

Manejo reproductivo con utilización de sincronización de la ovulación e iatf en vacas lecheras

Dr. Julián A. Bartolomé, PhD, DACT

FCV, UNLPam, UNL, Argentina

La fertilidad es un concepto amplio y complejo y los indicadores de fertilidad son muy variados y relativos de interpretar. A modo de ejemplo, algunos de los indicadores de fertilidad que han sido más utilizados en ganado bovino lechero a través del tiempo son el "intervalo entre partos", el "intervalo parto concepción" o "días abiertos", el "intervalo parto primer servicio" y "parto primer celo", el "número de servicios por concepción" y la "tasa de concepción". Sin embargo, en la actualidad el indicador más certero, que abarca la mayoría de los antes mencionados y que es sinónimo de eficiencia reproductiva, es la tasa de preñez, la cual se define como el producto entre la tasa de concepción y la tasa de detección de celos (TC x TDC). Esta tasa de preñez se evalúa en períodos de 21 días por lo tanto existen 17 períodos en el año y los rodeos que interrumpen servicio, deben considerar anualizar la tasa para que sea comparable entre rodeos. Este indicador es especialmente válido en rebaños que usan inseminación artificial y es menos eficiente y difícil de calcular en rebaños que usan toros o monta natural y que además concentran sus pariciones en un sistema tanto mono-estacional como bi-estacional, típico de los rebaños a pastoreo del sur de Chile.

Tradicionalmente, la eficiencia reproductiva en predios lecheros se ha basado en una alta tasa de detección de celos (TDC) y una alta tasa de concepción (TC) luego de un período de espera voluntario de 40 a 45 días posparto. No obstante, algunos rebaños lecheros establecen su período voluntario de espera teniendo en cuenta no solo la recuperación del tracto reproductivo sino también las características productivas. En consecuencia, las vacas lecheras son inseminadas aproximadamente 75 días posparto y por lo tanto la reanudación de la ciclicidad ovárica no sería un problema tan importante. Sin embargo, rodeos con problemas nutricionales y de manejo durante la transición pueden manifestar pérdidas de peso posparto y tener mayor inciden-

cia de anestro posparto. Debido a que la tasa de detección de celo es muy baja e imprecisa en predios lecheros de alta producción y manejo intensivo, se han desarrollado protocolos de sincronización de celo e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) que aseguran que todas las vacas sean inseminadas al finalizar el período de espera voluntario. Luego del primer servicio, el incremento en la eficiencia reproductiva va a depender de disminuir la mortalidad embrionaria temprana y una rápida re-inseminación de aquellas vacas que no quedaron preñadas o fallaron en mantener la preñez.

Muchos establecimientos utilizan observación visual y ayudas tales como podómetros para la detección de celo e inseminan siguiendo la regla AM-PM (Trimberger and Davis, 1943). Vacas detectadas por la mañana se inseminan por la tarde y vacas detectadas por la tarde se inseminan a la mañana del día siguiente. Los rodeos que utilizan ayudas en la detección como pintura en la base de la cola o dispositivos tipo Kamar inseminan al momento de detectada la remoción de la pintura o la activación del dispositivo. La detección de celo se complementa con la aplicación de distintos protocolos para inducir celo tales como el uso de prostaglandinas, dispositivos de progesterona y diferentes combinaciones de GnRH, estradiol, prostaglandinas y progesterona. No obstante, la detección de celo en rebaños lecheros de USA varía entre 30 y 70 % en diferentes lecherías en tanto que la tasa de concepción es más estable alrededor de 40%. La detección de celo es usualmente muy baja e imprecisa en lechería de muchas vacas y puede tener un efecto devastador sobre la eficiencia reproductiva. Por lo tanto, para preñar en el momento adecuado y post parto y luego re-inseminar rápidamente aquellas vacas que resultan vacías al diagnóstico de preñez y así lograr una buena tasa de preñez en 21 días es necesario tener un programa reproductivo. Este incluye, por un lado, inducir

celos y utilizar ayudas en la detección de celo y por otro utilizar protocolos de sincronización de la ovulación e inseminación a tiempo fijo (IATF) para controlar el momento del primer servicio y re-inseminar aquella vacas que no muestran celo por fallas en la detección, quistes o anestro. La prostaglandina F_2 (PGF_2) y el factor liberador de gonadotrofinas (GnRH) y los dispositivos de progesterona combinados con estrógenos o GnRH pueden sincronizar la ovulación para IATF en el ganado lechero (Stevenson, 2005).

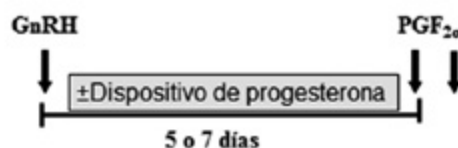
Sincronización de celo con GnRH y PGF_2

Las vacas que reciben un tratamiento de PGF_2 muestran celo 2 a 5 días más tarde y la fertilidad de este celo inducido es similar a la de un celo espontáneo (Lauderdale et al., 1976). No obstante, algunos aspectos deben ser considerados al utilizar PGF_2 para sincronizar celos: 1) la PGF_2 no es efectiva durante los primeros 5 días del ciclo estral; 2) el intervalo desde el tratamiento al celo varía de acuerdo al estado de las ondas foliculares al momento de la inyección de la PGF_2 ; 3) la tasa de concepción para celos inducidos por PGF_2 pueden ser inconsistentes en vacas lecheras; y 4) la PGF_2 no induce celos en vacas en anestro. Con el fin de evitar estos aspectos la administración de dos dosis de PGF_2 con 12 días de intervalo induce celo en la mayoría de las vacas pero estos celos se dispersan entre 2 a 4 días de la segunda inyección (día 2=23%; día 3=54%; día 4=15%). Las dos dosis de PGF_2 se administran a 11 días de intervalo en vaquillas y a 14 días de intervalo en vacas en lactancia debido a la diferencia en las ondas foliculares en ambas categorías. Después de este tratamiento de dos dosis de PGF_2 la IATF sin inducir la ovulación o induciendo la ovulación por administración de GnRH 48 h después de la segunda dosis de PGF_2 puede resultar en bajos porcentajes de preñez.

