

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE DIFERNTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO EN
VAQUILLONAS Y VACAS HOLANDO EN CONDICIONES PASTORILES**

Por:

**ARREGUI REVELLO Román
HAENDEL SOSA Magdalena
LUCCHESINI FLORES Sabrina**



TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias
(Orientación: Medicina Veterinaria y
Producción Animal).

Modalidad: "Ensayo Experimental"

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2008**

087 TG

Evaluación de d

Arregui Revello, Román

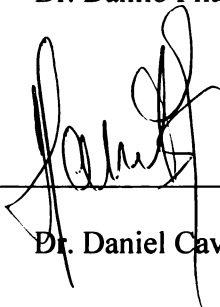


FVI27724

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dr. Danilo Fila



Segundo Miembro (Orientador):

Dr. Daniel Cavestany

Tercer Miembro:

Dra. Daniela Crespi

Fecha:

Autores:

Román Arregui

Magdalena Haendel Sosa

Sabrina Lucchesini

AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor Dr. Daniel Cavestany por su tiempo y apoyo para poder llevar a cabo nuestra tesis.
- A Ana Meikle por el procesamiento de las muestras de progesterona.
- Al Personal de campo del INIA La Estanzuela.
- A Daniela Crespi por su colaboración
- A nuestras familias y amigos, por acompañarnos y apoyarnos en el transcurso de esta etapa.
- A la Facultad de Veterinaria que nos preparó en nuestra formación profesional.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	IV
RESÚMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
Ciclo estral en la Vaca	4
Fases del ciclo estral	4
Regulación hormonal del ciclo estral	4
Progesterona	5
Dinámica folicular	6
Regulación hormonal de las ondas foliculares	7
Desarrollo folicular en el período posparto	8
Comportamiento de celo	9
Manejo farmacológico del ciclo estral bovino	9
Uso de Prostaglandinas	10
Métodos de Uso de la Prostaglandina F _{2α}	11
Una dosis de PG	11
Doble dosis de PG	12
Palpación del cuerpo lúteo e inyección de PG	12
Ventajas y desventajas en el uso de Prostaglandinas en la Sincronización de Celos	12
Combinación de Análogos de GnRH y PG	13
Protocolo Ovsynch/IATF	13
Protocolo Presynch	14
Protocolo Heatsynch	14
Protocolo Cosynch	15
Protocolo SelectSynch	15
El uso de la progesterona/progestageno para controlar el estro	15
Combinación de progestágenos con diferentes hormonas para sincronizar el desarrollo folicular	18
Combinación con Estradiol	19
Combinación Con PG	19
Combinación Con GnRH	20
OBJETIVOS	21
Ensayo 1	21
Ensayo 2	20
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Ensayo 1	22
Ensayo 2	23
Detección de celo	23
Diagnostico de gestación	24
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	25
Ensayo 1	25

Ensayo 2	28
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	32
Ensayo 1	32
Ensayo 2	33
BIBLIOGRAFÍA	36

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1. Variación en la concentración de Progesterona	5
Figura 2. Dinámica folicular	7
Figura 3. Porcentaje de vaquillonas inseminadas a celo visto y con IATF en el grupo 7	25
Figura 4. Porcentaje de concepción al primer servicio del grupo 7	26
Figura 5. Comparación de porcentaje de concepción entre el grupo 7 y el grupo 9	26
Figura 6. comparación del porcentaje de concepción entre grupo 7 y grupo 9 por IATF	27
Figura 7. Comparación entre ambos grupos del porcentaje de preñez final	28
Figura 9. Niveles de progesterona en sangre el día 0 del tratamiento.	29
Figura 9. Ocurrencia diaria de celos a partir de la inyección de prostaglandina.	30
Figura 10. Porcentaje de celos, concepción y preñez al primer servicio.	31
Cuadro I. Frecuencia de los pulsos de LH y tamaño del foliculo dominante	17
Cuadro II. Características del foliculo ovulatorio, celo y porcentaje de preñez	18
Cuadro III. Relación entre la duración de la dominancia y el porcentaje de preñez	19
Cuadro IV. Determinación de P4 en sangre al día 0 y al día 1.	28
Cuadro V. Niveles de P4 en sangre en el día 0 del tratamiento	29

RESUMEN

Con el objetivo de comparar dos protocolos de sincronización de celos con inseminación artificial a tiempo fijo (Ovsynch/IATF) (ensayo 1), se utilizaron 81 vaquillonas de la raza Holando de 38 meses de edad promedio, las que fueron asignadas a dos grupos: Grupo 7: Ovsynch + P4 (n = 39), Día 0: administración de 10 µg de GnRH y colocación de un implante intravaginal con Medroxiprogesterona (MAP); Día 7: administración de 150 mg de un análogo sintético de Prostaglandina F_{2α} (PG) y retiro del implante intravaginal y detección de celos 2 veces por día e IA a todas las vaquillonas detectadas en estro entre el día 7 y 9; Día 9: administración de 10 µg de GnRH; Día 10: IATF aproximadamente 15 horas después de la GnRH. Grupo 9: Ovsynch modificado + P4: (n= 42). Día 0: GnRH y colocación del implante vaginal con MAP; Día 7: PG; Día 9: GnRH y retiro del implante vaginal; Día 10: IATF aproximadamente 15 horas después de la GnRH. El porcentaje de preñez general al primer servicio fue de 20,51 para el grupo 7 y de 11,9 (P>0,1) para el grupo 9. La preñez final fue de 66,6% y de 54,76% en el grupo 7 y 9 respectivamente (P>0,1). Se observó que la permanencia del implante por dos días más no fue beneficioso siendo el resultado de preñez significativamente menor. En un segundo ensayo se utilizaron 64 vacas Holando de dos lactancias en promedio y de más de 50 días posparto (DPP). Se asignaron a dos grupos: Grupo 1 (n = 32): GnRH + PG, Día -7: administración de 10 µg de GnRH; Día 0: administración de 150 mg de un análogo sintético de PG. Grupo 2 (n = 32): PG, Día 0: PG. En ambos grupos se extrajo sangre para medir progesterona en plasma a los días 0 y 1. Los resultados obtenidos en sangre fueron diferentes para ambos grupos en el Día 0 del tratamiento (Grupo 1 3,3±0,4 y Grupo 2 1,6±0,4; P<0.05), debido a que el grupo 1 obtuvo más animales en fase luteal, lo que coincidió con mayores presentaciones de celo luego de la aplicación de PG. La distribución de los celos fue más concentrada para el grupo 1 en el que se inseminaron un 10% el día 2, un 65% el día 3 y un 25% el día 4; mientras que para el grupo 2 los celos fueron más dispersos a lo largo de los 6 días posteriores a la PG. El porcentaje de preñez general al primer servicio fue de 45% para el grupo 1 y de 36% para el grupo 2 (P>0,1) y la preñez final fue de 28% para el grupo 1 y de 15,6% para el grupo 2 (P>0,1). La administración de GnRH una semana antes de la PG mejoró la concentración de celos, pero no afectó la concepción y preñez final.

SUMMARY

To compare two estrus synchronization protocols with fixed time artificial insemination (Ovsynch/TAI) (Trial 1), 81 Holstein heifers were divided in two treatment groups: Group 7: Ovsynch + MAP (n = 39), Day 0: administration of 10 µg of GnRH and insertion of a vaginal device impregnated with 220 mg of Medroxyprogesterone Acetate (MAP); Day 7: administration of 150 mg of a synthetic analog of Prostaglandin F_{2α} (PG) and removal of the vaginal device plus estrus detection twice a day and artificial insemination (AI) 12 hours later to all heifers in heat between days 7 to 9; Day 9: administration of 10 µg of GnRH; Day 10: TAI 15 hours after GnRH. Group 9 modified Ovsynch + MAP (n = 42): Day 0: GnRH and MAP vaginal device; Day 7: PG; Day 9: GnRH and removal of the vaginal device; Day 10: TAI 15 hours after GnRH administration. First-service pregnancy rate was 20.5% for Group 7 and 11.9% for Group 9 (P>0.1). Overall pregnancy rate was 66.6% and 54.7% for groups 7 and 9 respectively (P>0.1). Maintaining the vaginal device for two more days was not beneficial, as pregnancy rate was lower in this group. In a second Trial, 64 multiparous postpartum Holstein cows were randomly selected and assigned to two treatment groups: Group 1 (n = 32) GnRH + PG: Day -7 administration of 10 µg of GnRH; Day 0: administration of 150 mg of a synthetic analog of Prostaglandin F_{2α} (PG). Group 2 (n = 32) PG: Day 0: administration of 150 mg of a synthetic analog of Prostaglandin F_{2α} (PG). A blood sample was taken in both groups at days 0 and 1 to determine progesterone (P4) content. P4 levels at Day 0 were different in both groups, as Group 1 had higher P4 values than Group 2 (3.3±0.4 vs. 1.6±0.4; P<0.05), reflecting more cows in diestrus. Distribution of heats was more concentrated for Group 1 (Day 2: 10%, Day 3: 65%, day 4: 25%) than for Group 2 where heats were more scattered along the 6 days following PG administration. First service pregnancy rate was 45% for Group 1 and 36% for Group 2 (P>0.1) and overall pregnancy rate was 28.0% for Group 1 and 15.6% for Group 2 (P>0.1). Administration of GnRH 7 days before PG improved concentration of induced heats but not affected fertility.

INTRODUCCIÓN

Una producción lechera eficiente se basa en la programación de los servicios de acuerdo a las distintas condiciones climáticas, forrajeras y de mercado. El manejo de las pariciones en los sistemas de producción lechera es clave para la obtención de los objetivos de producción y remisión de leche. Para poder programar las pariciones en el momento que sea beneficioso se debe lograr un alto porcentaje de preñez en un corto período de tiempo. El cálculo del porcentaje de preñez se compone de: el porcentaje de detección de celos y el porcentaje de concepción. Ya que aumentar el porcentaje de concepción no es sencillo, se puede intentar aumentar el porcentaje de detección de celos. Una manera de lograr esto es aumentar los períodos diarios de detección (Van Eerdenburg y col., 1996) o la utilización de tratamientos hormonales de sincronización. Los métodos hormonales para la sincronización de celos han evolucionado al uso combinado de un importante número de hormonas o sus análogos sintéticos, con la finalidad de poder controlar y manipular el ciclo estral en la vaca (Evans y col., 1994).

Diferentes métodos de sincronización del estro han sido utilizados como una herramienta de manejo, procurando concentrar los mismos durante un período de tiempo lo más corto posible, manteniendo una adecuada tasa de concepción. De esta forma la sincronización ha permitido tener control sobre decisiones que afectan en forma directa la eficiencia del sistema productivo, permitiendo el uso de tecnologías como por ejemplo, la inseminación artificial a tiempo fijo. En las últimas décadas se han logrado avances importantes en el conocimiento de la dinámica del ciclo estral, lo cual ha permitido una mejor comprensión de los eventos que se suceden durante el mismo. Esto se ha llevado a que sean innumerables los protocolos de tratamientos hormonales, con la finalidad de una mejor manipulación de estos dentro de un plan productivo/ reproductivo (Adams y col., 1994a).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Ciclo estral en la vaca

El ciclo estral se define como, el período de tiempo que va desde el inicio del celo o estro hasta el inicio del siguiente. La vaca es poliéstrica anual, con un ciclo estral de duración promedio de 21 días. El celo (período en el cual la hembra acepta la monta) dura entre 6 - 18 horas y la ovulación tiene lugar entre 24-30 horas después de comenzado el celo (Bo y col. 1998). Durante el celo hay que destacar dos tipos de eventos que ocurren simultáneamente, estructurales y hormonales. Los primeros ocurren en el ovario y son los relacionados al crecimiento y diferenciación folicular, a la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (CL). Los segundos son hormonales y en éstos intervienen no sólo el ovario sino todo el eje hipotálamo-hipofisario. El ciclo estral resulta de una coordinación de cuatro órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero), los cuales se comunican a través de hormonas y neurotransmisores. Las principales hormonas involucradas son: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), secretada por el hipotálamo; las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) de la hipófisis (que actúan sobre el ovario); el estradiol (E2), la inhibina, la progesterona (P4) de origen luteal y la Prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG), secretada por el útero.

Fases del ciclo estral

En este ritmo biológico del ciclo estral se pueden diferenciar las siguientes fases: estro, fase de receptividad sexual, durante la cual se produce la ovulación; metaestro, período de formación del cuerpo lúteo; diestro, fase de predominio de la actividad del cuerpo amarillo o lúteo, también se la denomina progestacional; proestro, período previo al estro. Al proestro y al estro también se les denomina fase estrogénica (folicular) por estar bajo el predominio de los estrógenos producidos por el ovario, en tanto que al metaestro y al diestro se les conoce como fase progestacional (lútea) o de predominio del cuerpo lúteo, glándula secretora de la hormona progesterona u hormona de la gestación (Ramirez. 2006).

Regulación hormonal del ciclo estral

Los ovarios bovinos sintetizan y secretan E2 y P4, los cuales coordinan la función del sistema reproductivo femenino. Como ya dijimos, cada ciclo estral comprende una fase folicular y una fase luteal, la fase folicular se caracteriza por el desarrollo de un folículo preovulatorio que secreta E2, mientras que la fase luteal se caracteriza por la secreción de P4 por el CL, el cual se forma después de la ovulación del folículo preovulatorio. Al final de la fase luteal, el CL involucrena por acción de la PG y ocurre el desarrollo final del próximo folículo preovulatorio.

La secreción de gonadotropinas juega un rol central en el control del ciclo estral. El folículo preovulatorio en desarrollo produce un nivel crítico de E2 que estimula al hipotálamo para aumentar la frecuencia y amplitud de los pulsos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Se sugiere que esto ocurre en bovinos, basado en un aumento de la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH. El incremento en los pulsos de LH amplifica la secreción de E2, completa el desarrollo folicular, induce el comportamiento estral y estimula la onda preovulatoria

de LH. La ovulación ocurre aproximadamente 30 horas después de la onda preovulatoria de LH (Chenault y col., 1976; Robinson y Shelton, 1991; Driancourt y col., 1993).

La regulación de la producción de esteroides por las células de la teca y de la granulosa en el ovario depende de las Gonadotropinas y de la regulación parácrina de hormonas ováricas. Las células tecales tienen receptores para LH, pero no para FSH (Ireland y Roche, 1983a). La unión de LH a las células tecales aumenta a medida que el folículo preovulatorio se desarrolla. Por el contrario, las células de la granulosa tienen receptores tanto para LH como para FSH. A medida que el folículo preovulatorio se desarrolla, la unión de LH a sus receptores en las células de la granulosa aumenta y hay una disminución de la unión de FSH (Ireland y Roche, 1983a, 1983b). En conclusión, tanto LH como FSH son esenciales para el desarrollo folicular y la esteroidogénesis (Fortune y col., 1988).

Progesterona

Las concentraciones plasmáticas de progesterona reflejan el desarrollo, mantenimiento y regresión del CL. Las concentraciones comienzan a elevarse desde el día 4 del ciclo, hasta alcanzar un pico entre los días 16 y 18 con concentraciones de 3,5 a 6,0 ng/mL en sangre periférica, posteriormente descienden hasta valores basales (0,1 ng/mL) antes del estro y la ovulación. Esta hormona ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la liberación de LH, reduciendo la frecuencia de los pulsos de LH, influyendo en la terminación del pico preovulatorio de E2. La P4 presenta también un patrón pulsátil de secreción, coincidiendo en la fase luteínica con los pulsos de FSH (Illera, 1994).

