

Estrategia sostenible para mejorar la eficiencia de los servicios de inseminación artificial en ganado bovino en el trópico

Sustainable strategy to improve the efficiency of artificial insemination services in cattle in the tropics

Rodolfo Pedroso Sosa^{1*}, Felicia Roller Gutiérrez¹, Daniel Isaías Burgos Macías¹

RESUMEN

El trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de los servicios de inseminación artificial (IA) en vacas Holstein x Brahman bajo programa de inducción del celo. Se realizaron tres experimentos. En el Exp. 1 se efectuó un análisis retrospectivo de la eficiencia de la inseminación artificial de 41 000 vacas tratadas con la combinación de progesterona y benzoato de estradiol o gonadotropina coriónica equina (eCG). En el Exp. 2 se trabajó con 863 vacas inseminadas de celo inducido con progesterona y benzoato de estradiol para conocer los eventos fisiológicos que ocurren antes y después del servicio en rebaños con alta incidencia de anestro. Se hicieron exámenes ginecológicos y determinación de progesterona en leche. El Exp. 3 tuvo como fin mejorar la eficacia de los servicios de IA de vacas en anestro posparto tratadas con progesterona y benzoato de estradiol combinado con una técnica para identificar e inducir el retorno al servicio de las hembras que no llegasen a concebir. Solo 30% de las vacas superaron el 40% de concepción. Los mejores resultados se obtuvieron al utilizar la eCG (47% vs 29%). Los problemas asociados a la baja tasa de concepción fueron los celos no fertilizados, la mortalidad embrionaria y el anestro posterior al servicio (Exp. 2). La técnica de inducción del retorno al servicio aumentó ($p < 0.001$) la tasa de concepción del segundo servicio inducido y el porcentaje de preñez acumulada en el grupo tratado respecto al testigo (69.0 y 32.0%, respectivamente) (Exp. 3).

Palabras clave: preñez, concepción, progesterona, estradiol

¹ Facultad de Veterinaria, Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador

* E-mail: rodolfo.pedroso@utm.edu.ec

Recibido: 26 de abril de 2023

Aceptado para publicación: 15 de marzo de 2024

Publicado: 30 de abril de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the efficiency of artificial insemination (AI) services in Holstein x Brahman cows under a heat induction programme. Three experiments were carried out. In Exp. 1, a retrospective analysis of the efficiency of AI insemination of 41 000 cows treated with the combination of progesterone and oestradiol benzoate or equine chorionic gonadotropin (eCG) was carried out. In Exp. 2 it was evaluated 863 cows inseminated after heat induced with progesterone and oestradiol benzoate to know the physiological events that occur before and after service in herds with a high incidence of anoestrus. Gynaecological examinations and determination of progesterone in milk were performed. The purpose of Exp. 3 was to improve the effectiveness of AI services for cows in postpartum anoestrus treated with progesterone and oestradiol benzoate combined with a technique to identify and induce the return to service of females that did not conceive. Only 30% of the cows exceeded 40% conception. The best results were obtained when using eCG (47% vs 29%). The problems associated with the low conception rate were unfertilized oestrus, embryonic mortality and anoestrus after breeding (Exp. 2). The return to service induction technique increased ($p < 0.001$) the conception rate of the second induced service and the percentage of accumulated pregnancy in the treated group compared to the control (69.0 and 32.0%, respectively) (Exp. 3).

Key words: pregnancy, conception, progesterone, estradiol

INTRODUCCIÓN

La productividad del ganado bovino depende, en gran medida, de su eficiencia reproductiva y su avance en la mejora genética. En este sentido, la inseminación artificial es la tecnología de mayor eficiencia para la implementación de los programas de mejoramiento genético (Baruselli *et al.*, 2017). Esta biotecnología ha experimentado grandes adelantos en las áreas de crioconservación, sexado del semen y en la inducción y sincronización del celo y la ovulación (Pedroso y Roller, 2021). Sin embargo, factores como errores en la detección del celo y en la realización de la inseminación en el tiempo correcto, la baja calidad de semen usado, el estado nutricional (Figueredo *et al.*, 2017; García-Díaz *et al.*, 2017) y la salud de las hembras limitan la eficiencia y calidad de los servicios de inseminación artificial (García *et al.*, 2001). En consecuencia, las manifestaciones más comunes de la baja fertilidad asociada al uso de esta tecnología son la repetición de celos y la mortalidad embrionaria temprana (Diskin *et al.*, 2015; Ali, 2021).

En este contexto, una de las técnicas implementadas para mejorar la eficacia de la inseminación fue el desarrollo de protocolos de tratamiento hormonal para realizar la inseminación artificial en tiempo fijo – IATF (Duro, 2022; Sánchez y Vargas, 2023). Además, estrategias para mejorar la implantación y sostenimiento de la preñez (Besbaci *et al.*, 2020); técnicas para identificar hembras no gestantes (Early y Seekford, 2019; Reese *et al.*, 2020; Otava *et al.*, 2021) y el uso de micronutrientes para modular la respuesta inmunológica y mejorar la competencia de los gametos, el útero y el crecimiento y desarrollo embrionario (Figueredo *et al.*, 2017; Di Renzo *et al.*, 2022).