El descubrimiento de las ondas foliculares permitió entender la dinámica folicular durante el diestro y determinar que el crecimiento folicular debía ser controlado para obtener buena fertilidad y poder concentrar los celos y poder sincronizar la ovulación. La administración de un agonista de la GnRH (buserelina) induce la liberación de FSH y LH de la pituitaria, un incremento en estradiol induce la ovulación, luteinización o atresia de folículos de más de 10 mm de diámetro y sincroniza la

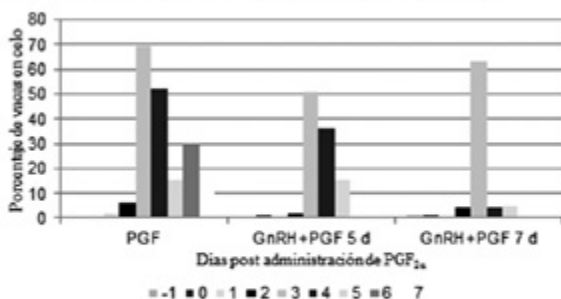
aparición de una nueva onda dentro de los 2-3 d. La onda folicular también puede ser sincronizada con el uso de estrógenos que son efectivos en iniciar el recambio folicular aun cuando el folículo dominante tiene solo 8 mm de diámetro. La administración de PGF_2 7 d después de una inyección de GnRH (Select Synch; Figura 4, Thatcher et al., 1989) induce un incremento del estradiol más sincronizado e induce celo dentro de las 36 a 72 h luego de la luteolisis. El protocolo Select Synch incrementa la sincronización de celo, puede incrementar la fertilidad (el celo post PGF_2 es más fértil al día 3 que al día 5) e inducir celo en algunos animales en anestro en comparación con la administración de PGF_2 sola (Figura 5). Si se incluye un dispositivo de progesterona entre la GnRH y la PGF_2 en el protocolo Select Synch evitará el 10% de ocurrencia de celos entre el día 0 y el día 7, siendo más eficiente en inducir celo en animales en anestro. Debido a los altos niveles de producción de leche alcanzados por las vacas actuales, la metabolización de la progesterona en el hígado se incrementa, bajan los niveles de progesterona circulante y se incrementa la pulsatilidad de LH. Esto genera folículos persistentes lo que llevo a plantear un intervalo de 5 días entre GnRH y la prostaglandina (Figura 4). Esto disminuye la duración de la onda folicular, permite extender el proestro y mejorar la fertilidad (Santos et al., 2010).

Figura 4. Protocolo Select Synch con intervalo de 5 o 7 días y la alternativa de incluir progesterona



Sincronización del celo entre las 48 y las 72 h después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ (Thatcher et al., 1989). La inclusión de un dispositivo de progesterona evita celos en los primeros 7 días e induce celo en vacas en anestro. Es posible utilizar 5 días de intervalo entre GnRH y $PGF_{2\alpha}$ pero se deben utilizar dos dosis de $PGF_{2\alpha}$, una a los 5 días y la segunda 8 a 24 horas más tarde (Santos et al., 2010).

Figura 5. Distribución de celos luego de administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$ o GnRH mas $\text{PGF}_{2\alpha}$ a los 5 o 7 días



La administración de GnRH 5 o 7 días previos a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ concentra los celos y mejora la fertilidad. En este trabajo se utilizó una sola dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el intervalo de 5 días y por lo tanto la distribución de celos no fue tan concentrada como cuando el intervalo fue de 7 días. Para un intervalo de 5 días deben utilizarse dos dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ separadas de 8-24 horas.

Inducción de la ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo utilizando GnRH y PGF_2

A pesar de los esfuerzos por sincronizar el celo e incrementar la fertilidad la detección de esos celos sigue siendo ineficiente por la baja expresión de celo en vacas de alta producción y errores o fallas de manejo. Por lo tanto, protocolos que además de sincronizar el celo pueden inducir y sincronizar la ovulación permiten la IATF eliminando la detección de celo. Algunos aspectos a considerar durante la aplicación de protocolos para IATF son el intervalo de 24 h entre el peak de LH y la ovulación, el transporte de espermatozoides que requiere 6 a 12 h, la viabilidad de los espermatozoides de 24 a 32 h, la viabilidad del ovulo de 8 a 12 h y que son necesarios al menos 10 espermatozoides accesorios por embrión para asegurar una buena calidad de estos embriones. En base a estos aspectos se recomienda inseminar 12 h después del peak de LH. Para poder inseminar a tiempo fijo por lo tanto es necesario sincronizar la onda folicular bajo niveles altos de progesterona para luego inducir un peak de LH y sincronizar la ovulación.

Protocolo Ovsynch®

La administración de una segunda dosis de GnRH 48 h después de la PGF_2 del protocolo Select Synch sincroniza la ovulación y permite la IATF. La administración de GnRH en diferentes etapas del ciclo estral en vacas en lactancia induce la ovulación en un 70 % de los casos, y una PGF_2 7 d más tarde causa la luteolisis en un 90 a 100% de las vacas. La inyección de GnRH 48 h más tarde (Protocolo Ovsynch®; Pursley et al., 1995, Burke et al., 1996, Figura 6) sincroniza la ovulación dentro de las 24 a 32 y la IATF debe realizarse 16 h después de la segunda GnRH.

Si bien el protocolo Ovsynch reduce en un 5 a 8 % la tasa de concepción permite mantener o incrementar la tasa de preñez cuando se lo compara con sistemas que incluyen la detección de celo ya que al aplicar Ovsynch el 100% de las vacas son inseminadas. Este protocolo es también efectivo en vacas con quiste folicular (Bartolomé et al., 2000).