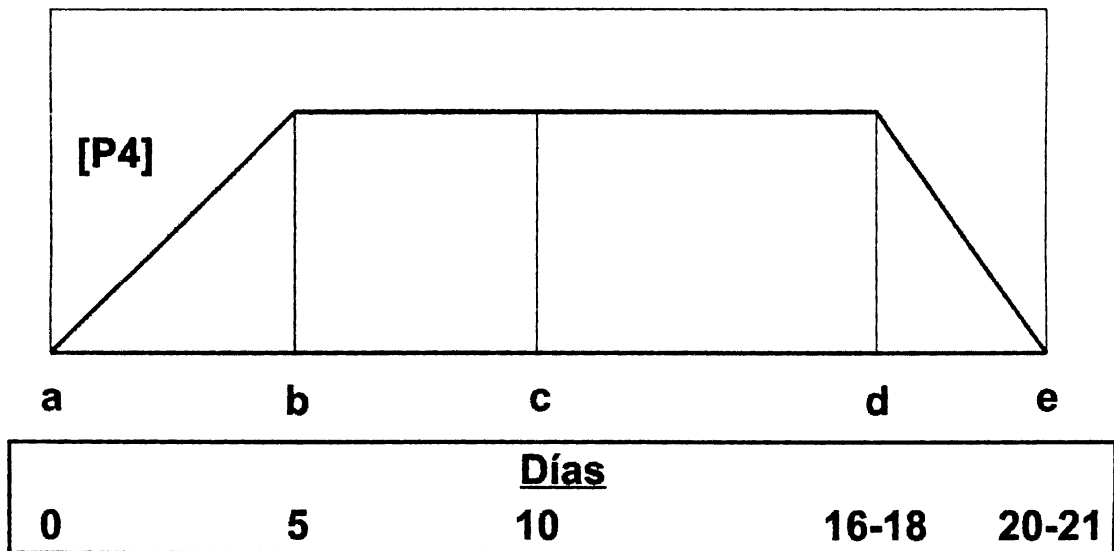


Figura 1. Variación en la concentración de progesterona (P4), durante el ciclo estral de una vaquillona o vaca a y e: celo, a-b: metaestro, b-d: diestro, b-c: diestro temprano, c-d: diestro tardío, d-e proestro. (Modificado de Rodríguez Blanquet., 2003).

Dinámica folicular



A finales de la década del 80, trabajos utilizando ultrasonografía de tiempo real documentaron convincentemente que el crecimiento folicular en el bovino ocurre en ondas (Knopf y col., 1989).

Estudios realizados (Ginther y col., 1989a) demostraron que en los ciclos estrales con 2 ondas de desarrollo folicular, la emergencia de cada onda ocurre el día de la ovulación (día 0) y el día 10 post ovulación; el folículo dominante de la segunda onda es el que ovulará, ya que la regresión del CL ocurre el día 16-17 del ciclo, mientras que el folículo que comenzó su desarrollo el día 0 normalmente experimentará un proceso de atresia. El mismo autor también relata que en ciclos con 3 ondas éstas emergen los días 0, 9 y 16 post ovulación, siendo las dos primeras anovulatorias debido a que la fase luteal se mantiene en estos casos hasta el día 19 del ciclo. La característica del folículo dominante de la primera onda entre el patrón de 2 ondas y el patrón de 3 ondas no es diferente, pero la segunda onda emerge 1 a 2 días más temprano en los animales con 3 ondas que en los de 2 ondas (Ginther y col., 1989b). El CL comienza su regresión más temprano en los ciclos de dos ondas (día 16) que en los de tres ondas (día 19), afectando consecuentemente el intervalo interovulatorio (20 días y 23 días respectivamente) (Ginther y col., 1989b; Bo y col., 1998).

Si bien en el 95% de los ciclos estrales hay 2 o 3 ondas de desarrollo folicular, hay diferencias entre los estudios en cuanto a la preponderancia de animales con 2 o 3 ondas. Algunos investigadores han observado una preponderancia de 2 ondas (Ginther y col., 1989a), otros indican una predominancia de ciclos de 3 ondas (Bo y col., 1993; Savio y col., 1988) y otros han observado una distribución uniforme (Adams y Pierson, 1995).

A pesar de que todos los factores que afectan el desarrollo folicular no han sido enteramente dilucidados, aquellos tales como el nivel nutricional, stress calórico, y estacionalidad, pueden modificar el patrón de desarrollo folicular (Adams y Pierson, 1995; Murphy y col., 1991; Zeitoun y col., 1996). Las características del desarrollo folicular en los ciclos estrales se esquematizan en la figura 2:

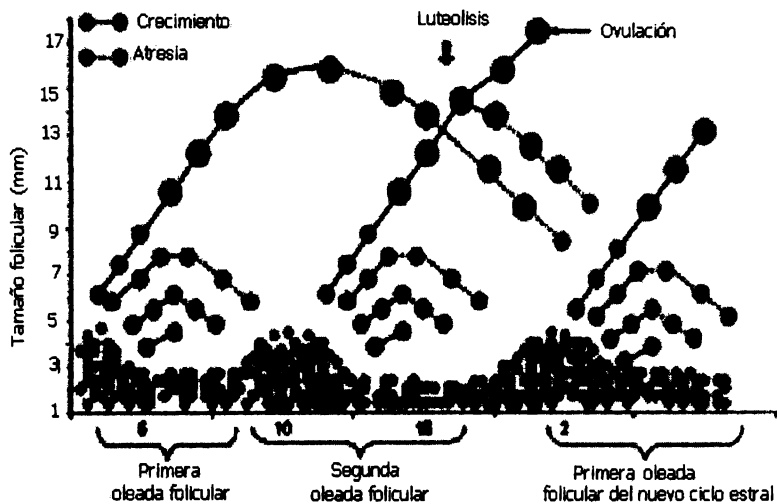


Figura 2. Dinámica folicular en bovinos, durante cada ciclo estral ocurren dos o tres ondas foliculares, en cada onda un grupo de folículos es escogido de la reserva para que inicien un proceso de crecimiento (Modificado de Espinoza-Villavicencio y col., 2007).

La aparición de la onda folicular se caracteriza (en el plazo de 2 a 3 días) por el crecimiento repentino de 8 a 41 folículos pequeños con un diámetro de 3 a 4 mm (Ginther y col., 1989b), (etapa de reclutamiento), luego los folículos crecen hasta cierto punto y se selecciona un folículo (etapa de selección), el cual continúa creciendo y se denomina como folículo dominante (etapa de dominancia) y el resto de los folículos subordinados se atresian (Adams, 1994a). Si el folículo dominante coincide con la regresión del cuerpo lúteo entonces éste folículo ovula. Por el contrario, si la involución luteal no ocurre durante la fase de dominancia, el folículo dominante sufre atresia y empieza una nueva fase de selección (Ireland y Roche, 1987).

Regulación hormonal de las ondas foliculares

Adams y col. (1992) y Sunderland y col. (1994) reportaron que hay un patrón cíclico de secreción de FSH durante el ciclo estral de bovinos. La FSH es una hormona clave para la emergencia de ondas foliculares y su disminución está asociada a la selección de un folículo dominante que se hace dependiente de LH para su crecimiento (Roche, 1996). Adams y col. (1992) concluyeron que hay una secuencia temporal entre las ondas de FSH y la subsecuente emergencia de ondas foliculares. El período de selección folicular coincide con el primer descenso en la secreción de FSH. La involución del primer folículo dominante, a mitad del ciclo, es debida a un efecto de retroalimentación negativa de la P4, producida por el CL, sobre la secreción de LH (Savio y col., 1993). En ausencia de un CL normal y en un ambiente de baja concentración de P4, el primer folículo dominante continúa creciendo y suprime el crecimiento de otros folículos por más de 20 días (Savio y col., 1993). Este crecimiento mantenido y de dominancia funcional es debido a un aumento en la frecuencia de los pulsos de LH. Las concentraciones plasmáticas de E2 son altas antes de la onda de LH y bajan durante la onda de LH. Las concentraciones de andrógenos y progestágenos en el fluido folicular son mucho más bajas que las de E2 antes de la onda de LH. Luego de la onda los andrógenos declinan en el fluido folicular, mientras que la P4 aumenta. Por el contrario, los folículos atrésicos difieren de folículos no atrésicos en que los primeros tienen

mucha menor concentración de E2 que los segundos (Fortune y Hansel, 1985; Badinga y col., 1992; de la Sota, 1995). La presencia de altos niveles de P4 durante la fase luteal asegura que el período de dominancia funcional sea limitado, debido a la inducción de una baja frecuencia de pulsos de LH que es insuficiente para mantener la función folicular y lleva a la atresia. Por el contrario, el mantenimiento de concentraciones de P4 entre 1 y 2 ng/mL prolonga tanto la dominancia morfológica, como la dominancia funcional (Sirois y Fortune, 1990; Savio y col., 1993). En casos donde el ciclo estral es prolongado por el mantenimiento de una concentración anormal de P4, artificialmente o naturalmente como en la gestación (Ginther y col., 1989b), tienen lugar el desarrollo continuo de ondas foliculares. Sin embargo, la ocurrencia de ondas foliculares durante la preñez es más prevalente en el ovario contralateral al cuerno uterino que está gestante.

Desarrollo folicular en el período posparto

Al final de la gestación y el inicio del posparto, la adenohipofisis presenta un reducido contenido de LH debido a la ocurrencia de un feedback negativo por los elevados niveles circulantes de progesterona durante la gestación (Nett, 1987). Para el restablecimiento de la actividad ovárica cíclica en el posparto, es necesario que ocurra la restauración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, antes que los pulsos de LH liberados a la circulación tengan amplitud suficiente para estimular el crecimiento y maduración folicular.

Los procesos que ocurren durante una onda de crecimiento folicular se suspenden momentáneamente durante un tiempo variable después del parto. La dinámica folicular durante el período posparto temprano se caracteriza por el crecimiento y regresión de folículos menores de 8 mm de diámetro, los cuales no llegan a madurar y a ovular debido a las bajas concentraciones de LH en sangre (Stevenson, 1997). El desarrollo folicular en ondas se restablece en el posparto y hay un gran aumento de FSH que recluta los folículos de la primera onda folicular (Wiltbank y col., 1975) sin embargo, hay una inadecuada frecuencia de pulsos de LH que afecta el crecimiento final del folículo dominante y su ovulación. Cuando los pulsos de LH aumentan a aproximadamente un pulso cada 40-60 minutos se estimula el crecimiento final del folículo dominante y hay una máxima producción de estrógenos (E2) que, por retroalimentación positiva sobre el hipotálamo, desencadena el pico preovulatorio de FSH y LH y la primera ovulación (Roche, 1975).

El primer ciclo estral posparto es más corto que lo normal en un 54% de los animales con una duración promedio de 13 a 17 días (Fonseca y col., 1983; Schams y col., 1978; Stevenson y col., 1979; Webb y col., 1980). La primera ovulación ocurrió entre los días 14 y 35 posparto y por lo menos el 50% de las vacas presentaron una ovulación silenciosa (Schams y col., 1978). Para que el celo se manifieste, además de tener niveles altos de estradiol, es necesario que la vaca haya tenido previamente ciertos niveles de progesterona y al no existir progesterona previa ocurre una ovulación silente (Gatica, 1993).

Comportamiento de celo

En una población de animales sexualmente activa con una distribución normal del ciclo estral, la frecuencia diaria de celos oscila entre un 3% y un 4% diaria (Smalley, 1981). Los primeros datos sobre duración de celo mencionaban 17,8 horas en vacas y 15,3 horas en vaquillonas (Trimberger y Frincher, 1956), pero la intensificación de la producción de leche ha resultado en una disminución de la duración de celo a 7,3 horas en vacas y 11,3 en vaquillonas (Wiltbank y col., 2000). En Uruguay, un estudio reciente demostró que en nuestros animales Holando, la duración del celo es de 10 horas en vacas y 13,5 horas en vaquillonas (Cavestany y col., 2007).

El síntoma principal de celo es la aceptación a la monta por otras vacas (Williamson y col., 1972; Foote, 1975) y éste se da en un 90% de las vacas y en un 65% de las vaquillonas (Cavestany y col., 2007). Si bien hay evidencia que la mayor manifestación de celo se da durante las horas de la noche (Williamson y col., 1972; Esslemont y Bryant, 1976), estudios en nuestras condiciones han encontrado que la actividad de celo se presenta más uniformemente distribuida a lo largo del día (Cavestany, 2000, datos no publicados).

Cuando en un rodeo hay más de un animal en celo (en caso de una sincronización, por ejemplo), éstos tienden a agruparse e interactuar entre ellos, lo que se denomina grupo sexualmente activo, en donde hay una disminución en los tiempos de pastoreo, descanso, rumia y frecuentemente en la producción de leche. Hay un aumento en la actividad (caminan más), así como también se incrementa la frecuencia de micción (Morrow, 1986).

Manejo farmacológico del ciclo estral bovino

La sincronización de celos permite aumentar la cantidad de vacas en estro en un período menor de tiempo (Cavestany y Foote, 1985). Por otra parte, al lograr una mayor actividad sexual en una población, se logra aumentar la sintomatología de celo (Williamson y col., 1972; Hurnik y col., 1975) lo que podría mejorar la eficiencia de detección. Es por ello que la regulación de la actividad ovárica se ha convertido en una herramienta muy útil y de creciente uso en explotaciones lecheras comerciales.

Los objetivos que se persiguen son:

- Programas de reproducción controlada (sincronización de celos)
- Regulación de ondas foliculares para mejorar la precisión de la sincronización de celos
- Reducción de la incidencia de celos no detectados
- Mejorar la eficiencia de la inseminación artificial.

Existen tres enfoques básicos para sincronizar el celo en los bovinos:

- Provocar regresión sincrónica del CL usando PG
- Sincronización de la onda folicular usando luego PG cuando un folículo dominante esta presente
- Administración de progesterona/ progestageno para regular el tiempo de ovulación.

La utilización de PG para la sincronización de celos es una herramienta excelente. De hecho, la PG es la sustancia natural producida por el útero de la vaca para causar la regresión normal del CL. Por lo tanto, la inyección de PG es una manera de inducir selectivamente la regresión del CL de una manera similar al proceso normal. La tasa de concepción con este método es similar a la del celo natural, por lo menos en comparaciones dentro de cada rodeo. Esta hormona fue la base de los primeros métodos de sincronización de celos (Rowson y col., 1972; Inskeep, 1973), aunque la respuesta depende de la presencia de un CL funcional (días 5 a 16 del ciclo) y varía de acuerdo al día del ciclo estral en que se aplique (Nelson, 1978). Además de esta variación con respecto al día de inyección, en vacas de leche en producción la respuesta a esta hormona es más errática que en vaquillonas, ya que mientras en esta última categoría un 73% presenta estro dentro de los 5 días luego del tratamiento, en vacas en producción el porcentaje de celos en los primeros 5 días oscila entre un 12 % (Lauderdale y col., 1981) y un 35% (Cavestany, 2000).

En vacas en producción los cambios metabólicos y hormonales asociados con la lactación alteran el desarrollo folicular del ovario, con reducción de los niveles de estradiol y alteración del patrón de crecimiento folicular, de modo que esta categoría de animales entra en celo más tarde que en vaquillonas o vacas no lactando (Cavestany, 2002).

Muchos estudios han demostrado que el uso de la de PG puede reducir el intervalo entre los ciclos estrales detectados y mejorar la eficiencia de detección del celo. Sin embargo, la PG no regresa el cuerpo lúteo temprano (menos de 6 días después del estro) y no llega al 90% de luteólisis hasta que el CL tiene 8 a 9 días de edad (Elhordoy, 1987). La sincronización del celo con PG ha sido exitosa si el ganado se insemina en un estro detectado (Larson y Ball, 1992) debido a que se incrementa la tasa de detección y el manejo de la inseminación artificial es más eficiente, comparado con la detección diaria del estro sin utilizar un tratamiento hormonal. Sin embargo, el estro no está precisamente sincronizado con PG en vacas lecheras en lactancia que responden a PG por que este tratamiento solo regula el tiempo de vida del cuerpo lúteo y no sincroniza el crecimiento folicular. Por lo tanto las vacas con cuerpo lúteo funcional entraran en celo durante un período de siete días después del tratamiento con PG (Larson y Ball, 1992).