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los factores que afectan la eficiencia de los servicios de inseminación artificial en vacas mestizas Holstein x Brahman de rebaños con problemas de anestro, bajo un programa de inducción y sincronización del celo con progesterona, benzoato de estradiol o gonadotropina coriónica equina (PMSG/eCG) y la eficacia de una estrategia de interven-

ción mediante un protocolo de inducción del retorno al servicio e inseminación de las vacas sin concepción positiva mediante el uso combinado de progesterona y benzoato de estradiol en las condiciones del trópico húmedo de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

Para el desarrollo del estudio se seleccionaron 10 empresas pecuarias gubernamentales de ganado mestizas (Holstein x Brahman) con un rango promedio de vientres entre 5000 a 10 000 animales por entidad, distribuidas en tres provincias de la zona central y dos de la zona occidental de Cuba. Estos rebaños estaban bajo programas de inseminación artificial y en cada una de las empresas ganaderas y los trabajos de campo fueron dirigidos por una Brigada de Reproducción que estaba constituida por médicos veterinarios especializados en el área de reproducción animal y técnicos de inseminación artificial con más de ocho años de experiencia profesional. En total participaron 820 profesionales. Para el efecto, se efectuaron tres experimentos:

Experimento 1. Evaluación retrospectiva de la eficiencia de los servicios de inseminación artificial (IA) mediante protocolos de inducción y sincronización del celo empleando protocolo a base de progesterona y benzoato de estradiol con o sin el uso de gonado-tropina coriónica equina – eCG

- El estudio tuvo un diseño descriptivo no experimental. Se utilizaron los registros de los servicios de IA de 41 000 vacas Holstein x Brahman realizados entre 2007 y 2008. De estos, 24 673 servicios se hicieron en un sistema de producción de pastoreo rotacional con amamantamiento restringido y con un ordeño consistente en amamantamiento del becerro dos veces al

día durante 30 a 60 minutos, con un rango de producción de leche entre 5 a 6 L/día, y 16 327 servicios en sistemas de crianza artificial consistente en destete a los siete días, doble ordeño mecanizado de las vacas en horas de la mañana y la tarde, pastoreo rotacional con niveles de producción de leche entre 8 a 12 L/día.

- La base de la alimentación en ambos casos fue el pasto natural (*Dichanthium caricosum*), guinea (*Panicum maximum*), y estrella (*Cynodon nlemfuensis*) y forraje de king grass (*Pennisetum purpureum*). Los animales recibieron suplementos de bagacillo, caña molida y miel/urea durante los periodos de menor disponibilidad de pastos (noviembre a mayo). Además, recibieron sales minerales y agua *ad libitum*. En las lecherías de crianza artificial, las vacas recibieron 0.5 kg/día de concentrado por cada litro de leche producido a partir del quinto litro de leche. Los rebaños estaban bajo control veterinario, según los programas vigentes del Instituto de Medicina Veterinaria (IMV) y eran libres de enfermedades infectocon-tagiosas.
- Se determinaron los intervalos inter-servicio mediante el cálculo de los días transcurrido entre dos servicios tomando como referencia las fechas de las inseminaciones registradas en los controles individuales de cada vaca. Esta valoración se realizó en cada uno de los sistemas de producción estudiados. La interpretación de estos intervalos se efectuó según Núñez *et al.* (1989).
- Se determinó los intervalos inter servicio en los dos sistemas de producción de acuerdo con los lineamientos de Núñez *et al.* (1989). Además, se comparó la eficiencia de los dos esquemas del protocolo empleado para la inducción y sincronización del celo en hembras en anestro: inseminaciones a tiempo fijo con doble servicio a las 48 y 56 horas de finalizado el tratamiento, usando semen congelado en pellet de toros con fertilidad probada.

- Se comparó la eficiencia técnica (tasa de concepción al primer y segundo servicio) de los dos protocolos de tratamiento hormonal vigentes en los programas de inseminación artificial empleados para la inducción y sincronización del celo. Estos fueron: Administración intramuscular (IM) de tres inyecciones de progesterona (P4) en dosis de 60, 90 y 90 mg a intervalo de 48 h y 1 mg de benzoato de estradiol (BE) o 1000 UI de gonadotropina coriónica equina (PMSG/eCG) IM, 48 h más tarde. Las inseminaciones se hicieron a tiempo fijo con doble servicio a las 48 y 56 h de finalizado el tratamiento hormonal. Se utilizó semen congelado en pellet de toros con fertilidad probada. Se registró la tasa de concepción (número de hembras gestantes del total inseminadas en primer o segundo servicio).