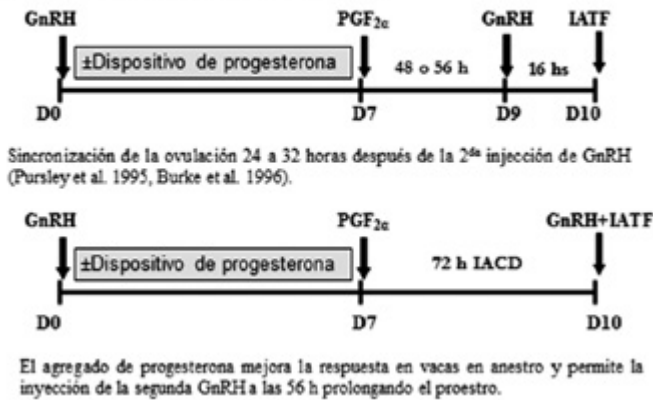
Es importante mantener los tiempos del protocolo Ovsynch ya que si se modifican los días entre la primera GnRH y la PGF_2 puede afectarse la tasa de preñez. Si el intervalo es de 6 días el CL puede no responder a la PGF_2 y si se utilizan 8 días, más vacas entrarán en celo antes de que la PGF_2 sea aplicada. Intervalos de 0, 8, 16, 24, y 32 h desde la segunda GnRH a la IATF resultan en tasas de preñez a los 30 días de 37, 41, 45, 41 y 32%, respectivamente. Además, la mortalidad embrionaria es más alta en vacas IATF a las 32 h de la segunda GnRH. Por lo tanto, la IATF a las 16 h después de la segunda GnRH es ideal pero utilizando 0 a 24 h se obtendrán tasas de preñez aceptables.

Por lo tanto, el protocolo Ovsynch reduce los días abiertos en vacas Holstein en lactancia comparado con un programa reproductivo que incluye solo la administración de PGF_2 e IA utilizando la regla AM-PM. El protocolo Ovsynch también es más eficiente que un sistema de PGF_2 aplicadas cada 14 días con IA a celo detectado o IATF a las 72-80 h después de la tercera inyección en vacas que no muestran celo. También las tasas de preñez entre Ovsynch y Select Synch son similares (30%) cuando la detección de celo para Select Synch es del 70%. En casos de tasas de detección de celo más bajas, la tasa de preñez es mayor para Ovsynch comparado con un sistema de IA a celo detectado después de una o dos dosis de PGF_2 a intervalo de 14 días o IA a celo detectado utilizando el protocolo Select Synch.

En rodeos donde la detección de celo es más precisa y se busca como objetivo estimular la misma en los operarios, es posible utilizar un protocolo Co-Synch (Figura 6) con detección de celo e IACD por 72 h post prostaglandina y luego las vacas no detectadas son IA a tiempo fijo con GnRH a las 72 h. este protocolo logra buenos resultados y las vacas se apartan solo una vez luego de la prostaglandina, en celo para IA o bien para la IATF a las 72 h. Las vacas que a las 72 h no mostraron celo en general logran menores tasas de concepción ya

que muchas de ellas pueden estar en anestro o con quiste folicular.

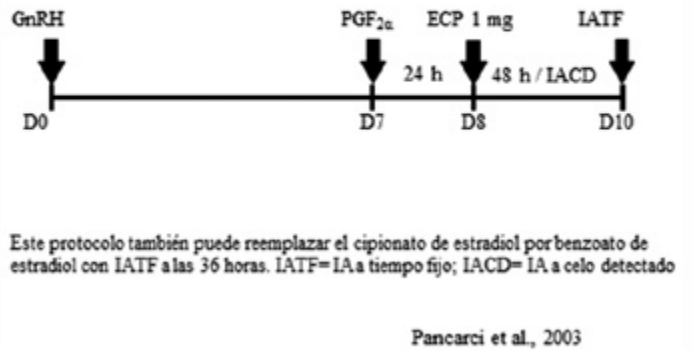
Figura 6. Protocolo Ovsynch con o sin dispositivo de progesterona y Protocolo Co-Synch



Protocolo Heatsynch

El protocolo Heatsynch es similar al Ovsynch pero la segunda dosis de GnRH es reemplazada por una dosis de cipionato de estradiol (ECP) que se administra 24 h después de la PGF₂ e induce la ovulación a las 60 h en vaquillas. Por lo tanto el protocolo incluye 100 µg de GnRH al día 0, 25 mg de PGF₂ al día 7, 1 mg de ECP al día 8 e IATF a las 48 h. Este protocolo fue denominado Heatsynch porque sincroniza el celo (heat) y las vacas muestran más celo que cuando se aplica Ovsynch y el útero presenta características de estro durante la IA. En vacas en lactancia el ECP induce el celo a las 29 h y la ovulación a las 55 h y el intervalo entre celo y ovulación fue de 27 h. No obstante, 20% de las vacas muestran celo dentro de las 24 h y ovulan antes de las 48 h de aplicado el ECP (i.e. momento de la IATF). Por lo tanto, se recomienda inseminar vacas en celo dentro de las 24 h de aplicado el ECP cuando se utiliza el protocolo Heatsynch (Figura 7; Pancarci et al 2003). Setenta y cinco a 85% de las vacas que se les aplicó el protocolo Heatsynch mostraron celo y los técnicos inseminadores reportaron una mayor tonicidad uterina y más fácil inseminación al compararlo con el protocolo. Utilizando el protocolo Ovsynch solo el 30% de las vacas muestran celo después de aplicada la segunda dosis de GnRH.

Figura 7. Protocolo Heatsynch



Protocolo Presynch

La clave para lograr una buena sincronización del celo y la ovulación utilizando GnRH y PGF₂ está en la efectividad de la primera dosis de GnRH para ovular el folículo dominante presente en los ovarios y reclutar una nueva onda folicular con el fin de tener un folículo de buena calidad y un óvulo viable para inducir la ovulación y formar un buen cuerpo lúteo con la segunda dosis de GnRH.