Los eventos endocrinos luego de la administración de PG son normalmente:

1. Caída inmediata en los niveles plasmáticos de P4 (<24 horas)
2. Aumento gradual de la LH basal e incremento de la frecuencia de sus pulsos
3. Desarrollo folicular, aumento del estradiol proestral
4. Comportamiento estral, pico de LH/FSH y ovulación

Los animales sin un folículo dominante (FD) tendrán intervalo más largo al comienzo del estro (4-7 días) que el que tienen aquellos con un FD activo 2-3 días. Por ende, a pesar de la inducción sincrónica del CL hay una gran dispersión en el comienzo del estro. Esto explica las fallas de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) luego de la PG cuando es administrada solo una inyección a animales que están en diferentes etapas del ciclo con un CL sensible.

Hoy día se sabe que la PG exógena no es igualmente efectiva durante la totalidad del diestro. Varios investigadores demostraron que el día del diestro en que se inyecta la PG afecta el porcentaje de celos y el intervalo tratamiento a celo (King y col., 1982; MacMillan y Henderson,

1984). Las hembras inyectadas en el diestro tardío (días 10 al 18) muestran mayor porcentaje de celo y un intervalo tratamiento a celo más prolongado que las inyectadas en diestro temprano (días 5 al 10).

Para obtener un porcentaje de fertilización elevado no solo es necesario sincronizar la regresión luteal, sino también el crecimiento folicular. Kastelic y col. (1990) mostraron que la mayor o menor demora en la aparición de celo se debe a la etapa de desarrollo del folículo ovulatorio al momento de la aplicación de la PG. Por otro lado, Berardinelli y Adair (1989) encontraron una interacción entre dosis y el momento de diestro en que se inyecta la hormona. Todos los trabajos concuerdan que la aplicación de PG en diestro tardío permite obtener alrededor del 100% de celos tanto a dosis comerciales (Tanabe y Hann, 1984; Macmillan y Henderson, 1984; Watts y Fuquay 1985; Bernardelli y Adair, 1989) como a dosis menores, (Bernardelli y Adair, 1989; Rodríguez Blanquet y col., 1996). Estos últimos autores determinaron, en vaquillonas, que en diestro tardío se puede obtener un valor superior al 90% de celos inyectando un cuarto de la dosis comercial del análogo PG utilizado, respecto a la fertilidad de los celos los resultados han sido similares o superiores a los obtenidos al aplicar una dosis luteolítica en diestro temprano.

Métodos de Uso de la Prostaglandina $F_{2\alpha}$:

Una dosis de PG

Este método es el más utilizado comercialmente y consiste en detectar celo e inseminar en forma convencional por 5 días. Al 5º día (día 0 = día de comienzo de la inseminación) se inyecta con una dosis lúteo luteolítica de PG a los animales que no fueron inseminados hasta el momento y se continúa la inseminación hasta el día 11. La introducción de machos o hembras androgenizadas del día 11 al 19 es recomendable por que mejora los ciclos y su fertilidad. Éstos podrán tener un efecto bioestimulador sobre vientres en anestro prepuberal superficial (Rodríguez Blanquet, 2002). Adicionalmente, entre los días 11 y 19, sería conveniente introducir toros al rodeo para no perder ningún celo, ya que pueden aparecer hembras en celo luego de los 6 días y/o mejorar los índices de preñez en el repaso (Bolaños y col., 1998). Los días 12 y 32 de mañana se inseminan los animales detectados en celo en los días 11 y 31 de tarde respectivamente. Con este método el trabajo de inseminación artificial es de 23 días con un período de servicio de 31,5 días para cubrir dos celos. Este método presenta la ventaja de dar una sola inyección solamente al 75% del rodeo si éste está ciclando normalmente. A su vez con la detección de celo los 5 días previos a la única inyección, se podrá tener una idea aproximada de cómo esta ciclando el rodeo. Si el rodeo está ciclando normalmente y el celo es correctamente detectado se debería detectar en celo en esos 5 días en alrededor de 25% de las hembras. Los inconvenientes que presenta este método son un mayor número de días de trabajo que otros métodos y que al tratamiento un 25% de los animales se encuentran en el diestro temprano, con lo cual aproximadamente el 8,5% de las hembras no presentaran celo en los 6 días siguientes. Esto permite obtener un valor teórico de 88% de celos los 6 días siguientes a la aplicación de la dosis lúteolítica. Rodríguez Blanquet y col., (1992) obtuvieron un valor del 86% utilizando este método en 344 vaquillonas Hereford que mostraron un 4,2% de celo diario previo a la inyección de PG. Chalkling (1995) mostró que se obtenían valores muy bajos en el porcentaje de celos en los días 5, 6 y 7 (día 0 = comienzo de la IA) en vaquillonas Hereford. El porcentaje de celos se incrementó rápidamente entre los días 8 a 10, manteniéndose relativamente constante entre los días 10 a 25 con valores superiores al 90%.

Otra forma de aplicación de una sola dosis:

Iglesias y col. (1979) obtuvieron elevados porcentajes en la presentación del estro al utilizar una sola dosis de PG. Aseguran que la utilización del tratamiento con una dosis de PG permite ahorrar la mitad del sincronizante empleado que en los tratamientos convencionales con 2 inyecciones. El porcentaje de respuesta, tras una sola inyección de PG entre los días 7 a 16 es de 60-70% (Cavestany, 2002).

Doble dosis de PG:

Bosch (1976) y Alberio (2003) sugieren que la PG administrada en un programa de 2 inyecciones con un intervalo de 11 días, puede constituirse en un eficiente método para controlar el estro en vaquillonas cuyos ciclos sexuales se distribuyen al azar. La aplicación de la segunda dosis produce la luteólisis en aquellos animales que no respondieron a la primera aplicación (por encontrarse en fases donde la PG no ejerce su acción lúteolítica), ya que los mismos al momento de la segunda dosis presentarán un CL funcional y por lo tanto responderán al efecto lúteolítico de la PG. Nelson (1978), Cooper (1974) y Bavera (2000), utilizando dos dosis de PG aplicadas con un intervalo de 10-12 días, encontraron que era posible obtener una sincronización de celo prácticamente en todos los casos, o al menos en aquellos en que había un ciclo normal. Esto explica que los animales al momento de la segunda inyección (10 a 12 días posteriores) tendrán un CL funcional, por lo que la luteólisis, luego de la segunda dosis de PG, será del 90% a 100%, siempre que el rodeo esté ciclando regularmente y con un buen plano nutricional.

Palpación del cuerpo lúteo e inyección de PG:

Este método consiste en la detección del CL por palpación rectal. Una vez detectados los animales con cuerpo lúteo se inyectan con la hormona y se inseminan convencionalmente (a celo detectado) por espacio de 6 días. Esta técnica debe ser realizada por un técnico de amplia experiencia, ya que es muy común confundir el cuerpo lúteo con otras estructuras ováricas o simplemente no detectarlo. Boyd y col. (1979), Watson y Munro (1960), Mortimer y col. (1983) y Ott y col. (1986), informaron que la exactitud de la detección del cuerpo lúteo varía entre 72% y 78%.

La mayor parte de los estudios realizados, demuestran que la técnica de palpación rectal de cuerpo lúteo para asignar los animales a un tratamiento de PG no sería la más aconsejable por los errores que se producen y por no poder diferenciar CLs "jóvenes" (días 5-9) y "viejos" (días 10-18). Adrien y col. (2007) reportaron que la palpación transrectal no es totalmente sensible en nuestras condiciones (1 de cada 5 vacas que está ciclando no es detectada). El uso de ecografía podría mejorar la detección del cuerpo lúteo, pero no diferenciaría entre esos dos tipos de CLs. Es una alternativa que permite conocer el estado reproductivo del rodeo y reducir los tratamientos con PG.

Ventajas y Desventajas en el Uso de Prostaglandinas en la Sincronización de Celos:

Una de las ventajas del uso de los PG es su costo y fácil aplicación. El método de doble aplicación de PG es una herramienta con la cual se obtienen mayor número de animales en celo y

por lo tanto un mayor número de animales inseminados, con lo cual se aumenta la eficiencia reproductiva del establecimiento. Una desventaja es que la totalidad del rodeo deberá estar ciclando, de lo contrario no habrá respuesta al tratamiento.

Los usos principales de la prostaglandina para controlar la ovulación son:

- Vaquillonas de reemplazo
- Vacas lecheras a partir del 6° día del ciclo
- Vacas con un CL
- En conjunción con otros regímenes de sincronización

Combinación de Análogos de GnRH y PG

Protocolo Ovsynch/IATF

El problema básico que tienen algunos esquemas de sincronización de celos vigentes ha sido la falta de intervención en la dinámica folicular, lo cual no permite un adecuado control sobre el intervalo entre el tratamiento de sincronización y la ovulación (Fortune y col., 1991; Kastelic y col., 1990). Pursley y col. (1995) desarrollaron un protocolo de sincronización de la ovulación con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) el cual, en contraste con la sincronización con PG solamente, la combinación de GnRH y PG tiene como ventaja sincronizar el desarrollo folicular, la secreción de E2 y la luteólisis en una manera secuencial, lo cual contribuye a una mayor precisión en la manifestación de celo.

Mediante la determinación de concentraciones crecientes de P4 se ha determinado que los tratamientos con análogos de GnRH pueden inducir el retorno de la actividad ovárica cíclica en vacas en anestro posparto. Los rangos de fertilidad luego de la inducción de celo con el uso de GnRH y PG son similares a aquellos obtenidos en animales ciclando no tratados (Twagiramungu y col., 1995).

Es posible sincronizar una onda folicular en muchas vacas administrando una inyección de GnRH (Mc Dougall, y col., 1995). Esta provocará la ovulación de vacas con un folículo dominante (FD) mayor a 10mm de diámetro, ocurriendo una onda folicular 1-2 días más tarde. Por ende, aquellas vacas que ovulen tendrán un FD activo 7 días después de la inyección de GnRH. Las vacas que estén en la emergencia o dominancia temprana de la onda folicular no ovularán y por ende, no tendrán un FD 7 días luego de la inyección de GnRH. Siete días después de ésta, se administra PG para causar la regresión de los CLs nuevos y existentes en todos los animales, logrando una regresión sincrónica debido a que la mayoría de los animales, aunque no todos, también tendrán un FD presente en este momento por el efecto variable de la GnRH. Dependiendo de la etapa de la onda folicular, puede administrarse una segunda inyección de GnRH dos días después para inducir una ovulación sincrónica. Esto permite que todos los animales puedan ser inseminados a tiempo fijo 12 a 15 horas después de la segunda inyección de GnRH. El intervalo entre las inyecciones es clave para el éxito del programa; un intervalo menor a 7 días entre la GnRH y la PG hace que la posibilidad de regresar el cuerpo lúteo recientemente formado se vea reducida. Si la segunda inyección de GnRH se administra pasadas las 48 horas luego de la inyección de PG, más vacas serán detectadas en celo antes de la GnRH, reduciéndose la sincronización entre ellas y el momento de la inseminación no será el correcto (Thatcher y col., 2001). Este protocolo produce buenos resultados en animales con dos ondas foliculares por ciclo, ya que más animales

tendrán un folículo dominante en el momento de la primera inyección de GnRH que aquellos con tres ondas, particularmente en los días 14 a 17 del ciclo. Los animales con tres ondas foliculares por ciclo, estarán en la emergencia o dominancia temprana de la tercera onda del 14 a 17, estos patrones son valores promedio ya que existe una gran variabilidad individual, especialmente en la segunda onda que puede comenzar en los días 6 a 12 en distintos animales (Bo y col., 1998).

Sepúlveda y col., (2003), en un estudio que realizaron para determinar la eficiencia de un tratamiento de sincronización de celo e IATF utilizando GnRH y PG en vacas lecheras se comparó un grupo control inseminado a celo visto con un grupo al cual se le realizó el día 0 y al día 9 la aplicación de GnRH, el día 7 la aplicación de PG y el día 10 la IATF. La tasa de preñez al primer servicio fue de 50% para el grupo control y 47,5% para el grupo con IATF, no existiendo diferencias entre ambos grupos, sin embargo el primer servicio se realizó en el grupo IATF 31 días antes que el grupo control logrando esto disminuir el intervalo entre parto y concepción ($100,5 \pm 45$) para el grupo IATF y ($145,5 \pm 65$) para el grupo control. No se encontraron diferencias en el número de servicios por concepción entre ambos grupos. Concluyeron que se lograron acortar los días abiertos sin afectar la tasa de preñez.

Protocolo Presynch

La presincronización hormonal de un grupo de vacas en fase aleatoria del ciclo estral para iniciar Ovsynch entre los días 5 y 12 del ciclo, puede lograrse usando dos inyecciones de PG administradas con 14 días de intervalo antes de la primera inyección de GnRH. La presincronización ha demostrado mejorar la tasa de concepción en vacas lecheras lactantes comparado con Ovsynch (Moreira y col., 2000). Es importante al momento de iniciar la presincronización verificar que las vacas se encuentren ciclando, ya que sino el tratamiento no será efectivo (Thatcher y col., 2001). Una única dosis de GnRH 7 días previos al inicio del Ovsynch, es igualmente efectivo a 2 dosis de PG dadas con intervalo de 14 días (Dejarnette y Marshal., 2003). La presincronización con GnRH también tiene la ventaja de ser potencialmente efectiva en vacas cíclicas y en anestro (Thompson y col., 1999; Stevenson y col., 2000).

Protocolo Heatsynch

Uno de los usos del E2 como parte de los sistemas de sincronización de celo es su capacidad para inducir el pico de LH mediante la estimulación de GnRH a nivel hipotalámico (Thatcher y col., 2001). El método consiste en una inyección de GnRH seguida a los 7 días por una inyección de PG y una inyección de E2 24 horas después de la PG. Los tratamientos a base de E2 durante el diestro tardío y el proestro (bajos niveles de P4) inducirán el pico preovulatorio de LH y FSH (Kinder y col., 1991; Stumpf y col., 1991). El pico preovulatorio inducido por la inyección de E2 en el proestro dura aproximadamente 10 horas (Short y col., 1979), lo que es similar al pico espontáneo. De hecho, este pico de LH es de una mayor duración a aquel inducido por la GnRH. El estro se presenta a las 29.0 ± 1.8 horas después de la inyección de E2. Resultados utilizando vaquillonas de razas lecheras indicaron que el E2 puede reemplazar la segunda inyección de GnRH en un protocolo de IATF para inducir una ovulación de manera satisfactoria cuando es administrado 24 horas después de la inyección de PG (Lopes y col., 2000). La sustitución de la segunda dosis de GnRH por E2 disminuye los costos del tratamiento pero la mayor variabilidad en la respuesta implica que un sistema de inseminación luego de la detección de celos sea preferible a la IATF (Cavestany, 2002), ya que fue determinado que las vaquillonas de razas

lecheras y las vacas secas ovularon 62 y 60 horas luego de la inyección de E2 respectivamente; la IA debe ser realizada 48 horas después de la inyección del E2. Otra de las ventajas de usar el E2 es que aumenta el tono uterino, facilitando la inseminación y la manifestaciones del estro son más marcadas (Thatcher y col., 2001).

Protocolo Cosynch

Este protocolo de sincronización de la ovulación es igual al Ovsynch, pero la diferencia está en que la IATF se realiza el mismo día que se administra la segunda inyección de GnRH, con lo que se disminuye el movimiento del ganado a tres oportunidades (Geary y Whittier, 1999).