Experimento 2. Análisis descriptivo de los factores que afectan la eficiencia de los servicios de IA mediante determinaciones de progesterona en leche

- Se llevó a cabo entre noviembre de 2007 a febrero de 2008 (16 semanas). Se trabajó con dos rebaños de vacas mestizas Holstein x Brahman empleando un diseño experimental completamente aleatorizado, bajo dos tipos de manejo: a) amamantamiento restringido, y b) crianza artificial.
- Se monitorearon 861 hembras antes y después del servicio de IA mediante inducción y sincronizado del celo. El protocolo consistió en la administración intramuscular (IM) de tres inyecciones de progesterona (P4) en dosis de 60, 90 y 90 mg a intervalo de 48 h y 1 mg de benzoato de estradiol (BE) 48 h más tarde y ejecutar el doble servicio a las 48 y 56 hs de finalizado el tratamiento hormonal.
- Previo la aplicación del tratamiento hormonal se realizaron dos exámenes ginecológicos por palpación rectal entre los 60-85 días con un intervalo 9 ± 1 días y se tomaron muestras de leche en el ordeño de la mañana de un cuarto mamario sano (10-15 ml) en viales de vidrio con azida de sodio como preservante para determinar los niveles de

progesterona (P4). Las muestras fueron centrifugadas a 2000 rpm a las 24 h de la colección para la separación y retiro de la grasa. La determinación de P4 en las muestras de leche se hizo con el kit de RIA FAO/IAEA (Plaizier, 1993).

- Posteriormente, se tomaron como base los resultados de P4 y se clasificaron los animales de acuerdo con el estado funcional del ovario y del útero siguiendo los criterios citados por Zemjanis (1970) y Wiltbank *et al.* (2002):
 - Ovarios con consistencia sólida elástica. Presencia de folículos >10 y <25 mm, sin presencia de cuerpos lúteos. Niveles de P4 <3.18 nmol/L. Tono uterino elevado.
 - Ovarios con consistencia resistente. No se detectan estructuras ováricas. P4 <1.59 nmol/L. Útero flácido.
 - Ovarios con consistencia sólida elástica, Presencia de folículos y cuerpos lúteos. Ligero tono uterino. P4 >3.18 nmol/l en al menos uno de los exámenes clínicos.
- Las inseminaciones fueron realizadas por ocho técnicos con más de 8 años de experiencia profesional con semen congelado en pellet de 20 toros de fertilidad probada. Se tomó una muestra de leche el día del servicio (día 0), la segunda entre los días 10-12 del servicio, y la tercera entre los días 22-24 días del servicio para la determinación de P4. El diagnóstico de preñez fue efectuado por palpación rectal a los 60 a 70 días posteriores al servicio. La interpretación de los resultados de P4 se efectuó mediante el protocolo estandarizado expuesto por García *et al.* (2001) el cual es mostrado en el Cuadro 1.

Experimento 3. Estrategia de intervención para optimizar la eficiencia de los servicios de IA en programas de inducción y sincronización del celo mediante protocolo a base de progesterona y benzoato de estradiol.

- Tuvo por finalidad optimizar en rebaños con alta incidencia de anestro la eficacia del protocolo de inducción del celo y la ovulación a base de progesterona y

Cuadro 1. Interpretación del diagnóstico de preñez mediante los niveles de progesterona (P4) en leche de los eventos fisiológicos que suceden antes o después de realizados el servicio de inseminación artificial (García *et al.*, 2001)

Nivel de progesterona			Diagnóstico de preñez	Interpretación
Día 0	Día 10-12	Día 22-24		
Bajo	Alto	Alto	Positivo	Preñez
Bajo	Alto	Bajo	Negativo	No fertilización. Muerte embrionaria precoz (<16 días)
Bajo	Alto	Alto	Negativo	Mortalidad embrionaria tardía, Quiste luteal. Cuerpo lúteo persistente
Bajo	Bajo	Bajo	Negativo	Anovulación. Anestro posterior al servicio
Alto	Alto	Alto	Positivo	Inseminación en hembras gestantes

Leyenda: Bajo= P4 <1.59 nmol/L; Alto= P4 >3.18 nmol /L

benzoato de estradiol (ISE) mediante la combinación de este con un procedimiento de inducción del retorno al servicio de las hembras sin concepción positiva (IRS). Las hembras que mostraron celo entre 21 a 23 días del primer celo inducido fueron servidas en ambos grupos. Las vacas en cada grupo experimental fueron identificadas con aretes de color rojo (tratadas) y verde (control).

- El estudio se realizó durante seis meses (noviembre a abril de 2007-2008), correspondiente a la época de menor disponibilidad de pasturas en Cuba (Soto *et al.*, 2010). El ensayo se desarrolló en tres provincias y contó con la participación de cinco empresas pecuarias y la asistencia técnica de cinco médicos veterinarios especializados en reproducción animal y 27 técnicos en IA con más de ocho años de experiencia profesional. Cada técnico realizó 500 inseminaciones (250 control y 250 tratadas [IRS]). Se inseminaron 13 557 vacas Holstein x Brahman de 60 a 80 días de paridas de rebaños con alta incidencia de anestro posparto. Las vacas seleccionadas se encontraban en anestro (Wiltbank *et al.*, 2002). Se excluyeron hembras con anestro

asociado a trastornos infecciosos del tracto genital o con ovarios quísticos. Se determinó la condición corporal (CC) acorde con Edmonson *et al.* (1989) y se determinó su peso vivo con cinta métrica empleando el procedimiento de Menéndez (1984). Solo se utilizaron animales con CC entre 2.5 a 3.5 (escala: 1-5) y peso vivo de 330-430 kg.