Por lo tanto, la etapa del ciclo estral en el cual la GnRH es administrada afecta la respuesta de esta en inducir una nueva onda folicular. Para inducir el recambio folicular con la iniciación de una nueva onda es necesario tener un folículo dominante de al menos 10 mm de diámetro en los ovarios y la habilidad de la GnRH en inducir la ovulación de dicho folículo. El protocolo Ovsynch es más eficiente en sincronizar la ovulación cuando se inicia en la parte media del diestro (día 5 a 9) ya que la mayoría de las vacas ovulan a la primera inyección de GnRH. Cuando el Ovsynch se inicia en los días 1-4, 5-9, 10-16 y 17-21, la tasa de ovulación a la primera GnRH puede llegar a ser 23, 96, 54 y 77 %, respectivamente; la tasa de ovulación a la segunda GnRH es de 94, 89, 85 y 81% cuando el tamaño del folículo es entre 17 y 20 mm (Vasconcelos et al., 1999, Moreira et al., 2001). En total, más del 90% de los animales experimentan luteolisis después del tratamiento con PGF₂. Cuando las vacas ovulan a la primera GnRH, 92% de las mismas ovulan a la segunda GnRH, pero solo el 79% ovulan si fallan a la primera GnRH. Si el protocolo se inicia en la fase luteal temprana o metaestro (día 2) se falla en sincronizar la onda folicular ya que el folículo dominante de la primera onda es aún muy pequeño y no responde

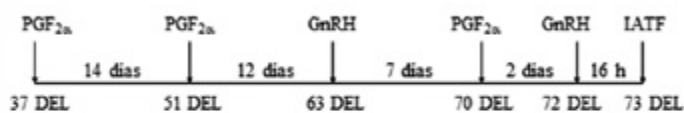
a la GnRH. Este folículo continúa creciendo y al momento de la segunda GnRH será un folículo demasiado avanzado y por lo tanto contiene un ovocito envejecido. Periodos largos de dominancia están asociados con baja fertilidad y mayor mortalidad embrionaria. Igualmente, si se inicia el Ovsynch en el diestro tardío (día 15 por ejemplo) el folículo dominante de la segunda onda puede ser aún pequeño y a su vez la PGF₂ será liberada espontáneamente 2 días más tarde y el celo se presentará anticipado y la IATF no resultará.

Basado en estos conceptos se decidió aplicar 2 dosis de PGF₂ a intervalo de 14 días y así inducir celo en todas las vacas entre los 2 y 7 días y luego iniciar el Ovsynch a los 12 días de la segunda PGF₂ de forma tal que todas las vacas ciclando estarían entre el día 5 y 10 del ciclo estral al momento de iniciar el Ovsynch (Protocolo Presynch; Moreira et al 2001, Figura 8). El protocolo Presynch-Ovsynch incrementa la tasa de preñez en 10% cuando se lo compara con Ovsynch sin presincronización. Tampoco se han encontrado diferencias en la tasa de preñez entre los protocolos Presynch-Ovsynch y Presynch-Heatsynch en vacas en lactantes. El protocolo Presynch-Ovsynch toma unos 36 a 38 d para realizarlo (dependiendo si es iniciado 12 o 14 días después de la segunda PGF₂) y puede ser iniciado en cualquier momento del posparto de acuerdo al periodo voluntario de espera elegido. Inseminación a celo detectado después de cada una de las dosis de PGF₂ es posible de acuerdo a decisiones de manejo. Cuando el Presynch es iniciado durante el posparto temprano podría tener un efecto positivo adicional sobre infecciones uterinas.

aproximadamente un 5%, pero puede ser aún más si las vacas no responden a la GnRH y además puede beneficiar a las vacas en anestro. Sin embargo los resultados comparando Presynch-Ovsynch con y sin un dispositivo de progesterona (CIDR) han sido variables.

Otra alternativa práctica para el primer servicio siguiendo los conceptos de la pre-sincronización es asignar el protocolo Ovsynch o Heatsynch en el momento adecuado del ciclo estral basado en los hallazgos a la palpación rectal o ultrasonografía del tracto genital (Tabla 1). Vacas con cuerpo lúteo pueden ser tratadas con PGF₂ luego inseminar a celo detectado y aquellas que no muestran celo se les puede iniciar el protocolo Ovsynch a los 14 d de tratadas con PGF₂. Vacas sin cuerpo lúteo y con signos de celo podrían iniciar el Ovsynch en ese momento o junto con vacas en anestro o quiste ovárico que pueden ser tratadas con GnRH para inducir la formación de un CL y 8 días más tarde iniciar el Ovsynch. Vacas en metaestro pueden recibir el mismo protocolo o solo esperar e iniciar el Ovsynch a los 8 días. Con este sistema la IA a celo detectado y la IATF son combinadas reduciendo costos y logrando inseminar el 100% de los animales y lograr tasas de preñez de 30 a 35%.

Figura 8. Presynch-Ovsynch



Este protocolo considera la posibilidad de detección de celo e IACD luego de la segunda PGF_{2a}. También es posible incorporar un dispositivo de progesterona entre la GnRH y la PGF_{2a} lo que permite administrar la segunda GnRH a las 56 h (Ovsynch-56) mejorando el proestro y la fertilidad potencial.

Moreira et al., 2001

La inclusión de un dispositivo de progesterona entre la primera GnRH y la PGF₂ del protocolo Ovsynch como Heatsynch evita que las vacas entren en celo dentro de estos 7 días que es

Tabla 1. Criterios para la determinación de la etapa del ciclo estral, presencia de quistes ováricos o anestro basado en hallazgos a la ultrasonografía y la palpación rectal del tracto genital.