Protocolo SelectSynch

Se ha propuesto un esquema de sincronización que combina GnRH y PG (Twagimamungu y col., 1995; Pursley y col., 1995). La administración de GnRH, produce a las 2-4 horas un alza de LH y FSH que, dependiendo del número de receptores que presenten los folículos, puede inducir la ovulación o la atresia de folículos medianos y grandes (Twagimamungu y col., 1995). Adicionalmente, el alza de FSH subsiguiente a la ovulación o regresión de folículos dominantes, producirá la selección de un nuevo grupo de folículos de entre los cuales surgirá el que finalmente ovulará (Wolfenson y col., 1994; Pursley y col., 1995). Así, la administración de GnRH o análogos antecediendo la de PG o análogos produciría no solo una inhibición en la presentación de nuevos calores previo a la inyección de PG (Thatcher y col., 1989; Twagiramungu y col., 1992), sino una mayor homogenización del grupo de folículos que participará en el proceso ovulatorio subsiguiente a la administración de PG o análogos y, por lo mismo, una mayor sincronización en la presentación de estros. Es usado para sincronizar el estro más que la ovulación, por lo que igual requiere de la detección del mismo. Consiste en una primera inyección de GnRH, que causa la ovulación y la ocurrencia de una nueva onda folicular, seguida 7 días después por una inyección de PG para regresar el CL formado. El folículo podrá ovular naturalmente sin que sea necesaria la aplicación de una segunda dosis de GnRH. Posteriormente se realiza detección de celo e IA luego de las 12 horas de detectado el mismo (Thatcher y col., 2001). La mayoría de las vacas ciclando entran en celo luego de las 36 a 71 horas después de la inyección de PG. Si no se realiza un programa de presincronización, algunas vacas pueden entrar en estro antes de la inyección de PG (Thatcher y col., 2001).

El uso de la progesterona/progestageno para controlar el estro

Históricamente progesterona/progestagenos fueron usados durante el largo de un ciclo (18 a 21 días) para controlar el estro. Su administración resultaba en un control preciso del comienzo del celo pero con tasas de concepción significativamente reducidas, debido a las bajas tasas de fertilización y a la mortalidad embrionaria. La baja fertilidad era debida a la formación de un folículo dominante persistente por el hecho de que los métodos empleados para administrar progesterona/progestageno no eran capaces de liberar el equivalente de las concentraciones de progesterona de la fase luteal que se requieren para suprimir la frecuencia de los pulsos de LH, llevándolo a una pulsación cada 3-4 horas (Mihm y col., 1994; Austin y col., 1999).

La P4 natural y varios progestágenos sintéticos han sido utilizados para extender la fase luteal del ciclo estral y poder sincronizar el celo en bovinos (Dick, 1998). Se da el nombre genérico de progestágenos a un grupo de compuestos que tienen acción similar a la P4; dentro de estos compuestos se encuentran los progestágenos de administración oral como el Acetato de Melengestrol (MGA), los implantes subcutáneos de Norgestomet y los dispositivos intravaginales con P4 (Bo y col., 1998) o progestágenos (Medroxiprogesterona, MAP) (Cavestany, 2000).

Los progestágenos actúan simulando la acción de un CL natural, bloqueando la liberación de GnRH por el hipotálamo y el pico preovulatorio de LH durante el período de permanencia del implante. Una de las principales ventajas en el uso de progestágenos para sincronizar el estro, con respecto a la PG es que a sido demostrado que los tratamientos cortos en base a progestágenos inducirán el comienzo de la actividad cíclica en hembras en anestro, ya sea en vacas posparto (Smith y col., 1979; Beal y Good, 1986; Anderson y Day, 1998); o en vaquillonas prepubescentes (Anderson y col., 1996; Hall y col., 1997). Esto proporciona la oportunidad de inseminar estos animales durante el período de sincronización y reducir la duración del anestro posparto en vacas y la edad a la pubertad en vaquillonas. Otra característica de los progestágenos es que la sincronización que logran es más compacta que la obtenida con PG, por lo que facilitan la implementación de la IATF (Stevenson y col, 2000).

La P4 y una amplia gama de análogos sintéticos se ha probado extensamente, inyectándolos, administrándolos en la alimentación, implantándolos o insertándolos intravaginalmente, solos o en combinación con E2, gonadotropinas o PG (Peters y Ball, 1995). Estos autores señalan que la duración del tratamiento debería ser equivalente al largo de la fase luteal natural, de 16 días. Sin embargo este método falla por encontrar en algunos individuos un cuerpo lúteo no reactivo. Con un tiempo de tratamiento más largo (16 a 21 días), se logra la sincronización de los celos pero con bajas tasas de preñez. Al acortar el tiempo de tratamiento entre 7 a 12 días se logran mejores tasas de preñez, pero nos encontramos nuevamente con la posibilidad de encontrar CL no reactivos. Por estos motivos se ha hecho necesario incorporar agentes lúteolíticos a los esquemas de sincronización de celo mediante progestágenos.

Bo y col. (2006) observaron en diversos experimentos que altas concentraciones de P4 tienen un efecto supresivo sobre la secreción pulsátil de LH, mientras que la FSH no es afectada. A su vez, la secreción pulsátil de LH tiene un efecto crítico en el desarrollo del folículo dominante. Se vio también que pulsos de alta frecuencia estimularían el crecimiento del folículo dominante, mientras que pulsos de baja frecuencia afectarían su desarrollo e inducirían su regresión prematura. Por lo tanto se concluyó lo mencionado anteriormente. Los progestágenos no llegaban a "imitar" la acción de los niveles luteales de P4 y por lo tanto la secreción pulsátil de LH se encontraba aumentada. Esto hace que el folículo dominante siguiera creciendo y produciendo grandes cantidades de estrógenos y así se transformara en los que se denominó como folículo dominante persistente, esto provoca un ovocito envejecido al momento de la ovulación y por lo tanto baja en la fertilidad.

Experimentando con el objetivo de mostrar cuántos implantes subcutáneos de Norgestomet eran necesarios para inducir una frecuencia de pulsos de LH similares a los de la fase luteal, se administraron 2 dosis de PG, una el día 7 y otra el día 8 para lizar el CL y se colocaron 1, 2,4 y 8 implantes de Norgestomet en el día 7. El Cuadro I resume los resultados obtenidos.

Cuadro I. Frecuencia de los pulsos de LH y tamaño del folículo dominante en vacas implantadas con Norgestomet por 9 días y en ausencia de un CL funcional. Datos obtenidos en el día 9 de la colocación del implante de Norgetomet (adaptado de Sánchez y col., 1995)

Tratamiento	n	Pulsos promedio de LH/24hs	Folículo dominante (mm)
1 implante	5	19,6 ± 0,6	18,6 ± 1,2
2 implantes	5	14,0 ± 1,7	17,0 ± 1,0
4 implantes	5	8,0 ± 4,6	15,2 ± 0,6
8 implantes	5	5,2 ± 2,7	16,7 ± 0,8
Control	5	14,4 ± 1,9	14,8 ± 0,7

Se plantean dos hipótesis respecto a la causa de la baja fertilidad:

- 1) el ovocito del folículo persistente envejece y por lo tanto tiene bajas probabilidades de ser fertilizado, o en caso de serlo, tiene baja viabilidad embrionaria.
- 2) al producirse altas cantidades de estrógenos por el folículo persistente, estos altos niveles alteran el medio oviductal y uterino y este medio hostil produce la muerte del embrión.

Por lo estudiado hasta ahora, la hipótesis 1 parece ser la más probable.

Datos recientes de (Mihm y col., 1994) (Revah y Butler., 1996) han sugerido que se produce una activación temprana del ovocito y como la LH causa la continuación de la meiosis y la liberación del primer cuerpo polar, estos estudios sugieren que la alta frecuencia de los pulsos de LH probablemente induce una activación prematura del ovocito. Por lo tanto, los niveles bajos de progestágenos o P4 inducidos por los productos comerciales producen una alta frecuencia de secreción de pulsos de LH como para activar al ovocito y que continúe con la meiosis, pero no lo suficientemente altos como para causar la ovulación.

La siguiente pregunta es cuanto tiempo es demasiado como para afectar el ovocito del folículo dominante. Los resultados de un trabajo realizado en Irlanda por Mihm y col. (1994) utilizaron vaquillonas que fueron examinadas por ultrasonografía para detectar el inicio de la segunda onda folicular y el día en que el folículo dominante de la segunda onda se diferenciaba de tamaño de los folículos subordinados son reveladores. Este último acontecimiento se tomó como día de la dominancia folicular. En este momento los animales recibieron una dosis lúteolítica de PG y fueron separados en 3 grupos. Uno de ellos recibió solamente la inyección de PG, mientras que los otros 2 grupos recibieron además de la PG un implante con progestágeno por 6 días o por 10 días. Todas las vaquillonas fueron inseminadas con semen del mismo toro 12 hs después de detectado el celo. Se evaluó la preñez por ultrasonografía a los 30-35 días post IA. Las vaquillonas que recibieron PG más el implante de progestágeno, no tuvieron recambio folicular, es decir, que el folículo dominante se mantuvo y siguió creciendo hasta que fue retirado el implante momento en que ovuló (Cuadros II y III).

Cuadro II. Características del folículo ovulatorio, celo y porcentaje de preñez en vaquillonas tratadas con PG y/o implantes de progestágenos (Adaptado de Mihm y col., 1994)

Característica	Solo PG	PG + P4 6 días	PG + P4 10 días
Vaq en celo dentro de las 72 hs	15/17	19/19	15/16
Diámetro del FD en el celo (mm)	12,7 ± 0,4	17,2 ± 0,5	20,1 ± 0,7
Duración de la dominancia (días)	4,1 ± 0,2	8,6 ± 0,2	12,1 ± 0,2
Preñez	14/16	11/19	0/13

Cuadro III. Relación entre la duración de la dominancia y el porcentaje de preñez (Adaptado de Mihm y col., 1994)

Tratamiento	PG	PG + Progestágeno	
Días	1 a 4 días	7 a 10 días	11 a 13 días
N	15/17	12/19	0/16
Porcentaje	80%	63%	0%

Estos resultados confirman que la causa de la baja fertilidad en los tratamientos largos (más de 14 días) con progestágenos o en tratamientos cortos iniciados en la fase final del ciclo estral (cuando ya el CL esta regresando) resultan en una baja fertilidad, debido principalmente a la ovulación de un ovocito envejecido, siendo 4 días de dominancia el limite en el cual el ovocito ya comenzara a estar afectado. Estos efectos se pueden producir en todos los casos en que no hay un CL funcional en el momento de la colocación del progestágeno. Esto incluye el tratamiento de vacas en anestro con progestágenos solos, los tratamientos largos de más de 14 días o los tratamientos cortos pero comenzados en la fase tardía del ciclo con el CL regresando.

Combinación de progestágenos con diferentes hormonas para sincronizar el desarrollo folicular

Estos tratamientos pueden ser usados en combinación con prostaglandinas y/o estrógenos, principalmente cuando se realiza en un gran número de animales que no se sabe en que momento del ciclo se encuentran, para inducir luteólisis al principio del tratamiento o para inducir el celo tras su aplicación una vez quitado el implante (Peters, 1995).

La mayoría de los tratamientos estudiados han sido orientados a la eliminación del efecto del folículo dominante (por métodos físicos u hormonales) y de esa manera permitir el comienzo de una nueva onda folicular en un determinado período de tiempo conocido. La base de este procedimiento deriva de estudios en los cuales la eliminación del FD fueron seguidos de un pico de FSH y el comienzo de una nueva onda folicular. Dentro de los tratamientos hormonales pueden incluirse la utilización de LH (Macmillan y col; 1991) o análogos de la GnRH (Macmillan y col; 1991; Tatcher y col; 1993), que inducirán la ovulación o la luteinización del FD, como se menciona anteriormente, o la supresión de los folículos antrales presentes mediante la utilización de estrógenos y progestágenos (Bo y col; 1995).

Combinación con Estradiol

Según Diskin (2002), el uso de estrógenos (E2) en conjunto con dispositivos de progestágenos, es para acortar la vida útil del CL y terminar una onda folicular existente e inducir la emergencia de una nueva onda folicular. La utilización de P4 y E2 es para suprimir el desarrollo del folículo dominante y de esta manera sincronizar el desarrollo de una nueva onda folicular fue investigada en varios experimentos (Bo y col., 1995; Bo y col., 1996). Las conclusiones más importantes fueron que el tratamiento con progestágenos y estradiol-17 beta, administrados en cualquier momento del ciclo estral inducen el crecimiento sincrónico de una nueva onda folicular, aproximadamente 4 días más tarde (Bo y col., 1995). El tratamiento más utilizado consiste en administrar 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) por vía intramuscular junto con la colocación del dispositivo intravaginal el día 0 del tratamiento, el día 7 se extrae el dispositivo y se aplica PG i/m y el día 8 se administra 1 mg de BE i/m. Se realiza la IATF a las 52 hs de removido el dispositivo (Cutaia y col., 2001). La administración de BE originalmente se realizaba a través de una cápsula, la que se colocaba en la vagina junto con el dispositivo de progestágenos. Sin embargo se demostró que la inyección intramuscular era más efectiva para sincronizar el desarrollo folicular (Bo y col., 1996). La administración de BE del día 8 es fundamental para sincronizar la ovulación y obtener buenos índices de preñez a la IATF (Colazo y col., 1999; Cutaia y col., 2001). Según Cutaia y col. (2007), en 13510 inseminaciones realizadas entre el año 2000 y 2004 resultaron en una media de 52,7% de preñez (con un rango de 27,8% al 75%). Los factores más importantes que afectaron la preñez fueron la condición corporal (CC) del rodeo inseminado y si las vacas estaban ciclando o en anestro.

Diferentes modificaciones a este tratamiento han sido propuestas con el objetivo de incrementar el porcentaje de preñez (Balla y col., 2006) en un experimento realizado en vacas Holando en el que se utilizó un implante de P4 durante 7 días, se comparó el uso de BE al inicio y al final del protocolo (Grupo 1) con la incorporación de gonadotropina corionica equina al final del tratamiento (Grupo 2) y otro con la sustitución del BE por GnRH al inicio y al final del protocolo (Grupo 3). Luego se realizo la IATF a las 56 horas de retirado el implante. El porcentaje de preñez en el Grupo 1 fue de 31,3%, 35,4% para el Grupo 2 y 42,9% para el Grupo 3. Si bien no se lograron diferencias significativas en el porcentaje de preñez, los resultados son auspiciosos para el uso del implante asociado a la GnRH (Menchaca y col., 2006).

Combinación Con PG

Bo y col. (1995), señalan que en los programas de sincronización de celo, el intervalo desde el tratamiento con PG a la expresión de signos de celo está determinado por el estado de desarrollo del folículo dominante al momento de iniciado el tratamiento. Es así como hembras con un folículo dominante viable presentan celo 48 a 60 horas después de la inyección de PG, sin embargo, el celo se presenta 5 a 7 días después en hembras con un folículo dominante en crecimiento temprano luego de la atresia. Este sería el principio por el cual se agrega E2 a los programas de sincronización, ya que esta hormona induce la luteólisis en un mecanismo que envuelve la supresión de FSH. Cuando el E2 es metabolizado, la FSH aparece en la circulación, y una nueva onda folicular emerge.

Combinación Con GnRH

Alternativamente, los progestagenos pueden ser usados conjuntamente en tratamientos con GnRH y PG, para asegurar una fuente de P4, prevenir ovulaciones prematuras y activar la respuesta cíclica en vacas en anestro (Thatcher y col., 2001). Ha sido desarrollado un protocolo con el objetivo de acortar el período de administración de P4 sin comprometer la fertilidad y mejorar la sincronización del estro al sincronizar el desarrollo folicular. En esencia la suplementación con P4 por 7 días y la PG al día 7 sincronizan el desarrollo folicular. La inyección de GnRH al día 11 induce la ovulación, el desarrollo del CL y la emergencia de una nueva onda folicular, entonces la PG administrada al día 18 inducirá la regresión del CL coincidentemente con el desarrollo del folículo dominante sincronizado (Kojima y col., 2000).