- Los animales se distribuyeron en dos grupos en cada empresa y lechería: Grupo I: (n= 6778) tratadas (Inducción del celo e inseminación artificial [ISE] + inducción del retorno al servicio de las hembras sin concepción positiva [IRS]; Grupo II: (n= 6779), control (Inducción e inseminación artificial sin inducción del retorno al servicio de las hembras sin concepción positiva. Para la inducción del celo (ISE) se administró progesterona vía IM en dosis de 60|90|90 mg a intervalo de 48 h y 48 h más tarde una dosis de 1 mg BE. La IATF se hizo a las 48 y 56 h de finalizado el tratamiento con BE. El tratamiento de IRS se inició 13 días después del primer servicio inducido (Grupo I). Para este fin, se administró una dosis única de P4 (100 mg) vía IM a fin de inducir la atresia del folículo dominante y

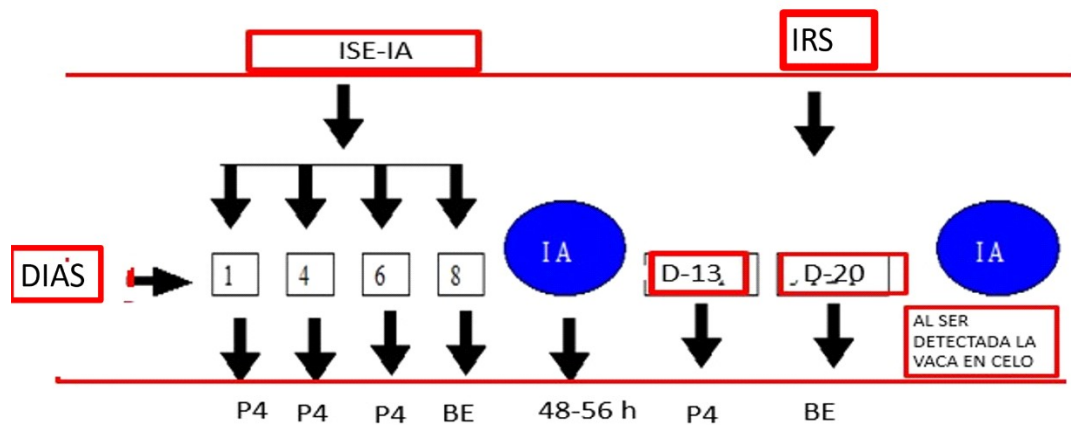


Figura 1. Protocolo combinado de inducción del celo/ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo (ISE_IA) en vacas en estado de anestro e inducción del retorno al servicio e inseminación de las vacas no gestantes (IRS)

suplementar progesterona para contribuir a la función del cuerpo lúteo del ciclo fertilizado. Siete días después se administró BE en dosis de 1 mg IM (D21) con el fin de inducir la ovulación del folículo dominante surgido de la nueva ola folicular inducida y sincronizada sin concepción positiva y efectuar el segundo servicio a los 21 a 23 días del primer celo inducido una vez detectada en celo (Figura 1).

- El celo fue observado en la mañana y en la tarde por personal entrenado, auxiliados por toros receladores. Las hembras detectadas en celo entre el día 21 a 23 del primer servicio en ambos grupos experimentales fueron inseminadas, utilizando semen congelado en pellets de un mismo toro de fertilidad probada. El servicio se hizo a la altura del tercer o cuarto anillo de la cervix. Se realizó el doble servicio, y el diagnóstico de preñez se efectuó a los 60 días de la IA mediante palpación rectal.
- En ambos grupos se registró la tasa de concepción al primer y segundo servicio (IRS) o espontáneo.

La eficiencia del método de IRS fue evaluado según Chenault *et al.* (2003) basado en el siguiente criterio:

- Eficiencia del método de IRS = $(\text{Número de vacas en estro posterior al tratamiento de IRS}) / (\text{N.º total de vacas en el tratamiento} - \text{N.º de vacas preñadas}) \times 100$
- Tasa de concepción al primer servicio = $(\text{N.º vacas gestantes del servicio ISE}) / (\text{N.º vacas inseminadas}) \times 100$
- Tasa de concepción al primer servicio = $(\text{N.º de vacas gestadas del servicio IRS}) / (\text{N.º inicial de vacas en el tratamiento} - \text{número de vacas gestantes ISE}) \times 100$
- PA = $\text{Número de vacas gestantes (ISE + IRS)} / \text{N.º inicial de vacas} \times 100$

Los datos fueron evaluados estadísticamente mediante estadígrafos descriptivos. Se realizó el análisis de varianza, GLM y pruebas de comparación de proporciones múltiples utilizando el programa estadístico Systat para Windows (1996). Diferencias entre medias de evaluaron acorde con la dócima de Duncan.