Estadio	Hallazgos Clínicos	
	Ovarios	Útero
Diestro	CL Funcional folículo > 10 mm	Tono leve
Metaestro	Cuerpo hemorrágico folículo < 10 mm	Edema y tono moderado
Proestro/Estro	folículo ~ 18 mm CL regresando	Mucho tono
Quiste ovárico	Folículos Múltiples ~ 18 mm Ausencia de CL	Flácido
Anestro posparto*	nutricional o folículo < 18 mm	Flácido

*Incluye anestros profundo y superficial

Modificaciones en el Protocolo Ovsynch

El protocolo Ovsynch tiene varias modificaciones que incluyen cambios en el momento de administración de la segunda dosis de GnRH y el tiempo de inseminación a tiempo fijo con o sin IA de vacas que muestran celo antes del momento indicado de la IATF. Estas modificaciones dependen de si las vacas son presincronizadas o si se incluye un dispositivo de progesterona entre la primera GnRH y la PGF₂. La presincronización incrementa la respuesta a la primera GnRH y por lo tanto la administración de la segunda GnRH y la IATF se pueden demorar algo más ya que las vacas no van a sufrir luteolisis u ovulación temprana y esto es similar a usar un dispositivo de progesterona entre la primera GnRH y la PGF₂. El agregado de un dispositivo de progesterona entre la GnRH y la prostaglandina beneficia claramente a vacas que inician el protocolo en diestro tardío y que podrían ovular muy temprano en relación al momento de la IATF (Bartolomé et al., 2009). Estos protocolos han incluido la administración de la segunda GnRH a las 56 hs post PGF₂ con inseminación 16 h después (Ovsynch56, Brusveen et al.,

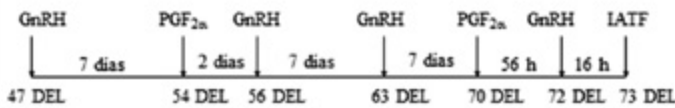
2008) o la administración de GnRH+IATF a las 72 h (Cosynch72, Portaluppi and Stevenson, 2005). En caso de no usar presincronización o dispositivo de progesterona también se ha modificado el Ovsynch con GnRH+IATF a las 48 h de la PGF₂ (Cosynch48). La última modificación al protocolo Ovsynch que ha logrado mejorar la fertilidad en vacas de alta producción resultó de acortar el intervalo entre la primera GnRH y la PGF₂ a 5 días y alargar el proestro. Esto permitiría una menor duración de la onda folicular y una mejor maduración del folículo pre-ovulatorio. Este protocolo incluye GnRH el Día 0, una dosis de PGF₂ y retiro del dispositivo el Día 5, una segunda dosis de PGF₂ el Día 6 (12 a 24 h más tarde) y una IATF a las 72 h con una segunda dosis de GnRH. Aplicado 11 días luego de un Presynch logró una mejora de aproximadamente 6 % en las tasas de concepción en vacas lecheras de alta producción (Chebel et al., 2008). Este protocolo también contempla la posibilidad de utilizar un dispositivo de progesterona entre la primera GnRH y la aplicación de prostaglandina con un beneficio en vacas sin CL al inicio del protocolo (Bisinotto et al., 2015). En un estudio donde se utilizó este protocolo pero con detección de

celo e IA por 96 h e IATF a las que no habían entrado en celo no se observó un beneficio de la dosis inicial de GnRH ni del agregado de eCG sobre la fertilidad (Lopez Gatius et al., 2015).

Alternativas de presincronización

El protocolo Presynch también ha sido modificado y la modificación más utilizada es el intervalo de 14 días en lugar de 12 días entre la segunda PGF_{2α} del Presynch y el inicio del Ovsynch. Si bien el intervalo de 14 días facilita que los tratamientos se hagan en el mismo día de la semana, la fertilidad se ve afectada en comparación a intervalos de 12 u 11 días entre ambas prostaglandinas. Una alternativa de pre-sincronización es utilizar un doble Ovsynch (Souza et al., 2008). Esto consiste en aplicar por ejemplo el día 47 posparto un primer Ovsynch y 7 días más tarde iniciar un segundo Ovsynch con IATF a los 73 días en leche. Los resultados indicarían que se podría mejorar la concepción en vacas primiparas y en condiciones de mayor incidencia de anestro posparto.

Figura 9. Protocolo doble Ovsynch



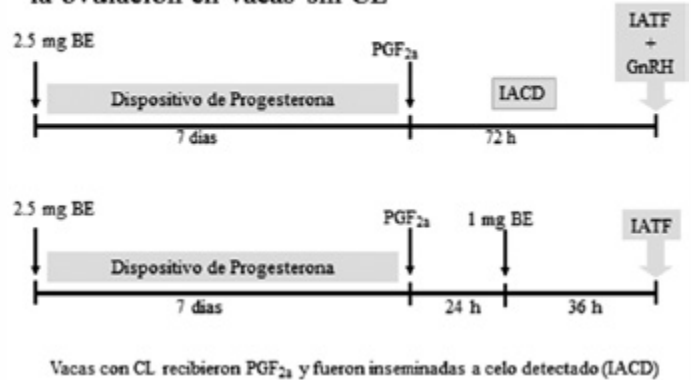
Souza et al., 2008

Protocolos con estradiol y progesterona

Una alternativa para sincronizar celo y ovulación en vacas lecheras es el uso de protocolos que combinan estradiol y progesterona. El uso de estradiol para sincronizar la onda folicular no requiere la pre-sincronización ya que tanto benzoato como 17-B estradiol son muy eficientes en atresiar los folículos existentes e iniciar una nueva onda folicular. Algunos ensayos que compararon Presynch-Ovsynch y estos protocolos no demostraron diferencias de fertilidad. Estos protocolos también han planteado el uso de cipionato de estradiol como inductor de la ovulación colocado al retiro del dispositivo de progesterona y con IATF a las 48 h aunque se requieren mayores estudios ya que la distribución de la ovulación en estos casos es más dispersa. También es posible utilizar estradiol al inicio del protocolo y GnRH al final como in-