Con el uso de la P4 con el protocolo Ovsynch, cuando las vacas recibieron la primera GnRH entre los días 5 al 12 del ciclo estral las tasas de preñez tendían a ser mayores que en otros estadios del ciclo (Vasconcelos y col., 1999). Siguiendo con las mejoras del protocolo Ovsynch, se estudió la utilización conjunta de GnRH con un dispositivo intravaginal de liberación lenta de P4, protocolo denominando "CIDR-B-Synch". La exposición a la P4 después de la aplicación de la primera inyección de GnRH, actúa para evitar un ciclo corto después de la segunda inyección de GnRH en vacas en anestro, resultando en índices de preñez superiores a los obtenidos con animales que estaban ciclando (Stevenson y col., 2006)

Según Bentancur y Grasso (2005), en un experimento que se realizó en vaquillonas Holando se comparó el uso del protocolo Ovsynch (GnRH/ PG/GnRH) más un dispositivo vaginal con P4 por 7 días (G1), con otro protocolo Ovsynch, el cual el dispositivo vaginal se retiró el día 9 (G2), luego de la remoción del implante se realizó inseminación a celo visto al Grupo 1 entre el día 7-9. En los dos grupos el día 10 se realizó la IATF. El porcentaje de concepción al primer servicio en el Grupo 1 fue de 44,2% y en el Grupo 2 de 38,1%. Esto indica que la permanencia de dos días más del implante vaginal con P4 al inicio del tratamiento evitó la ocurrencia de celos prematuros mejorando así la sincronización de la ovulación sin afectar la fertilidad del protocolo.

OBJETIVOS

Ensayo 1:

1. Evaluar la eficiencia de la sincronización de celos en vaquillonas Holando por medio de una combinación de GnRH-PG-GnRH (Ovsynch modificado) con la adición de un dispositivo intravaginal conteniendo progesterona por 7 días, y compararla con la adición de un dispositivo intravaginal conteniendo progesterona por 9 días.
2. Evaluar la sincronización de la población y la fertilidad de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) obtenida con ambos métodos.

Ensayo 2:

1. Evaluar la eficiencia de la sincronización de celos en vacas multíparas con más de 50 días posparto (DPP), por medio de la utilización de una combinación de GnRH + PG (SelectSynch) y compararlo con otro método utilizando una sola dosis de PG.
2. Evaluar la presencia de cuerpo lúteo mediante la medición de progesterona en plasma antes y después de la inyección de PG en ambos grupos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos fueron realizados en la Estación Experimental “La Estanzuela” del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), ubicado en el departamento de Colonia, Uruguay, durante los meses de mayo y junio del año 2005.

Ensayo 1:

Animales:

Se utilizaron 81 vaquillonas de la raza Holando de 38 meses de edad promedio, 406 kg de peso vivo promedio y 3,7 de condición corporal (escala de 1 al 5 de Edmonson y col., 1989). Se dividieron al azar en dos grupos, uno de 39 y otro de 42.

Tratamientos:

Sincronización de celos:

Grupo 7: Ovsynch + P4 (n = 39): Ovsynch modificado con la adición intravaginal de una esponja de poliuretano impregnada con 250 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), y 1 ml de tetraciclina, que consistió en:

- Día 0: Inyección intramuscular de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH (Gonadorelina, Fertagyl, Intervet, Uruguay) y colocación de la esponja con MAP.
- Día 7: Inyección intramuscular de 150 mg de un análogo sintético de PG (d-clorprostenol, Enzaprost, Intervet, Uruguay) y retiro del implante intravaginal con MAP. Se realizó detección de celo e inseminación a celo visto el día 8 y día 9.
- Día 9: Inyección intramuscular de 10 µg de un análogo sintético de GnRH
- Día 10: (15 horas después de la inyección de GnRH) IA sin detección de celo (IATF).

Grupo 9: Ovsynch modificado + P4 (n = 42): Ovsynch modificado con la adición de una esponja vaginal con 250 mg acetato de medroxiprogesterona (MAP), que consistió en:

- Día 0: Inyección intramuscular de 10 µg de un análogo sintético de GnRH y colocación del implante vaginal con MAP.
- Día 7: Inyección intramuscular de 150 mg de un análogo sintético de PG, sin el retiro del implante vaginal.
- Día 9: Inyección intramuscular de 10 µg de un análogo sintético de GnRH y retiro del implante vaginal con MAP.
- Día 10 (15 horas después de la inyección de Fertagyl): IA sin detección de celo (IATF).

Se realizó detección de celo en el grupo 7 entre los días 7 y 9 (desde el retiro del implante a la inseminación a tiempo fijo). Los animales que manifestaron celo fueron inseminados 12 horas después de detectado el mismo.

Diagnostico de gestación

La técnica utilizada para el diagnostico de preñez fue la ultrasonografía, en el día 42 del ensayo (día 32 después de la inseminación), realizada con un ecógrafo ALOKA 500, de transductor lineal rectal de modo B, de tiempo real con una frecuencia de 5 MHz.

Ensayo 2:

Animales:

Se utilizaron 64 vacas de raza Holando reproductivamente sanas, de un promedio de 2.5 lactancias, se seleccionaron tomando como criterio los días posparto, utilizando animales que se encontraban en el rango de 50 a 110 días de paridas. Se separaron en dos lotes de 32 vacas cada uno.

Tratamientos:

Sincronización de celos en vacas:

Grupo 1: GnRH + PG (n=32)

Día -7: Inyección intramuscular de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH.

Día 0: Sangrado del lote para la medición de progesterona en sangre, previo a la inyección intramuscular de 150 mg de un análogo sintético de la prostaglandina (PG).

Día 1: Sangrado del lote, posterior a la inyección de PG y detección de celos e inseminación por los cinco días siguientes.

Grupo 2: PG (n=32)

Día 0: Sangrado del lote previo a la inyección intramuscular de 150 mg de un análogo sintético de la prostaglandina (PG).

Día 1: Sangrado del lote posterior a la inyección de PG y luego detección de celos e inseminación artificial por los cinco días siguientes.

El sangrado para ambos lotes se realizó por punción de la vena coxígea con tubos heparinizados, se centrifugó y el plasma obtenido fue almacenado a -20°C, el análisis realizado en el laboratorio fue la técnica de Radioinmunoanálisis (RIA).

Detección de celos e inseminación artificial

Para la detección de celo se empleó el método de la observación, tomando como el momento del estro la inmovilidad de los animales que son montados. Las observaciones se realizaron dos veces por día, en un lapso de media hora cada uno, en la mañana y en la tarde con un intervalo

aproximado de 10 horas, registrándose los animales que se dejaban montar. Los animales en celo se apartaban y se inseminaban 12 horas más tarde. Se utilizó semen congelado de toros de raza Holando.

Diagnostico de gestación

La técnica utilizada para el diagnostico de preñez fue la ultrasonografía, en el día 42 del ensayo, realizada con un ecógrafo ALOKA 500, de transductor lineal rectal de modo B, de tiempo real con una frecuencia de 5 MHz.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento Proc Freq (SAS, Statistical Analysis System, V 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2003) y las frecuencias comparadas por el test de chi-cuadrado.

RESULTADOS

Ensayo 1: Resultados obtenidos en la sincronización de celos e IA en vaquillonas.

En la figura 3 se observa que es en el grupo 7 (el cual se sacó el implante dos días antes) un 41,0% de las vaquillonas se inseminaron a celo visto (día 8) y el 58,9% por IATF (día 9), esto nos indica la importancia de la detección de celo al día del retiro de la esponja, debido a que alto el porcentaje de vacas que manifiestan celo y que se deben inseminar previo al IATF.

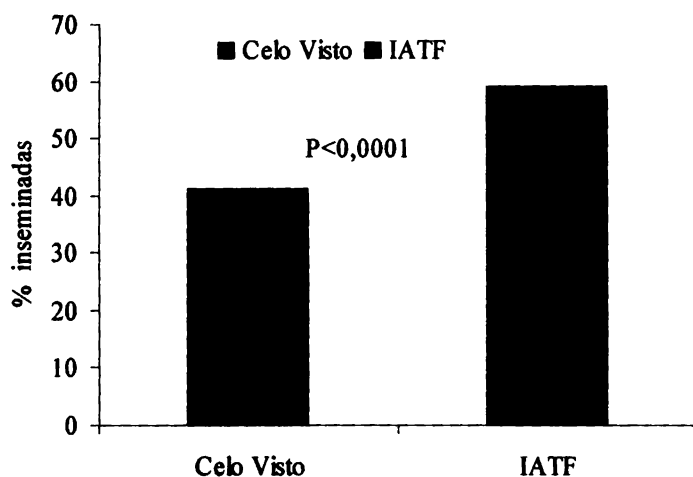


Figura 3. Porcentaje de vaquillonas inseminadas a celo visto y con IATF en el grupo 7

En la figura 4 se observa los porcentajes de concepción para el grupo 7, tanto a celo visto como con IATF, el porcentaje de concepción fue de 12,8% para las vaquillonas inseminadas a celo visto (antes de la segunda inyección de GnRH) y de 20,5% para las vacas inseminadas por IATF ($P>0.1$). Estos resultados nos indican que existieron problemas en la inseminación, dado que el bajo porcentaje de concepción se dio en ambos grupos.

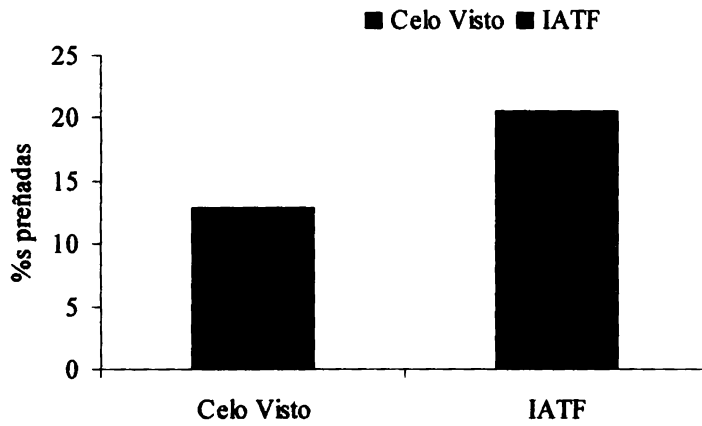


Figura 4. Porcentaje de concepción al primer servicio del grupo 7 ($P>0.1$)

En la figura 5 se observa los porcentajes de concepción, para el grupo 7 fue de 33,3% mientras que para el grupo 9 fue de 11,9%, estos resultados nos muestran que la concepción en el grupo 7, en el cual hubo inseminación a celo visto fue mejor que para el grupo 9.

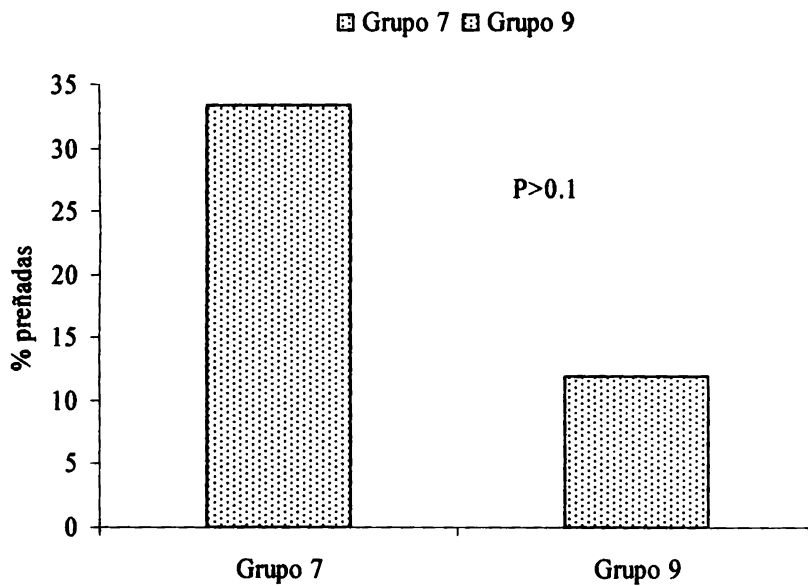


Figura 5. Comparación de % de concepción al primer servicio entre Grupo 7 y Grupo 9

En la figura 6 se muestran los resultados de la inseminación por IATF, el grupo 7 tuvo un 20,5% de concepción al primer servicio en cambio el grupo 9 tuvo un 11,9%, la diferencia entre ambos grupos si bien no es significativa estadísticamente, hay una tendencia a favor del retiro de la esponja en el día 7.

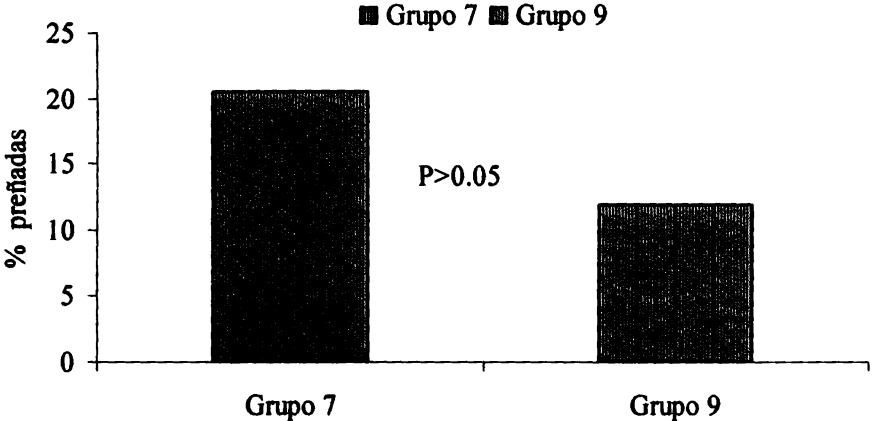


Figura 6. Comparación de % de concepción al primer servicio entre Grupo 7 y Grupo 9 por IATF.

La concepción al primer servicio en ambos grupos fue baja, en la figura 7 observamos que el porcentaje de preñez final fue de 66,6% para el grupo 7 y de 54,7%, para el grupo 9, estos resultados nos muestran que hubo un aumento en los porcentajes de preñez en las sucesivas inseminaciones para ambos grupos (estos valores no difieren estadísticamente).

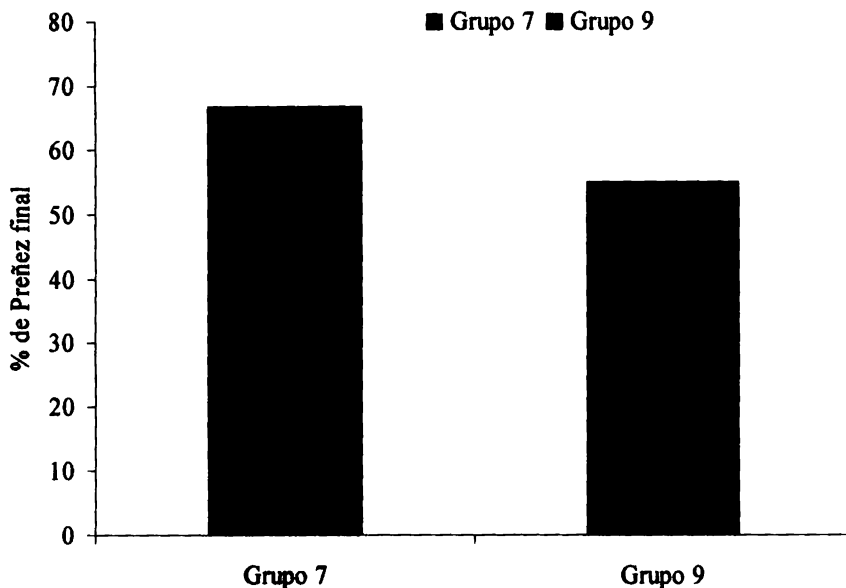


Figura 7. Comparación entre ambos grupos del Porcentaje de preñez final

Ensayo 2

En ambos grupos se realizó la extracción de sangre, para medir los niveles de progesterona, el día 0 del tratamiento, en el cual se obtuvo $3,3 \pm 0,4$ y $1,6 \pm 0,4$ para el tratamiento GnRH+ PG y PG respectivamente. Se realizó otra extracción de sangre el día 1 del ensayo y los niveles de progesterona fueron $0,5 \pm 0,1$ para ambos tratamientos.