Cuadro 2. Eficiencia de los servicios de inseminación artificial en rebaños Holstein x Brahman bajo programas de inducción del celo mediante protocolo de progesterona y benzoato de estradiol o progesterona y gonadotropina coriónica equina (PMSG//eCG)

Concepción (%)	Al primer servicio		Al segundo servicio		Total de servicios	
	%	n	%	n	%	n
20-25	7.0	1,033	9.0	850	8.0	1,937
26-30	36.0	5,314	13.0	1,228	28.0	6,778
31-35	19.0	2,804	9.0	850	15.0	3,651
36-40	21.0	3,100	17.0	1,606	20.0	4,841
41-46	5.0	738	9.0	850	6.0	1,452
47-50	5.0	738	4.0	378	5.0	1,210
>50	7.0	1,033	39.0	3,684	18.0	4,357

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El principal problema que afecta la eficacia de la IA es la exactitud de la detección de la vaca en celo. Por consiguiente, se desarrollaron múltiples procedimientos identificar las vacas en celo, así como protocolos de tratamiento hormonal para inducir y sincronizar el celo y la ovulación con el objetivo de realizar la IATF (Colazo *et al.*, 2009; Bo *et al.*, 2018; Duro, 2023), y solventar este inconveniente en el campo.

Experimento 1

La mayoría de los primeros servicios (76%) y segundos servicios (39%) efectuados tuvieron una tasa de concepción entre el 26 al 40%, respectivamente (Cuadro 2).

Los intervalos inter servicio en el sistema de amamantamiento restringido y ordeño fue superior a 45 días, mientras que en la crianza artificial el mayor porcentaje de estos intervalos estuvo entre 18-25 días y superiores a 30 días respectivamente (Cuadro 3).

Los resultados muestran evidencias de que las fallas en la fertilización, la ocurrencia de anestro posterior al servicio y la mortali-

dad embrionaria constituyen las manifestaciones más notables que se asocian a la baja eficiencia de los programas de IA mediante protocolos basados en el uso combinación de progesterona más benzoato de estradiol o PMSG/eCG en rebaños con alta incidencia de anestro como sustentan otros estudios (Diskin *et al.*, 2015; Ali, 2021).

En este estudio (Cuadro 4), se corroboró que la estimulación del crecimiento y desarrollo folicular inducido por la PMSG/eCG permite obtener una mayor tasa de preñez en comparación con aquellas vacas tratadas con progesterona y benzoato de estradiol. Este efecto beneficioso es atribuido al mayor tamaño del folículo dominante y del cuerpo lúteo, así como al aumento de la capacidad de este para producir progesterona y mejorar el ambiente uterino, eventos que favorecen la implantación, crecimiento y supervivencia del embrión (Mapletoft *et al.*, 2022; Sánchez y Vargas, 2023). Sin embargo, el alto costo de la PMSG/eCG y la mayor disponibilidad del BE o su análogo el cipionato de estradiol (CPE) y bajo costo han hecho que la combinación de progesterona + BE o CPE sea el protocolo de tratamiento hormonal de mayor uso para la inducción del celo y la ovulación en las vacas posparto (Rhodes *et al.*, 2002; McDougall *et al.*, 2016).

Cuadro 3. Distribución de los intervalos entre servicios posterior a la inseminación artificial (IA) en rebaños Holstein x Brahman bajo programas de inducción y sincronización del celo mediante protocolo convencional de progesterona y benzoato de estradiol con y sin el uso de gonadotropina coriónica equina (PMSG/eCG) según el sistema de producción

Intervalo inter-servicio (días)	Amamantamiento restringido y ordeño		Crianza artificial		Totales		Interpretación
	n	%	n	%	n	%	
<17	237	1.0	1,333	6.0	1,570	3.0	Error en la detección del celo o ciclo corto no fertilizado
18-25	951	4.0	6,371	37.0	7322	18.0	Celo normal no fertilizado o muerte embrionaria precoz
26-29	713	3.0	861	5.0	1,574	3.0	Ciclo estral largo no fertilizado o muerte embrionaria
30-39	1,389	5.0	2,410	14.0	3,799	9.0	Muerte embrionaria tardía
40-45	475	2.0	2,410	14.0	2,885	7.0	Un celo no detectado luego de una primera IA
>45	20,213	85.0	4,133	24.0	24,646	60.0	Muerte fetal o anestro posterior al servicio

Cuadro 4. Eficiencia de los servicios de inseminación artificial (IA) en rebaños Holstein x Brahman bajo programas de inducción de celo mediante la combinación de progesterona y benzoato de estradiol con o sin el uso de gonadotropina coriónica equina (eCG)

Protocolo	+ n	Inseminadas (n)	Gestantes (n)	Concepción (%)
Progesterona+BE2+eCG	5,347	4,990	2,342	47.0 ^a
Progesterona +BE2	4,111	3,796	1,112	29.0 ^b
Totales	9,458	8,786	3,454	39.0

Leyenda: Progesterona en dosis (60|90|90 mg a intervalo de 48 horas y 48 horas más tarde una dosis de 1 mg benzoato de estradiol o 500 UI de eCG e inseminadas a las 48 y 56 horas posterior al tratamiento hormonal

Experimento 2

Durante el periodo de pocas precipitaciones en Cuba se tuvo una dramática disminución del consumo de materia seca derivado de la disminución de la disponibilidad de los pastos (Soto *et al.*, 2010; Alonzo-Vazquez *et al.*, 2019). Esto conduce a una disminución del consumo energía en la dieta e incremento de la proporción de vacas en estado de anestro posparto. Estos cambios están relacionados con las pérdidas de peso vivo y

el estado de la condición corporal, que son ostensibles a partir de las 12 semanas de iniciado el periodo de menor disponibilidad de los pastos y forrajes (Pedroso y Roller, 2023).