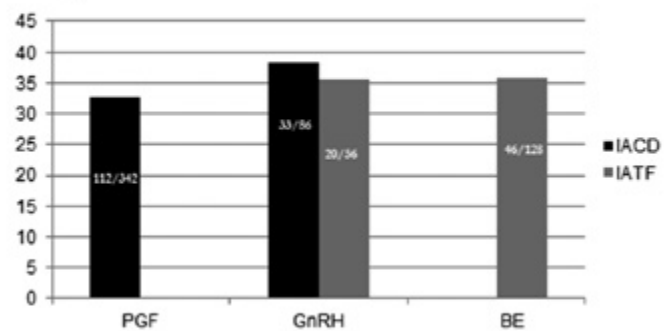
ductor de la ovulación. En un tambo comercial de producción de baja producción se comparó la fertilidad de vacas sincronizadas con PGF_{2α} ante la presencia de CL y de vacas sincronizadas utilizando estradiol o GnRH como inductor de la ovulación. Las vacas con cuerpo luteo fueron tratadas con prostaglandina e inseminadas a celo detectado. Las vacas sin cuerpo luteo fueron asignadas a un tratamiento con 3 encierres o el protocolo tradicional (Figura 10).

Figura 10. Protocolo convencional con progesterona y benzoato de estradiol o GnRH como inductor de la ovulación en vacas sin CL



No hubo diferencias en los porcentajes de preñez y por lo tanto se optó por el protocolo utilizando GnRH ya que reduce a tres encierres el manejo de las vacas (Figura 11).

Figura 11. Tasas de concepción en vacas con CL tratadas con PGF_{2α} o sin CL sincronizadas con BE, PGF y GnRH



Tasa de Detección de Celos para PGF= 267/342=78%
Tasa de Detección de Celos para protocolo Cosynch=86/142=60.6%

Utilización de gonadotropina coriónica equina (eCG)

La eCG ha sido utilizada en protocolos de IATF en vacas de carne y lecheras al momento de la administración de PGF_{2α} con el fin de aumentar el crecimiento del folículo dominante. En ganado de carne los resultados son contundentes logrando mejoras substanciales

en tasas de concepción en vacas que inician los protocolos para IATF en baja condición corporal. Sin embargo los resultados en ganado lechero no han sido tan evidentes. La aplicación de 400 UI al retiro de un dispositivo de progesterona en vacas lecheras aumentó los niveles de progesterona post-ovulación (Souza et al., 2009; Sampaio et al., 2015) sin embargo no se observaron mejoras en las tasas de concepción. Se discute actualmente si la dosis de 400 UI utilizadas en ganado de carne son adecuadas para vacas lecheras de mayor peso corporal y metabolismo o bien se deberían utilizar dosis más altas. En un trabajo realizado en vacas lecheras de baja producción sincronizadas con un protocolo de IATF combinando benzoato de estradiol y progesterona, la administración de 400 UI de eCG al retiro del dispositivo de progesterona incrementó el porcentaje de vacas con doble cuerpo luteo (Tabla 2) y la tasa de concepción (Tabla 3).

Tabla 2. Número de cuerpos luteos a los 45 días post IATF en vacas lecheras tratadas con 400 UI de eCG al retiro de un dispositivo de progesterona

	Nro de CLs a los 45 días post IATF						P
	1		2		3		
	%	N	%	N	%	N	
Tratamiento							<0.05
eCG	53.6	30/56	39.3	22/56	7.1	4/56	
Control	83.3	35/42	14.3	6/42	2.4	1/42	

Vacas lecheras de baja producción (n=264) fueron sincronizadas con un protocolo que incluyó 2,5 mg de benzoato de estradiol y un dispositivo de progesterona, retiro del dispositivo y PGF2a a los 7 días, 1 mg de benzoato de estradiol a las 24 h e IATF 36 h más tarde.

Tabla 3. Tasas de concepción en vacas lecheras de baja producción tratadas con 400 UI de eCG al retiro del dispositivo de progesterona

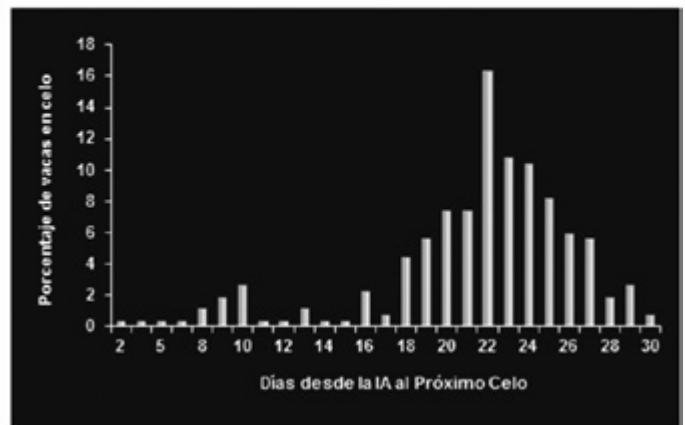
	Tasa de Concepción 30 d		Valor P
	%	N	
Tratamiento			<0.03
eCG	47.6	61/128	
Control	39.7	54/136	
Lactancia			<0.03
1	60.7	17/28	
2	43.9	47/107	
3+	39.5	51/129	

Resincronización de celos, ovulación, e inseminación a tiempo fijo en vacas lecheras

Entre los métodos que se pueden utilizar para detectar aquellos animales que no concibieron al primer o subsecuentes servicios tenemos la detección de celo, determinación de los niveles de progesterona, tests bioquímicos e inmunológicos de preñez y la ultrasonografía o la palpación rectal para diagnóstico de preñez.