Cuadro IV. Determinación de P4 en sangre al día 0 y al día +1 (momento de la aplicación de la PG)

Tratamiento	n	Día 0	Día +1
GnRH+ PG	32	$3,3^a \pm 0,4$	$0,5^a \pm 0,1$
PG	32	$1,6^b \pm 0,4$	$0,5^a \pm 0,1$

Valores de P4 el día 0 difieren estadísticamente ($P < 0,01$)

Con los niveles de progesterona obtenidos el día 0 del tratamiento, se observó que para el tratamiento 1 un 25,8% tenían niveles por debajo de 1ng/ml, un 29% tenían entre 1-3ng/ml y un 45% por encima de 3ng/ml. A su vez se obtuvo para el tratamiento 2, un 60,7%, un 10,7% y un 28,5% para los niveles mencionados respectivamente.

Cuadro V. Niveles de Progesterona en sangre en el día 0 de tratamiento

Progesterona	Trat 1 (GnRH + PG)	Trat 2 (PG)
Menor a 1ng/mL	8(25,8%)	17(60,7%)
1-3ng/mL	9(29%)	3(10,7%)
Mayor a 3ng/mL	14(45%)	8(28,5%)
N	31	28

Estos resultados difieren estadísticamente entre si, $P < 0,05$

En la figura 8 observamos los niveles de Progesterona en sangre para ambos grupos al momento de aplicar la Prostaglandina, para el tratamiento 2 el 60,7% de los animales tenían niveles plasmáticos de progesterona por debajo de 1ng/mL, mientras que para el tratamiento 1 el 45% presentaban niveles superiores a 3 ng/mL, lo cual es beneficioso para la administración de prostaglandina en el día 0 del tratamiento.

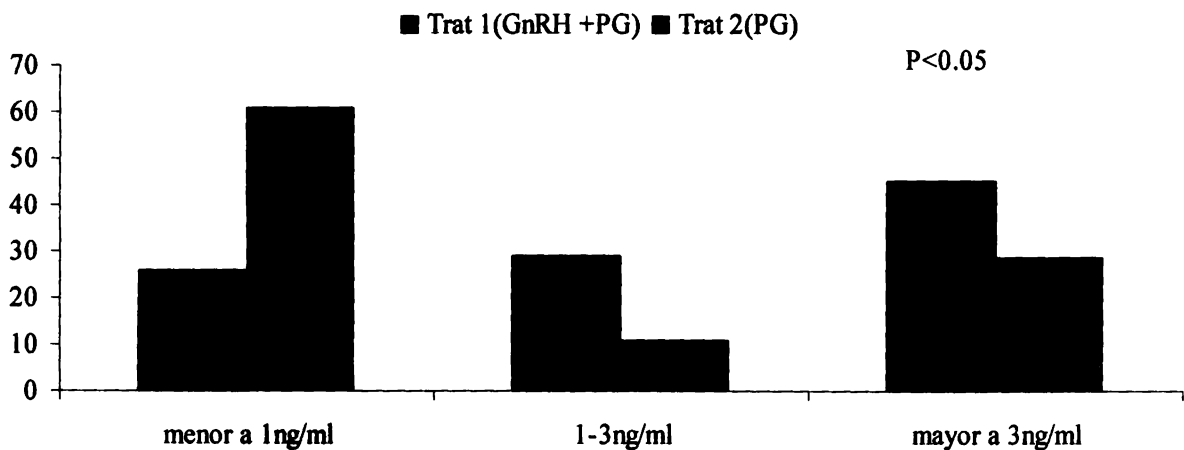


Figura 8. Niveles de progesterona en sangre el día 0 del tratamiento

Para el Tratamiento 1 la distribución de los celos se dio, un 10% el día 2, un 65% el día 3 y un 25% el día 4. Mientras que para el Tratamiento 2 la distribución de los celos fue a partir del día 1 con un 14,3%, el día 2 un 21,4%, el día 3 un 42,9%, el día 5 un 7,1% y el día 6 un 14,3%. Aca destacamos la concentración de celos para el tratamiento 1 en los tres días siguientes posteriores a la admistracion de prostaglandina, siendo esto un beneficio para la realización del trabajo.

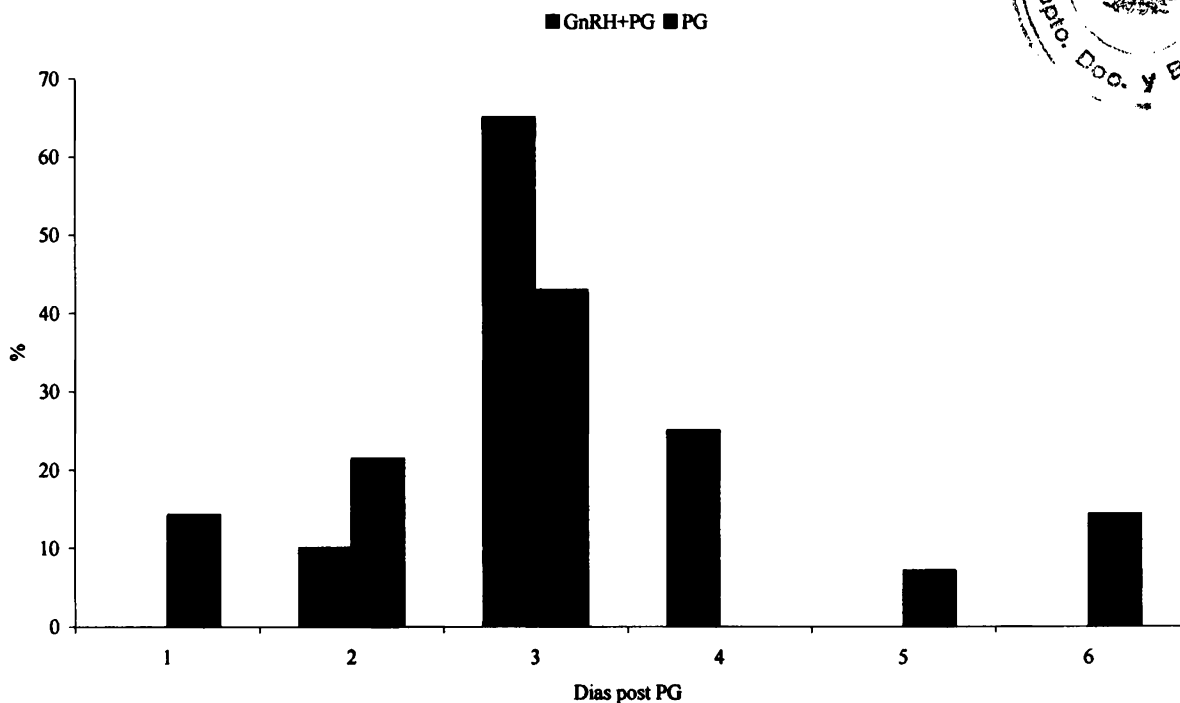


Figura 9. Ocurrencia diaria de celos a partir de la inyección de Prostaglandina

Porcentaje de vacas Inseminadas al primer servicio

Para el tratamiento 1 el porcentaje de inseminación al primer servicio fue de 62,5% mientras que para el tratamiento 2 fue de 43,7%, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, $P=0,13$.

Porcentaje de concepción al primer servicio

Para el tratamiento 1 el porcentaje de concepción al primer servicio fue de 45% mientras que para el tratamiento 2 fue de 36%, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, P mayor a 0,1

Porcentaje de Preñez al primer servicio

Para el tratamiento 1 el porcentaje de preñez al primer servicio fue de 28% mientras que para el tratamiento 2 fue de 15,6%, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos ($P > 0,1$).

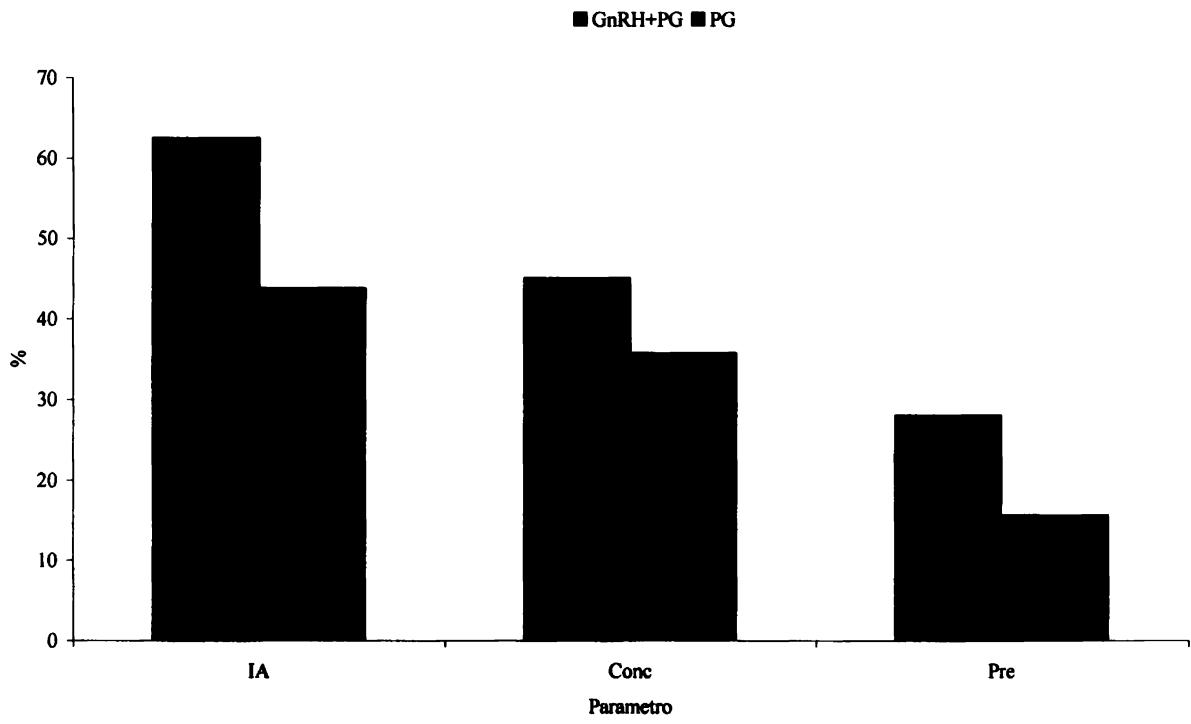


Figura 10: Porcentaje de celos, concepción y preñez al primer servicio.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Ensayo 1: VAQUILLONAS

El uso de implantes es cuestionado por la contaminación ambiental al retiro del mismo y las infecciones que podrían repercutir negativamente en el tracto reproductivo de la hembra. Otras fuentes de progestágenos son de administración oral como el Acetato de Melengestrol (MGA) y los implantes subcutáneos de Norgestomet. El uso de progestágenos tiene como ventaja que estimula el inicio o reinicio de la actividad cíclica, siendo esto favorable para su uso tanto en vacas posparto como en vaquillonas que se encuentren en anestro. Por otro lado el uso de progestágenos o progesterona produce una concentración de celo que permite la realización de programas con IATF.

En nuestro experimento a uno de los grupos se le retiró el implante el día 7 del protocolo y se inseminaron a celo visto antes de la IATF un 41,0% de las vaquillonas, estos resultados coinciden con los de Fernández y Salazar (2007) y son más bajos que resultados de Carmiol Arguello (1996) donde el 75% de las vaquillonas Cebú a las que se las sincronizó con Norgestomet presentaron celo entre las 30 y 49 horas del retiro de la fuente de progesterona. Estos resultados nos expresan un problema en este grupo, ya que lo deseado en un programa de IATF es inseminar el 100% de las vaquillonas en un solo día de trabajo, para evitar esto es que al grupo 9 se le retiró el implante 2 días más tarde, lográndose inseminar por IATF el 100% del grupo.

El porcentaje de concepción para las vaquillonas inseminadas a celo visto fue muy bajo en relación a las que se habían inseminado en este grupo, teniendo en cuenta que el estado de las vaquillonas era bueno (3,7 escala del 1 – 5 de Edmonson), que se realizó la detección de celo dos veces al día, por un tiempo de observación de una hora, y que el porcentaje de celo diario era correcto (entre un 3% a 4%). Esto nos permite pensar que parte de la falla se debe a errores en la inseminación, ya sea por no haberla realizado en el horario sugerido, la temperatura de descongelado y el tiempo del mismo no sean óptimas, e incorrecta manipulación del semen por parte del inseminador. Para las vaquillonas que se inseminaron a tiempo fijo el porcentaje de concepción fue un poco mejor resultando para el grupo 7 en un 33,3%, estos resultados son similares a los de Cavestany y col. (2004) en el que se utilizó un Ovsynch + MAP en vacas de leche y el resultado fue de un 28% de preñez diagnosticada a los 45 días.

Para el grupo 9 al cual se retiró el implante y se inseminaron a tiempo fijo en el día 10 a la totalidad de las vaquillonas el porcentaje de preñez fue inferior a resultados de Bentacour y Grasso (2005). Igualmente, tendríamos que tomar en cuenta, que la fertilidad se puede ver afectada al utilizar progestágenos por más de 7 días (Revah y Butler, 1996) o 10 días (Odde, 1990; Sánchez y col., 1993) debido a una persistencia prolongada del folículo dominante y luego la ovulación de un ovocito sub fértil (Stock y Fortune, 1993, Revah y Butler, 1996), pensamos que esto puede tener relación con la diferencia que existe en la concepción del grupo 7 y del grupo 9.

Si comparamos nuestros resultados con los de Fricke y col. (2003) el cual utilizó CIDR por 6 días + Ovsynch, éste obtuvo un porcentaje de concepción de 31,9% el cual es más alentador que el

nuestro, también lo comparamos con diferentes protocolos que se utilizan en vaquillonas sin la adición de progesterona, tales como un Ovsynch o un PG/PG donde también nuestros resultados son muy inferiores a los obtenidos por Callejas y col. (2003) en el que los porcentajes de preñez fue de 50% para el ovsynch y 54 % para el PG/PG.

Todo esto nos plantea la duda si este protocolo se justifica para esta categoría en las condiciones en que fue realizado este trabajo. No solo por lo mencionado acerca de las condiciones del trabajo y los problemas que pueden haberse generado en la inseminación, sino también por condiciones que provocan la utilización de progestágenos. Estos pueden hacer que ovule un folículo muy pequeño que puede llevar a la formación de un cuerpo lúteo pequeño y por lo tanto a la reducción en la preñez. Estudios realizados en vacas, este cuerpo lúteo pequeño lleva a bajas en las concentraciones de progesterona y por lo tanto a bajas en la preñez (Bo y col., 2006). Según este autor, otro factor importante que puede influir negativamente es que el protocolo Ovsynch no es del todo efectivo en vaquillonas debido a la menor duración de las ondas foliculares (con un recambio folicular más rápido y más ciclos de tres ondas), siendo menores que en las vacas en lactancia (con recambio folicular más lento y más ciclos de dos ondas). Esto nos hace pensar que otro de los problemas que puede afectar en la sincronización de este protocolo sea la dispersión de las ondas foliculares que se presentan en esta categoría.