En el presente trabajo se encontró una alta incidencia de anestro previo al servicio en el rebaño objeto de estudio que afectó el 69.0% de las vacas, especialmente en las vacas primíparas. En ambos grupos, los niveles de progesterona en la leche fueron inferiores a 1.59 nmol/L y el útero estuvo con

ligero tono o flácido. En cambio, en las hembras cíclicas se encontraron ovarios con consistencia sólida elástica, presencia de folículos de diferentes tamaños y cuerpos lúteos, ligero tono uterino y niveles de la progesterona superiores a 3.18 nmol/l en al menos uno de los exámenes clínicos. Esto sugiere que el efecto del amamantamiento y la menor disponibilidad de la pastura ejerció un efecto más severo en las vacas de primer parto bajo. En este sentido, Baruselli *et al.* (2017) plantearon que, por lo general, las vacas en anestro muestran una menor eficiencia de los tratamientos de inducción del celo y la ovulación, en tanto que García *et al.* (2017) los atribuye a fallas de la ovulación.

En este contexto, uno de los hallazgos más sobresalientes obtenido en esta investigación fueron los encontrados mediante el seguimiento de los eventos fisiológicos que ocurren antes y después de efectuado el servicio, empleando las determinaciones y nivel de progesterona en leche y su interpretación de acuerdo con García *et al.* (2001). Los resultados indican que el 23% de los servicios estuvieron asociados a ciclos anovulatorios y anestro posterior al servicio, y el 47% de las hembras servidas y que habían concebido, fueron encontradas vacías al diagnóstico de gestación realizado a los 60 o 70 días de inseminadas y no fueron detectadas en celo (Cuadro 5).

Este hallazgo sugiere que la eficacia mostrada por el protocolo convencional no ha permitido resolver la baja tasa de concepción y culminación de la gestación en el sistema de producción en estudio. En este sentido, Roth *et al.* (2015) y Pedroso y Roller (2021) identificaron en estos rebaños que más del 60% de las vacas se encontraban en anestro posparto y, de ellas, 32% tenía una baja condición corporal. Estos factores influyen negativamente en la competencia del ovocito y en el crecimiento y desarrollo del embrión (Roth *et al.*, 2015; Pedroso y Roller, 2021). En estas condiciones, aunque los patrones de crecimiento folicular pueden ser

manipulados, es usual que estas hembras dejen de ciclar y pasen a un estado de anestro (Rhodes *et al.*, 2003), lo cual puede explicar los resultados obtenidos en esta investigación.

Las fallas reproductivas encontradas corresponder principalmente a intervalos entre servicios y entre partos, constituyendo una fuente de grandes pérdidas económicas (McMillan *et al.*, 2003) Por lo tanto, el oportuno diagnóstico de preñez tiene como propósito no solo detectar las hembras gestantes, sino, además, aquellas hembras vacías y devolverlas al servicio (Bartolome *et al.*, 2005; Filho *et al.*, 2014; Roller y Pedroso, 2015).

Experimento 3

Tomando en consideración los resultados obtenidos en los experimentos 1 y 2, en la fase de intervención se empleó un sistema sostenible de manejo reproductivo que es capaz de identificar e inducir el retorno al servicio de las hembras no gestantes. Los resultados se muestran en el Cuadro 6.

No hubo diferencias significativas en la tasa de concepción al primer servicio entre el grupo tratado y el control, pero la eficiencia técnica en el segundo servicio fue superior en el grupo donde se aplicó la técnica de IRS ($p < 0.001$). El porcentaje de vacas preñadas del total de expuestas al programa de ISE+IRS fue un 35 % superior al grupo no tratado ($p < 0.001$).

CONCLUSIONES

- En rebaños con alta incidencia de anestro los programas de inducción y sincronización del celo mediante la combinación de progesterona y benzoato de estradiol o gonadotropina coriónica equina mostraron una baja y variable eficiencia técnica.
- Se encontraron evidencias de que la no fertilización, la mortalidad embrionaria y el anestro posterior al servicio son cau-

Cuadro 5. Evaluación de los factores que afectan la eficiencia de los servicios de inseminación artificial (IA) en hembras Holstein x Brahman tratadas por anestro con progesterona combinada con benzoato de estradiol determinado mediante un protocolo estandarizado de niveles de progesterona en leche (García *et al.*, 2001)

n	Días pos-IA			Diagnóstico de preñez	Interpretación	Amamantamiento restringido y ordeño (%)	Crianza artificial (%)	Frecuencia (%)
	0	10-12	22-24					
215	Bajo	Alto	Alto	Positivo	Preñez	23.0	27.0	25.0
14	Bajo	Alto	Bajo	Negativo	No fertilización	6.0	3.0	5.0
311	Bajo	Alto	Alto	Negativo	Muerte embrionaria precoz (<16 días)	46.0	48.0	47.0
198	Bajo	Bajo	Bajo	Negativo	Mortalidad embrionaria tardía, Quiste del cuerpo lúteo o cuerpo lúteo persistente	25.0	22,0	23.0
					Anovulación, anestro posterior al servicio			