Luego de una inseminación artificial las vacas lecheras que no resultan preñadas o que pierden tempranamente la gestación vuelven a manifestar celo en promedio a los 22 o 23 días pero con una distribución bastante amplia (Figura 12).

Figura 12. Distribución de la repetición de celos en vacas que no resultaron preñadas a una IA



Esta amplia distribución en la manifestación de celo es propio de vacas lecheras de alta producción y dificulta la detección de los mismos. Una alternativa propuesta a partir del uso de dispositivos de progesterona es la aplicación de uno de estos dispositivos el Día 14 post IA y retiro del mismo a los 21 días logrando una concentración de celos en los 3 a 5 días posteriores (Chenault et al., 2003). Si bien esta alternativa concentra los celos, la necesidad de detectarlos y la baja eficiencia de esta técnica hace que esta práctica no sea muy beneficiosa. Luego del intento de detectar celos en vacas que no resultaron preñadas el siguiente paso para encontrar estas vacas vacías y volver a inseminarlas es el diagnóstico temprano de gestación por palpación transrectal del útero (34 días post IA) o por ecografía (28 días post IATF) colocando prostaglandina en vacas con cuerpo luteo mas detección de celos o un protocolo de IATF como

Ovsynch, Heatsynch o protocolos con estradiol y progesterona. Teniendo en cuenta los resultados en distribución de celos de la Figura 11, si realizamos una ecografía 30 días post IA nos encontraremos que de las vacas detectadas no preñadas, menos del 50 % de vacas tienen cuerpo luteo y permiten la administración de prostaglandina y el resto deber ser sincronizadas con un dispositivo de progesterona o protocolos específicos. Al momento del diagnóstico de no preñez es posible en base a los hallazgos clínicos en útero y ovarios determinar el estadio del ciclo estral (Tabla 4) y en base a ellos aplicar diferentes protocolos de inducción, sincronización de celos, ovulación e IATF. La detección del CL se realiza en base a la morfología a la palpación (línea de demarcación y distorsión de la forma del ovario) y su visualización a la ecografía, la detección de los folículos se realiza por observación a la ecografía, la tonicidad uterina y el edema por medio de la palpación rectal. La ecografía puede ser también utilizada para la diferenciación de los quistes foliculares y luteales.

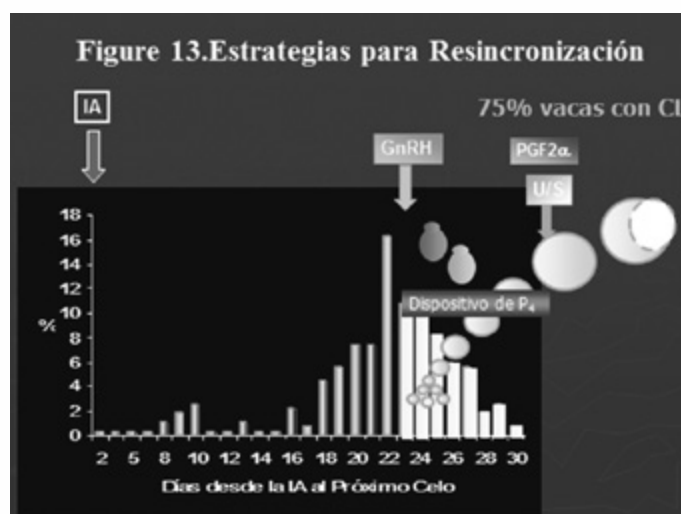
Tabla 4. Diferentes estadios del ciclo estral y anomalías utilizando ultrasonografía y palpación transrectal del tracto genital

Estadio	Hallazgos Clínicos	
	Ovarios	Útero
Diestro	CL, Foliculo > 10 mm	Tono leve
Metaestro	CH, Foliculo < 10 mm	Edema, tono moderado
Proestro/estro	Foliculo > 18 mm CL regresando	Mucho tono
Quiste Ovárico	Foliculos Múltiples > 18mm Ausencia de CL	Flácido
Anestro	Foliculos < 18 mm	Flácido

(Adapted from Zemjanis 1962, Pierson and Ginther 1987)

Las vacas detectadas en diferentes estadios pueden ser sincronizadas con diferentes protocolos (Bartolomé et al., 2002). En un ensayo realizado con vacas lecheras de alta producción se utilizaron protocolos en base a la presencia o no de cuerpo luteo. Las vacas en diestro recibieron una dosis luteolítica de prostaglandina y fueron inseminadas a celo detectado por 12 días. Aquellas no detectadas en celo iniciaron un protocolo Ovsynch. Las vacas sin cuerpo luteo, incluyendo vacas con quiste o en anestro, recibieron una dosis de GnRH y 8 días más tarde iniciaron el protocolo Ovsynch. Esta estrategia permitió lograr porcentajes de concepción aceptables (30-35%) y la doble GnRH en vacas sin CL no solo estimula la ciclicidad sino que

al evitar la expresión de celo también evita los errores de detección. El inconveniente de estas estrategias es el tiempo prolongado necesario para la re-inseminación. En un trabajo realizado en Florida de las vacas vacías a la ecografía 30 días post IA, el 46,4 % tenían CL, el 22 % estaban en proestro, el 14,8 % en metaestro, el 14,1 % con quiste ovarico y el 1,6 % en anestro. Por lo tanto menos del 50 % de las vacas podrían recibir prostaglandina y tener la posibilidad de una rápida re-inseminación. La alternativa para acelerar la resincronización sería detectar celo hasta el Día 23 post IA para luego iniciar el protocolo de sincronización de la ovulación 7 días previo al diagnóstico de no preñez el Día 30 por ecografía (Figura 13). Esta estrategia administrando GnRH 7 días antes de la ecografía logró que el 75 % de las vacas tuvieran CL al momento del diagnóstico de no preñez y estas vacas lograran buena concepción a la re-IATF. Para corregir la concepción de aquellas que no respondieron a la GnRH deberíamos incorporar al protocolo de resincronización un dispositivo de progesterona y así todas las vacas podrían ser reinseminadas a tiempo fijo con buenas concepciones. La aplicación de un protocolo Ovsynch más dispositivo de progesterona puede iniciarse 7 días previos al diagnóstico de no preñez tanto por ecografía (28-30 días post IA) o por palpación rectal (34-36 días post IA). Resultados obtenidos en Florida también indican que el protocolo Ovsynch de 5 días podría utilizarse con buenos resultados para la resincronización siempre utilizando dos dosis de prostaglandina al retiro del dispositivo y 24 más tarde y una IATF más GnRH a las 72 horas de la primera prostaglandina (Bissinoto et al., 2010).