Si consideramos la IATF realizada en ambos grupos, más las vaquillonas inseminadas a celo visto del grupo 7 observamos que un 22,2% del total de las vaquillonas fueron preñadas en un período de 10 días, si lo comparamos con resultados obtenidos en INIA La Estanzuela, en el año 2006 se obtuvo un 42% de preñez al primer servicio en las vaquillonas (Fernández y Salazar, 2007), en el año 2007 fue de 43,7% (Cavestany, comunicación personal).

Luego de concluido el trabajo experimental las vaquillonas que no estaban preñadas fueron inseminadas a medida que entraban en celo y los resultados finales de preñez no fueron tan bajos en relación a los obtenidos en los años posteriores al ensayo.

Concluimos que el retiro del implante en el día 9 nos evita detectar celo previo a la IATF y nos facilita el manejo del rodeo, si bien en nuestros resultados los porcentajes para el grupo 7 fueron mejores, no hubo diferencias significativas entre ambos grupos en la IATF, por lo que se debería seguir estudiando.

Ensayo 2: VACAS

Los niveles de progesterona en sangre al día 0 del tratamiento fueron estadísticamente significativos. Para el tratamiento 1 (GnRH + PG), más del 70% de los animales presentaban niveles de progesterona en sangre superiores a 1ng/mL, mientras que para el tratamiento 2 (PG), la mayor parte se encontraban en fase folicular debido a los niveles basales de esta hormona. El efecto que produce la GnRH sobre la onda folicular, según en que fase de crecimiento estén los folículos, es hacer que los mismos se atresien u ovulen y comiencen una nueva onda folicular, es debido a esto que 7 días después de la aplicación de GnRH encontramos un mayor porcentaje de animales en fase luteal y en fase intermedia en el tratamiento 1. Algo a tener en cuenta es que cuando las hembras bovinas son tratadas con prostaglandina, el intervalo desde el tratamiento a la

ovulación no solo dependerá del estadio de desarrollo del CL sino también del estadio de desarrollo del folículo dominante. Si el folículo de crecimiento se encuentra en la fase de crecimiento o estática temprana, el animal entrará en celo a las 48 a 72 horas y ovulará a los 4 días en promedio. Si el folículo dominante se encuentra en la fase estática tardía o de regresión, el folículo dominante de la próxima onda será el ovulatorio y el animal entrará en celo y ovulará 5 a 7 días después. Esto nos muestra que en el tratamiento con efecto de GnRH (tratamiento 1) es favorable debido a que el número de animales sensibles a la aplicación de PG es mayor. Reflejándose esto en el número de animales que luego de la aplicación de PG presentaron celo a favor del tratamiento 1.

Según Bo, 2006, no debería esperarse un 100% de respuesta, aun cuando todas las vacas del grupo tuvieran un CL al momento de la aplicación de la PG. Esto es así porque no todos los CL maduros son lisados por la PG, especialmente en vacas en lactancia.

A pesar de que vemos una mejor respuesta en la presentación de celos a favor del tratamiento 1, nuestros resultados son inferiores a trabajos realizados por DeJarnette (1997), donde se sincronizaron más de 5000 animales con este protocolo y se lograron mayores porcentajes de animales inseminados.

El tratamiento GnRH + PG, se lo llama SelectSynch y ha tenido bastante aceptación en los rodeos lecheros, disminuyendo el número de animales en celo en los días 6 a 7 posteriores de la administración de GnRH y aumento en el porcentaje de animales en celo luego de la administración de PG, tal como ocurrió en nuestro experimento. A su vez se puede observar que este tratamiento no altera la tasa de concepción y mejora la tasa de preñez por la concentración de celos en un cierto período de tiempo.

Para el tratamiento 2 en el cual no hay efecto exógeno de ninguna hormona nos encontramos con que gran parte de los animales se encontraban en la fase inicial del ciclo (fase folicular), donde los niveles de progesterona en sangre caen y comienza el crecimiento de una nueva onda. La utilización de PG en una sola dosis induce selectivamente la regresión de CL de una manera similar a lo que sucede en el celo natural, la respuesta depende de la presencia del CL funcional (días 7 a 16 del ciclo). Por lo tanto en nuestro experimento una de las causas de falla puede ser que los CL formados no se encuentren en el momento ideal al aplicar la PG y producir la lisis de los mismos. En este tratamiento, nuestra respuesta a la única dosis de prostaglandina fue de 40% que en comparación con resultados de Cruz y col (1997) fue bajo, donde se lograron un 60% de celos detectados. La respuesta de los animales en celo no solo depende del tratamiento que se utilice, sino también de la eficiencia en la detección de celo, como ya se mencionó, ya que también afecta en la respuesta. Para comprobar la eficiencia en las detecciones de celo se muestra un ensayo (Cavestany y col., 2004) que se sincronizó con el protocolo GnRH + PG donde se realizaron en un grupo dos detecciones diarias de celo, el porcentaje de inseminación fue significativamente menor que en el grupo de tres detecciones diarias.

Con respecto a la distribución de los celos luego de la aplicación de PGF_{2α} en ambos grupos, observamos que para el tratamiento 1 la inseminación fue más concentrada, el 65% de las vacas se inseminaron al tercer día de la aplicación, esto nos muestra el efecto que tiene la GnRH ya que sincroniza el desarrollo folicular y hace más precisa la manifestación de celo, mientras que para el tratamiento 2 hubo mayor dispersión de los celos en los 5 días post aplicación de PG, esto se debe a que los animales se encuentran en diferentes estadios de el desarrollo folicular.

El porcentaje de concepción al primer servicio para el tratamiento 1 fue de 45%, el cual es bajo comparado con resultados de Kojima y col. (2000) en vacas de carne donde resultó en un 67% de

concepción. Para el tratamiento 2 el resultado fue de 36% el cual también resulta bajo si lo comparamos con resultados de Lucy y col. (1986) donde la concepción fue del 60%.

Finalmente los porcentajes de preñez al primer servicio para ambos grupos era de esperar que fueran bajos, debido a lo mencionado anteriormente, destacando que en comparación entre ambos tratamientos el resultado del tratamiento 1 fue superior (28%) al del tratamiento 2 (15.6%).

Creemos que estas bajas en el porcentaje de concepción posiblemente se deban a fallas en la inseminación, sumado a esto, el método utilizado en la detección de celos, que al no ser realizado por nosotros, surge la duda de la eficiencia del mismo, ya que estos resultados fueron más bajos de lo esperado.

Concluimos que el uso de Select-synch permite obtener mejores resultados en los índices reproductivos en comparación con el uso de una sola dosis de PG.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JC, Ginther OJ. (1992) Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.*; 94:177-188.
2. Adams GP. (1994a) Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implication for synchronization. *Theriogenology*; 41:19-24.
3. Adams GP, Evans ACO, Rauwlings NC. (1994b). Follicular Waves and circulating gonadotropins in 8-month-old prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.*; 100:27-33.
4. Adams GP, Pierson RA. (1995). Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. *Theriogenology*; 43:113-120.
5. Adrien ML, Blanc J, Rupretcher G, Krall E, Sartore I, Ferraris A, Meikle A. (2007). Exactitud de la palpación transrectal de las estructuras ováricas en comparación con niveles plasmáticos de progesterona. *Jornada Uruguayas de Buiatría XXXV, Paysandú, Uruguay*; 342-343.
6. Alberio R. (2003). Nuevas Biotecnologías Reproductivas. Aspectos Biológicos y Económicos. Departamento de Producción Animal INTA BALCARCE. Disponible: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/reproduccion/Alberio.pdf>. Consultado el 20/11/07.
7. Anderson LH, Mc Dowell CM, Day ML (1996). Progesterone – induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol. Reprod.*; 54:1025-1031.
8. Anderson LH, Day ML. (1998). Development of a progesterone-based estrus synchronization program: I. Reproductive response of cow fed melengestrol acetate for 20 days with an injection of progesterone. *J Anim. Sci.*; 76:1267-1272.
9. Austin EJ, Mihm M, Ryan MP, Williams DH, Roche JF.(1999). Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.*; 77:2219-2226.
10. Badinga L, Driancourt MA, Savio JD, Wolfenson D , Drost M, de la Sota RL, Thatcher WW. (1992). Endocrine and Ovarian responses associated with the first wave dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.*; 47:871-883.
11. Balla E, Filippi L, Maraña Peña D, Pincinato D, Peres LC, Cutaia L, Veneranda G, Martínez MF, Bó GA. (2006). Efectos de diferentes protocolos de sincronización de la ovulación con dispositivos intravaginales con progesterona sobre el desarrollo folicular y las tasas de preñez en vacas lecheras en lactancia. VI Jornada de Actualización en Biotecnología de la Reproducción en Bovinos-IRAC, Córdoba, Argentina. pp 1-11.
12. Bavera GA. (2000). Sitio Argentino de producción animal. Disponible en <http://www.produccionbovina.com/>. Consultado el 14/01/08.
13. Beal WE, Good GA. (1986). Synchronization of estrus in postpartum beef cows with melengestrol acetate and prostaglandin F2 alpha. *J. Anim.Sci.*; 63:343-347.
14. Bentancur A, Grasso G. (2005). Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en vaquillonas Holando. Comparación entre Ovsynch más Terapress® por 7 días y Ovsynch más Terapress® por 9 días, con resincronización de los retornos. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria Universidad de República, Montevideo, Uruguay. pp 8-45.
15. Berardinelli J.G y Adair R. (1989). Effect of prostaglandin F2 alfa dosage and stage of estrous cycle on the estrous response and corpus luteum function in beef heifers. *Theriogenology*; 32:301-314.

16. Bo GA, Martinez M, Nasser LF, Caccia M, Tribulo H, Mapletoft RJ. (1993). Follicular dynamics in *Bos-indicus* and *Bos-taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. II Congreso Brasileiro de Reproducao Animal, Belo Horizonte, Brasil; 2:221
17. Bo GA, Adams GP, Pearson RA, Mapletoft RJ. (1995). Exogenous control of follicular waves emergence in cattle. *Theriogenology*; 43:31-40.
18. Bo GA, Caccia M, Martínez M, Mapletoft RJ. (1996). Follicle wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. Proc. 13th Int. Congres. Anim. Reprod. (ICAR) Sydney, Australia; pp: 7-22.
19. Bo GA, Adams GP, Caccia M, Martínez M, Colazo M, Mapletoft R. (1998). IV Jornadas de Actualización del control del ciclo estral bovino. CABIA, Buenos Aires, Argentina; pp:13-24.
20. Bo GA, Cutaia L, Moreno D, Tribulo H. (2006). En: Sincronización de celos e Inseminación Artificial. VII Simposio de Reproducción Animal; Cordoba, Argentina; pp: 113-116.
21. Bolaños JM, Forsberg M, Kindahl H, Rodriguez Martinez H. (1998). Biostimulatory effects of estrous cows and bulls on resumption of ovarian activity in postpartum anestrous zebu (*Bos Indicus*) cows in the humid tropics. *Theriogenology* ;49:629-634.
22. Bosch RA, Redelonghi RB, Mazzina RA, Muller AO, Bilbao AR. (1976). Sincronización del estro, fertilidad en vaquillonas con un análogo sintético de la prostaglandina F2 alfa. *Gaceta vet*; 38:329-333.
23. Boyd H, C.D. Munro. (1979). Progesterone assays and rectal palpation in pre-service management of a dairy herd. *Vet.Rec*; 104:341-345.
24. Callejas S, Ersinger C, Cabodevila J, Catalano R, Teruel M, Calá M. (2003). Arch. Zootec.52:379-387. Control del ciclo estral en vaquillonas de la raza Holando Argentino: Uso de análogos de Gonadotropinas y de la Prostaglandina F2 alfa. *Arch.Zoot*; 52: 379-387.
25. Carmiol Arguello C. (1996). Comportamiento estral de novillas cebú sincronizadas con un progestageno Norgestomet. Instituto Tecnológico de Costa Rica Santa Carlos-Costa Rica. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=TESISUM.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000656>. Consultado el 25/10/07.
26. Cavestany D, Foote RH. (1985). Prostaglandin F2a used for cows with unobserved estrus in a large commercial herd monitored by milk progesterone assay. *Cornell Vet*; 75:393-397.
27. Cavestany D, de Nava G, Galina CS. (2000). Sincronización de celos con inseminación a tiempo fijo como alternativa para incrementar la eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo. Congreso Mundial de Buiatria, XXI, Punta del Este, Uruguay; pp:37.
28. Cavestany D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos del Uruguay. Costos y variaciones en las respuestas. Jornadas Uruguayas de Buiatría XXX, Paysandú, Uruguay; 143:149.
29. Cavestany D. (2004). Resultados experimentales en lechería. Revista INIA La Estanzuela. Actividades de Dfusión 361:1-20.
30. Cavestany D, Blanc E, Ferraris A, Fernandez M, Perez M, Sánchez A (2007). Determinación de la duración, intensidad y conducta de celo en vacas en ordeño y vaquillonas holando sincronizadas con prostaglandina F2alfa. Jornadas Uruguayas de Buiatria XXXV, Paysandú, Uruguay; 308-310.

31. Chalking D. (1995). Efecto de la etapa del diestro y dosis de prostaglandina F2 alfa sobre la sincronización y fertilidad de los celos en vaquillonas Hereford. Tesis N°2390. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. Montevideo, Uruguay.pp:23-27.
32. Chenault JR, Thatcher WW, Kalra PS, Abrams RM, Wilcox CJ. (1976). Plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone following prostaglandin F2 alpha injection. *J. Dairy. Sci.*; 59:1342-1346.
33. Colazo MG, Bo G.A, Illuminati H, Meglia G, Shmidt, EE, Bartolomé, J. (1999). Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. (abstr),*Theriogenology*; 51:404.
34. Cooper MJ. (1974). Control of oestrus cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Vet Rec*; 95:200-203.
35. Cruz R, Soto E, Aranguren JA, García M, De La Hoz C. (1997). Sintonización de celo y fertilidad en vacas y novillas mestizas tratadas con una dosis de PGF2alfa o sus análogos. *Arch. Latinoam. Prod Anim.* 5 (suppl 1); 381-383.
36. Cutaia L, Moreno D Villata, ML, Bo G. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Abstr. Theriogenology*; 55:408.
37. Cutaia L, Chesta P, Picinato D, Peres L, Maraña D, Bo GA. (2007) Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vacas con cría y vaquillonas: Fundamentos Fisiológicos y Aspectos prácticos. *Jornadas Uruguayas de Buiatría XXXV. Paysandu-Uruguay*; 16-37.
38. De la Sota RL. (1995). Endocrine and molecular changes associated with ovarian follicular dominance in cattle. PhD dissertation. University of Florida. Disponible en: <http://bibliofcv.veter.ucv.ve/Revistafcv/pdf/Diaz.%20Desarrollo.pdf>. Consultado el: 07/08/07.
39. Dejarrette JM. (1997). Sincronización de estros utilizando GnRH y Prostaglandinas. Disponible en: [http://www.reprodar.com.ar/pagina/links/Bol%20Mel%20Sinc%20GnRH%20PG%20\(s\).htm](http://www.reprodar.com.ar/pagina/links/Bol%20Mel%20Sinc%20GnRH%20PG%20(s).htm). Consultado el: 20/07/07.
40. Dejarrette JM, Marshal CE. (2003). Effects of pre-synchronization using combinations PGf2alpha and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*; 77:51-60.
41. Dick A. (1998) VI Jornadas de Control de servicios artificiales en el tambo con el uso de progestágenos. CABIA. Buenos Aires, Argentina, 67-76.
42. Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol*; 23:211-228.
43. Driancourt MA, Gougeon A, Royere D, Thibault C. (1993). Ovarian Fncion. En: *Reproduction in Mammals*.Thibault C, Levasseur MC, Hunter RHF (Eds). Paris, Ellipses, FR; 281-305.
44. Eerdenburg-Van FJCM, Loeffler HSH, Vliet-Van JH. (1996). Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet Quart*; 18:52-54.
45. Elhordoy D, Hernandez S. (1987) Preguntas y respuestas sobre las prostaglandinas en reproducción animal. Montevideo: Facultad de Vetrinaria, Universidad de la Republica. 36p.
46. Espinoza-Villavicencio JL, Ortega Pérez R, Palacios Espinosa A, Valencia Méndez J Aréchiga Flores CG. (2007). Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: Una Revisión. *Interciencia*, Vol.32 N° 2. Disponible en: http://www.interciencia.org/v32_02/93.pdf Consultado el 23/08/07.