Leyenda: Bajo= P4<1.59 nmol/L; Alto= P4 >3.18 nmol /L

Cuadro 6. Fertilidad del celo inducido (ISE) y del segundo celo (natural - Control) o inducidos (IRS) de hembras Holstein x Brahman en estado de anestro posparto bajo sistema de amamantamiento restringido y ordeño en pastoreo bajo las condiciones tropicales de Cuba

Grupo	IA-1 (v)	C-1 (%)	IA-2 (n)	C-2 (%)	PRT (%)
Tratado (IRS)	6,948	27.7 ^a	5072	57.6 ^a	69.0 ^a
Control	6,609	28.0 ^a	2141	44.7 ^b	34.2 ^b

Leyenda: IA-1= inseminadas al primer celo; IA-2 = inseminadas en el segundo celo; C-1 preñadas al primer servicio; C-2 = preñadas al segundo servicio; PRT = preñadas del total de hembras

sas de la baja eficiencia reproductiva en las condiciones climáticas y manejo en que se hallaban las hembras objeto de estudio.

- La intervención mediante la combinación de este tratamiento con una técnica de inducir retorno al servicio de las vacas sin concepción positiva puede mejorar el manejo reproductivo en condiciones del trópico húmedo cubano.

LITERATURA CITADA

1. **Ali S. 2019.** Fertilization failure and early embryonic mortality as a major cause of reproductive failure in cattle: A review. *World Scientific News* 158: 59-71.
2. **Alonso-Vazquez AC, Rivero-Cruz E.D, Benítez-Odio M. 2019.** Behavior of the growth-development of veals Siboney de

- Cuba, fed with integral portions until weaning. *Avances* 21: 3-21.
3. **Asaf S, Leitner G, Furman O, Lavon Y, Kalo D, Wolfenson D, Roth Z. 2013.** Effects of *Escherichia coli*-and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction* 147: 33-43. doi: 10.1530/REP-13-0383
 4. **Barruselli PS, Ferreira RM, Colli MH, Elliff FM, Sá Filho MF, Vieira L, Freitas BG. 2017.** Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Anim Reprod* 14: 558-571. doi: 10.21451/1984-3143-AR999
 5. **Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF, Thatcher WW. 2005.** Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows III: Administration of GnRH 23-day post AI and ultrasonography for non pregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* 63: 1643-1658. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.018
 6. **Besbaci A, Abdelli J, Minviel I, Belabdi R, Kaidi B. 2020.** Association of pregnancy per artificial insemination with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin administered during the luteal phase after artificial insemination in dairy cows: a meta-analysis. *J Dairy Sci* 103: 2006-2018. doi: 10.3168/jds.2019-16439.
 7. **Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. 2003.** Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 78: 307-326. doi: 10.1016/S0378-4320(03)00097-6
 8. **Brito CR, Blanco S, Calderón RC, Preval B, Campos E. 2001.** Patología de la reproducción animal. La Habana, Cuba: Ed Felix Varela.
 9. **Chenault JR, Boucher JF, Dame KJ, Mayer JA, Wood-Follies SL. 2003.** Intravaginal progesterone insert to previously inseminated dairy cows. *J Dairy Sci* 86: 2039-2049. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73793-X
 10. **Colazo M, Mapletoft R, Martinez M, Kastelic J. 2009.** Selección de los tratamientos hormonales disponibles en el mercado para la sincronización en vaquillonas de carne. En: VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina.
 11. **Di Renzo AL, Fontanari M, Gualtieri P, Monsignore D, Schifano G, Alfano V. 2022.** Immuno nutrients involved in the regulation of the inflammatory and oxidative processes: implication for gamete competence. *J Assist Reprod Gen* 39: 817-846. doi: 10.1007/s10815-022-02472-6.
 12. **Diskin MG, Waters SM, Parr MH, Kenny DA. 2015.** Pregnancy losses in cattle: potential for improvement. *Reprod Fert Develop* 28: 83-93. doi: 10.1071/RD15366
 13. **Duro ES. 2022.** Cattle breeding practice of the community and evaluation of artificial insemination (AI) after estrus synchronization in Wondo Genet district, Sidama national regional state, southern Ethiopia. *IJLR* 12: 1-15.
 14. **Early AD, Seekford KZ. 2019.** Symposium review: Prediction pregnancy in dairy cattle. *J Dairy Sci* 102: 11798-11804.
 15. **Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. 1989.** A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72: 68-78. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0
 16. **Figueredo Y, González N, Martínez J, Mollineda A, García I, García JR, Roller F, et al. 2017.** Nivel de inmunoglobulinas, incidencia de mastitis y fertilidad de vacas lecheras hipocuprémicas suplementadas con cobre. *Rev Tecnica* 18: 43. doi: 10.33936/la_tec-nica.v0i18.808
 17. **Filho MF, Marques MO, Girotto R, Santos FA, Sala RV, Barbuio JP, Baruselli PS. 2014.** Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin based time artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology* 81: 284-290. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.09.027

