servicio registrados por ultrasonografía (tabla 6). A la izquierda, número de preñeces por etapa, y a la derecha, número de preñeces acumulada.

Si tomamos una duración de la gestación promedio de 283 días, podemos plantear de acuerdo a los datos registrados una distribución de la parición para la temporada 2019 de cada uno de los grupos del trabajo, observada en la figura a continuación. Lo que nos permitiría tener una idea aproximada de los posibles nacimientos logrados por IATF con semen fresco heterospermico y por servicio natural.

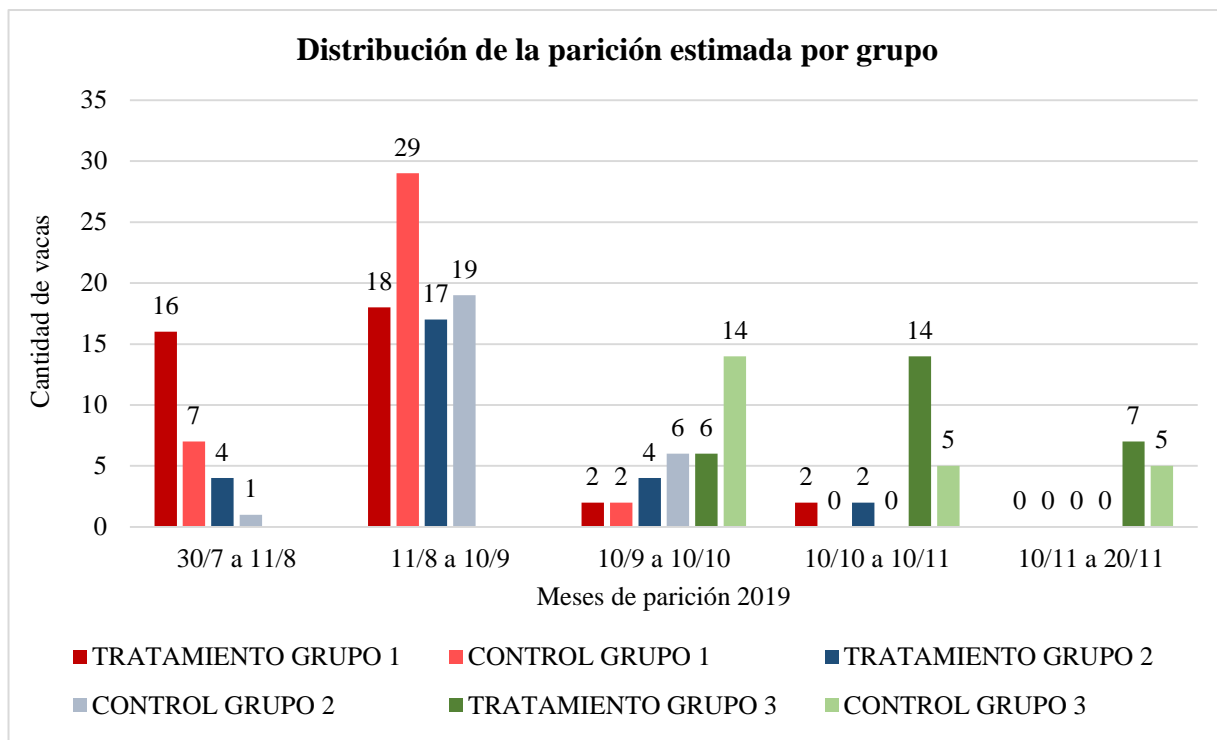


Figura A-7. Pariciones estimadas de todos los grupos del trabajo en el 2019.