47. Esslemont RJ, Bryant MJ. (1976). Oestrus behavior in a herd of dairy cows. *Vet. Rec.*; 99: 472-475.
48. Evans ACO, WD, Adams JP, Rawlings NC. (1994). Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fertil.*; 102:463-470.
49. Fernandez D, Salazar D. (2007). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona y evaluación de diferentes protocolos de sincronización de celos en vaquillonas de la raza Holando. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. pp: 6-28.
50. Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, Rakes AH. (1983). Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J. Dairy Sci.*; 66:1128-1147.
51. Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.*; 58:248-256.
52. Fortune JE, Hansel W. (1985). Concentrations of steroids and gonadotropins in follicular fluid from normal heifers and heifers primed for superovulation. *Biol. Reprod.*; 32:1069-1079.
53. Fortune JE, Sirois J, Quirk SM. (1988). The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*; 29:95-109.
54. Fortune JE, Sirois J, Turzillo AM, Lavoie M. (1991). Follicle selection in domestic animals. *J. Reprod. Fertil.*; 43 (Suppl.):187-198.
55. Fricke PM., Caraviello DZ, Weigel KA, Welle ML. (2003). Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals after first timed insemination. *J. Dairy Sci.* 86:3941-3950.
56. Gatica R. (1993). Causas, incidencia, control y tratamiento de Anestro. Jornadas Uruguayas de Buiatria XXI. Paysandú-Uruguay; C1-C24.
57. Geary TW, Whittier JC. (1999). Various protocols for synchronization of estrus or ovulation using GnRH and prostaglandin. Beef Program Report. The Department of Animal Sciences Colorado State University. Miles city, Montana. pp-93-99.
58. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L (1989a). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*; 20:187-200.
59. Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. (1989b). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.*; 87: 223-230.
60. Hall JB, Staigmiller RB, Short RE, Bellows PA, Macneil MD, Bellows SE. (1997). Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 75: 1606-1611.
61. Hurnik JF, King GJ, Robertson HA. (1975). Estrous and related behaviour in postpartum Holstein cows. *Appl. Anim. Ethol.*; 2:55-68.
62. Iglesias C, Solano R, Caral J. (1979). Obtención y transplante de embriones en el ganado bovino. 7 Reunión Latinoamericana de Producción Animal. Programa y compendios. Panamá; 39:23-29.
63. Illera M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. Editorial Aedos. España. Citado por Torres Velásquez F. (2004). Tesis de Grado, Universidad Católica de Temuco, Chile. Disponible en: <http://biblioteca.ict.cl/tesis/fabian-torres/tesis.pdf> . Consultado el 23/08/07.

64. Inskeep EK. (1973). Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. *J. Anim. Sci.*; 36:1149-1157.
65. Ireland JJ, Roche JF. (1983a). Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: Changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. *J. Anim. Sci.*; 57:157-167.
66. Ireland JJ, Roche JF. (1983b). Development of nonovulatory antral follicles in heifers: Changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*; 112:150-156.
67. Ireland JJ, Roche JF. (1987). Hypothesis regarding development of dominant follicles during a Bovine estrous cycle (1-18). En: *Follicular growth and ovulation rate in farm animals*. Roche JF, O'Callaghan D. (Eds.), Martinus-Nuijhof, The Hague, Holanda. 280 pp.
68. Kastelic JD, Bergfelt R, Ginther OJ. (1990). Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33:1269-1278.
69. Kinder JE, Garcia-Winder M, Imakawa K, Day ML, Zalesky DD, D'Occhio ML, Stumpf TT, Kittok RJ, Schanbacher BD. (1991). Circulating concentrations of 17- estradiol influence pattern of LH in circulation of cows. *Domest. Anim. Endocrinol.*; 8:463-469.
70. King ME, Kiracofe GH, Stevenson JS, Shelles RR. (1982). Effect of stage of the estrous cycle on interval to estrus after PGF₂ alpha in beef cattle. *Theriogenology*; 18:191-200.
71. Knopf L , Kastelic JP, Schallenbergery E, Ginther OJ. (1989). Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two waves hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.* 6:111-119.
72. Kojima FN, Salfen BE, Bader JF, Ricke WA, Lucy MC, Smith MF, Patterson DJ. (2000). Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate; 7-11. *J. Anim. Sci.*; 78:2186-2191
73. Larson LL, Ball PJ. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A Review. *Theriogenology*; 38:255-267.
74. Lauderdale JW, McAllister JF, Kratzer DD, Moody EL. (1981). Use of prostaglandin F₂alpha in cattle breeding. *Acta. Vet. Scand.*; 77:181-191.
75. Lopes FL, Arnold DR, Williams J, Pancarci SM, Tatcher MJ, Drost M, Tatcher WW. (2000). Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J. Anim. Sci.*; 78: (Suppl.) 1:216.
76. Lucy MC, Jeffrey S, Stevenson, EP Call. (1986) Controlling First Service and Calving Interval by Prostaglandin F₂alpha, Gonadotropin-Releasing Hormone, and Timed Insemination. *J. Dairy. Sci.*; 69:2186-2194.
77. Macmillan K, Henderson R. (1984). Analysis of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F₂ alpha to estrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*; 6:245-254.
78. Macmillan KL, Thatcher WW. (1991). Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.*; 45: 883-889.
79. Mc Dougall S, Burke CR, Macmillan KL. (1995). Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res. Vet. Sci.*; 58:212-216.
80. Menchaca A, De Castro T, Alvarez M. (2006). Porcentaje de Preñez con IATF luego de diferentes tratamientos con progesterona en vacas Holando. *Jornadas Uruguayas de Buiatria XXXIV, Paysandu, Uruguay*; 199-201.
81. Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. (1994). Association between duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.*; 102:123-130.

82. Moreira F, Orlandi C, Risco C, Lopes C, Mattos R, Thatcher WW. (2000). Pregnancy rates to a timed examination in lacting dairy cows pre-synchronized and treated with bovine somatotropin: Cyclic versus anestrous cows. (Abstr.). *J. Dairy Sci.*; 83(Suppl 1):134.
83. Morrow DA. (1986). *Current Therapy in Theriogenology*. 2° Ed. WB Saunders Company. Philadelphia, USA; 1104 pp.
84. Mortimer C, Olson JD, Huffman FM. (1983). Serum progesterone concentration at normal postpartum dairy cows. *Theriogenology*; 19:647-655.
85. Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, Mc Connell K, Spicer LJ, Boland MP, Roche JF (1991). Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fétil.*; 92:333-338.
86. Nelson. (1978). Posibilidad de empleo de las prostaglandinas. *Gaceta Vet.* 15:792-799.
87. Nett TM. (1987). Function of the hipotalamic-hipofisial axis during the postpartum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fétil.*; 34:201-213.
88. Odde KG. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 817-830.
89. Ott RS, Bretelaff KN, Hixon JE. (1986). Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentrations in cows. *JAVMA* 188:1417-1419.
90. Peters AR, Ball PJH. (1995). *Reproduction in cattle*. 2° Edition. Blackwell Science Ltda. Citado por Torres Velásquez F. (2004). Tesis de Grado, Universidad Católica de Temuco, Chile. Disponible en: <http://biblioteca.ict.cl/tesis/fabian-torres/tesis.pdf> . Consultado el 23/08/07.
91. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF2 α . *Theriogenology*; 44:915-923.
92. Ramírez.L. (2006). El ciclo estral y menstual. *Mundo Pecuario*, Vol. II, N° 2, 30-31. Universidad de Los Andes-Trujillo. Venezuela. Diponible en: http://www.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pubelectronicas/mundopecuario/vol2num2/articulo_3.pdf Consultado el 09/10/07.
93. Revah I, Butler WR. (1996). Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fétil.*; 106:39-47.
94. Roche, J.F., 1996. Control and regulation of folliculogenesis - A symposium in perspective. *Reviews of Reproduction* 1:19-27.
95. Roche JF. (1975). Control of the time of ovulation in heifers with progestational and gonadotropic releasing hormone. *J Reprod Fétil*; 43:471-477.
96. Rodríguez Blanquet J.B, O Forno, C.Parietti, T Revello, L Salvarrey. (1992). Sincronización de celos en vaquillonas Hereford con dosis reducidas de prostaglandina F2 alfa. *Producción Animal (Buenos Aires, Argentina)*, 12:437-441.
97. Rodríguez Blanquet JB, Bargueño J, Chalking D. (1996). Efecto de la dosis de prostaglandina F2 alfa y día del diestro sobre la sincronización y fertilidad de los celos. *Primer Congreso de Producción Animal. Memorias Sección Reproducción*. Montevideo, Uruguay; 219-222
98. Rodríguez Blanquet JB. (2002). Bioestimulación: Una alternativa para incrementar la productividad del rodeo de cria. *Serie de Actividades de Difusión* 288. INIA; 81-97.
99. Rodríguez Blanquet J.B. (2003). Metodos de uso de Prostaglandina F2alfa para sincronizar celos y ovulaciones en bovinos para carne: una discusión crítica. *Revista Agrociencia*. Vol. VII N° 1; 92-104.

100. Robinson TJ, Shelton JN. (1991). Reproduction in cattle; En: Reproduction in Domestic Animals. San Diego. Ed.P.T.Cupps.4^a Ed.Academic Press.; 445-470.
101. Rowson L, Tervit R, Brand A. (1972). The use of PG for synchroniztion of oestrous in cattle . J.Reprod.Fertil. (Abst).; 29:145.
102. Sanchez T, Wehrman ME, Kojima FN, Cupp AS, Bergfeld EG, Peters KE, Mariscal V, Kottok RJ, Kinder JE. (1995). Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 β -estradiol in heifers. Biol. Reprod.; 52:453-464.
103. Sanchez T, Bergfeld EG, Peters KE, Kojima EN Cupp AS, Mariscal V, Kittok RJ, Rasby RJ, Kinder JE. (1993). Pregnancy rates is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. Biol. Reprod. 49. 1102-1107.
104. Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. (1988). Patern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. J.Reprod.Fertil.; 83:663-671.
105. Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, de la Sota RL, Wolfenson D. (1993). Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. J.Reprod.Fertil; 97:197-203.
106. Schams y col. (1978). Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. Theriogenology; 10:453-468.
107. Sepúlveda N, Risopatron J, Rodríguez F, Rodero E. (2003). Fertilidad en vacas lecheras asociadas a inseminacion a tiempo fijo utilizando GnRH Y Prostaglandina F2alfa. Revista Científica, FCV-LUZ; 8:182-186.
108. Short RE, Randel RD, Staigmiller RB, Belows RA. (1979). Factors affecting estrogen-induced LH release in the cow. Biol Reprod; 21:683-689.
109. Sirois J, Fortune JE. (1990). Lengthening the bovine estrous cycle with low level of exogenous progesterone. A model for studying ovarian follicular dominance. Endocrinology; 127:916-925.
110. Smalley SA. (1981). Management problems of largedaries. Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.; 3:289-305.
111. Smith MF, Burrell WC, Shipp LD, Sprott LR, Songster WN, Wiltbank NJ. (1979). Hormone treatment and use of calf removal in postpartum beef cows. J. Anim. Sci.; 48:1285-1294.
112. Stevenson JS, Britt JH. (1979). Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weigth and postpartum ovarian activity in Holstein cows. J. Anim. Sci.; 48:570-577.
113. Stevenson JS, Hofman DP, Nichols DA, Mckee RM, Krehbiel CL. (1997). Fertility in estrus-cycliny noncycling virgin heifersysuckled beef cows after induced ovulation. J Anim Sci; 75:1343-1350.
114. Stevenson JS, Thompson KE, Forbes WL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR. (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandinF_{2a} with or without timed insemination. J Anim Sci; 78:1747-1758.
115. Stevenson JS, Pursley JR, Garverick HA, Fricke PM, Kesler DJ, Ottobre JS, Wiltbank MC. (2006). Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. J. Dairy. Sci.; 89: 2567-78.
116. Stumpf TT, Wolfe MW, Day ML, Stotts JA, Wolfe PL, Kittok RJ, Kinder JE. (1991). Effect of 17-beta-estradiol on the preovulatory surge of LH in the bovine female. Theriogenology 36: 201-207.

117. Sunderland SJ, Crowe MA, Boland MB, Roche JF, Ireland JJ. (1994). Selection dominance and atresia of follicles during the estrous cycle of heifers. *J.Reprod. Fertil.*; 101:547-555.
118. Tanabe TY, Hann RC. (1984). Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F2 alpha I.-Influence of stage of cycle at treatment. *J. Anim. Sci.*; 58:805-811.
119. Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. (1989). Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*; 31:149-164.
120. Thatcher WW, Patterson MS, Moreira F, Pancarci M, Jordan ER, Risco CA. (2001). Current concepts for estrus synchronization and timed insemination. *Amer Assoc.Beef Prod. Proc. 34th Annual Conv*; 95 -105.
121. Thompson KE, Stevenson JS, Lamb GC, Grieger DM, Löest CA. (1999). Follicular, hormonal and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet and prostaglandin F2 alpha. *J. Anim. Sci.*; 77:1823-1832.
122. Trimberger GW, Frincher MG. (1956). Regularity of estrus, ovarian function and conception rates in dairy cattle. *Cornell University. J.Dairy Sci*; 39: 4448-445.
123. Twagiramungu H, Guibault LA, Proulx J, Villeneuve P, Dufour JJ. (1992). Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.*; 70:1904-1910.
124. Twagiramungu H, Guilbault LA, Dufour JJ. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J Anim Sci*; 73:3141-3151.
125. Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR, Wiltbank MC. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 52:1067-1078.
126. Watson EO, Munro CD. (1960). A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. *Br. Vet. J.*; 136:555-560.
127. Watts TL, Fuquay JW. (1985). Response and fertility of dairy heifers following injection with PGF2 alfa during early, middle and late diestrus. *Theriogenology*; 23:655-661.
128. Webb R, Lamming GE, Haynes NB, Foxcroft GR. (1980). Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*; 59:133-143.
129. Williamson NB, Morris RS, Blood DC, Cannon CM. (1972). A study of oestrous behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herd. I. The relative efficiency of methods of oestrus detection. *Vet Rec*; 91:50-58.
130. Wiltbank JN, Gonzalez-Padilla E. (1975). Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*;15:255-262.
131. Wiltbank MC, Sartori R, Pursley JR, Vasconcelos JLM. (2000). What is the optimal time for AI? *Proc 18th Tech Conf AI & Reprod. NAAB. Milwaukee, WI, USA* .pp-90-97.
132. Wolfenson D, Thatcher WW, Savio JD, Badinga L, Lucy MC. (1994). The effect of GnRH analogue on the dynamics of follicular development synchronization of estrus in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 42, 633-644.
133. Zeitoun MM, Rodríguez HF, Randel RD. (1996). Effect of season on ovarian follicular dynamics in Brahman cows. *Theriogenology*; 45:1577-1581.