18. **García M, Goodger WJ, Bennett T, Perera BM. 2013.** Uso de un protocolo estandarizado en 14 países para identificar factores que afectan la eficiencia de los servicios de inseminación artificial en ganado bovino a través de análisis de progesterona. *Rev Inv Vet Perú* 12: 164-178. doi: 10.15381/rivep.v12i2.1646
19. **García-Díaz JR, Hernández Barreto MA, Pasinato. 2017.** Eficacia de dos tratamientos hormonales para inducción del celo en la vaca lechera. *Arch Zootec* 66: 67-71.
20. **Lopez L, Alvarez N, Montes I, Fuentes D, Pedroso R, Palma GA, Brem G. 1996.** Effect of body condition on developmental competence of IVM/IVF bovine oocyte. *Theriogenology* 45: 292.
21. **Mapletoft R, Baruselli P, Bó G. 2022.** Physiology related to the use of eCG in beef and dairy cattle. *Spermova* 12: 83-91. doi: 10.18548/aspe/0010.13
22. **McDougall S, Abbloos E, Pieper S, Rao AS, Astiz Van Werves T, Stateham J, Pérez-Villalobos N. 2016.** Addition of meloxicam to the treatment of clinical mastitis improve subsequent reproductive performance. *J Dairy Sci* 99: 2026-2042. doi: 10.3168/jds.2015-9615
23. **McDougall S, Castle R, Blythe E, Macpherson Y, Karkaba A. 2021.** Increasing conception rate by addition of a second prostaglandin injection in an Ovsynch and progesterone treatment programme for dairy cows not detected in oestrus before the start of the seasonal mating period. *New Zeal Vet J* 69: 211-223. doi: 10.1080/00480169.2021.1906343
24. **Menéndez A. 1984.** Uso de la cinta métrica para evaluar el peso corporal de bovinos mestizos Holstein x Cebú en Cuba. Informe Técnico. La Habana, Cuba: CIMA.
25. **Núñez D, Aragón J, Hernández J, Pedroso R, Ruiz T, Ortiz R. 1989.** Estudio de algunas características físicoquímicas del mucus cervical durante el estro. *Rev Cub Reprod Anim* 15: 17-37.
26. **Otava G, Squicciarini S, Marc S, Suici T, William Onan G, Hutu I, Torda I, et al. 2021.** Effects of age and season on conception rate of Mediterranean Italian dairy buffalo (*Bubalus bubalis*) following oestrus synchronization and fixed time artificial insemination. *Reprod Domest Anim* 56: 1511-1518 . doi: 10.1111/rda.14013
27. **Pedroso R, Roller F. 2023.** Relación entre peso vivo condición corporal productividad y eficiencia de la reproducción asistida en novillas *Bos indicus* x *Bos taurus* en el trópico húmedo. En: VII Convención Universidad Técnica de Manabí. Ecuador.
28. **Pedroso R, Roller F. 2021.** Métodos biotécnicos y manejo reproductivo para mejorar la fertilidad y eficacia de las técnicas de reproducción asistida del ganado bovino en clima tropical. Cuba: Ed. CIMAGT.
29. **Plaizier K. 1993.** Validation of the FAO/IAEA RIA kit for measurement of progesterone in skin milk and blood plasma. In: Improving the productivity of indigenous African livestock. IAEA-TECDOC-708. Vienna, Austria. p 151-156.
30. **Roller R, Pedroso R. 2015.** Comparación de dos procedimientos para la resincronización del estro de vacas inseminadas, previamente tratadas por anestro. *Rev Tecnica* 14: 50-55.
31. **Roth Z, Dvir A, Kalo P, Lavon Y, Krifucks Q, Wolfenson D, Leitner G. 2013.** Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes. *J Dairy Sci* 96: 6499-6505. doi: 10.3168/jds.2013-6903
32. **Rhodes FM, Burke ML, Macmillan KL.** Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicle turnover in postpartum anestrus cows and cows which have resumed estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 69: 139-50.
33. **Sánchez H, Vargas P. 2023.** Efecto en la eficiente reproductiva mediante el uso de dos protocolos (eCG y Ovsynch) para IATF en ganado bovino tropical. *Rev Vet Zootec Amaz* 3: e487. doi; 10.51252/revza.v3i1.487

34. **Soto SA, Guevara VR, Senra PA, Guevara VG, Otero A, Curbelo RL. 2010.** Influencia de la distribución de parición anual y el aprovechamiento del pasto en los resultados alcanzados en vaquerías de la cuenca de Jimaguayú, Camagüey. I. Indicadores productivos y reproductivos. *Rev Prod Anim* 22: 37-44.
35. **Systat (6.0) for Windows. 1996.** Statistics. Systat. Products. SPSS. Chicago, USA.
36. **Tippenhauer CM, Steinmetz I, Heuwieser W, Fricke PM, Lauber MR, Cabrera EM, Borchardt S. 2020.** Effect of dose and timing of prostaglandin F_{2a} treatments during a 7-d Ovsynch protocol on progesterone concentration at the end of the protocol and pregnancy outcomes in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 162:49-58. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.12.020.
37. **Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. 2002.** Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52. doi: 10.1016/s0093-691x(01)00656-2
38. **Zemjânis R. 1970.** Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction. 2nd ed. Baltimore, USA: Williams & Wilkins. 242 p.