Conclusión

La eficiencia reproductiva en los rodeos lecheros consiste en definir un adecuado período voluntario de espera (influenciado por aspectos biológicos y económicos) y a partir de ahí lograr preñar la mayor cantidad de vacas en el menor tiempo y que estas preñeces lleguen a término. La detección de celo es importante ya que tiene un bajo costo y permite una rápida re-inseminación de los animales no preñados, sin embargo, ha sido documentado en infinidad de situaciones que el porcentaje de detección de celos ronda el 55 a 60 % con niveles un poco más altos en sistemas de baja producción de leche y estacionados. Por lo tanto, el conocimiento de la fisiología reproductiva y la aplicación de protocolos que permiten la sincronización y resincronización de la ovulación y la inseminación a tiempo fijo son una herramienta fundamental para mantener la eficiencia reproductiva. Una correcta manipulación del crecimiento folicular, los niveles de progesterona y el tamaño y viabilidad del folículo ovulatorio va a mejorar la concepción y disminuir las pérdidas embrionarias. Es importante recalcar que los factores de manejo, climáticos y nutricionales son la base para lograr buenos resultados. El manejo nutricional del período de transición y el confort que minimizen las enfermedades asociadas al parto, la detección temprana de vacas enfermas y los respectivos tratamientos es fundamental para una rápida recuperación de la fertilidad de las vacas. Es importante también monitorear la tasa de concepción de acuerdo a los días en leche para evaluar las estrategias reproductivas.

Bibliografía

- Bartolome JA, Archbald LF, Morresey P, Hernandez J, Tran T, Kelbert D, Long K, Risco CA, Thatcher WW. Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology* 53:815-825, 2000.
- Bartolome JA, Sheerin P, Luznar S, Meléndez P, Kelbert D, Risco CA, Thatcher WW, Archbald LF. Conception rate in lactating dairy cows using Ovsynch after presynchronization with prostaglandin F2a (PGF2a) or gonadotropin releasing hormone (GnRH). *The Bovine Practitioner*, 36, 1: 35-39, 2002.
- Bisinotto RS, Lean IJ, Thatcher WW, Santos JE. Meta-analysis of progesterone supplementation during timed artificial insemination programs in dairy cows. *J Dairy Sci* 2015,98:2472-87.
- Brusveen DJ, Cunha AP, Silva CD, Cunha PM, Sterry RA, Silva EP, Guenther JN, Wiltbank MC. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2008,91:1044-52.
- Burke JM, Sal Sota RL, de la Risco CA, Staples CR, Schmitt EJ, Thatcher WW. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1996,79:1385-93.
- Lauderdale JW, Sequin BE, Stellflug JN, Chenault JR, Thatcher WW, Vincent CK, Loyancano AF. Fertility of cattle following PGF2a injection. *J Anim Sci* 1974, 38:964-967.
- López-Gatius F, López-Helguera I, DE Rensis F, Garcia-Ispuerto I. Effects of different five-day progesterone-based synchronization protocols on the estrous response and follicular/luteal dynamics in dairy cows. *J Reprod Dev* 2015,61:465-71.
- Macmillan KL, Burke CR. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 1996, 42:307-320.
- Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F and Thatcher WW. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 1646-1659.
- Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW. Use of estradiol cypionate in a pre-synchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 85: 122-131, 2002.
- Portaluppi MA, Stevenson JS. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the Ovsynch protocol. *J Dairy Sci* 2005,88:914-21.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923, 1995.
- Sampaio PC, Alves NG, Souza JC, Sales JN, Carvalho RJ, Lima RR, Teixeira AA, Nogueira GP, Ascari IJ. Comparative efficacy of exogenous eCG and progesterone on endogenous progesterone and pregnancy in Holstein cows submitted

to timed artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2015,162:88-94.

• Santos JE, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci* 2010,93:2976-88.

• Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Wiltbank MC. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2008,70:208-15.

• Souza AH, Viechnieski, S, Lima FA. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 2009,72:10-21.

• Stevenson JS. Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2005,21:349-65.

• Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 1989, 31:149-164.

• Trimmerger, GW, Davis HP. Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various stages of estrus. University of Nebraska, College of Agriculture, Agricultural Experimental Extension Research Bulletin 129, 1943.

• Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR, Wiltbank MC. 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, 1999.

Pruebas de laboratorio para evaluar la capacidad reproductiva del toro

Dra. Arantxa Echegaray

Directora del Departamento de I+D. HUMECO. C/Mecánica 11, 22006, Huesca (Huesca, España).
Tel.: (0034) 974231165. www.humeco.net

Introducción

En algunos países, las pruebas de calidad seminal para la evaluación reproductiva, son realizadas por expertos en espermatología, en laboratorios de referencia altamente tecnificados y que se espera trabajen con alta exactitud y precisión. Sin embargo, lo más frecuente en la mayoría de países, es que las pruebas de laboratorio las haga el propio veterinario. La evaluación en campo, se beneficia de un resultado inmediato de motilidad espermática, la cual puede variar durante el tiempo de transporte a un laboratorio de referencia, además de que el veterinario de campo cuenta con un mejor conocimiento de los factores ambientales que rodean al animal (anamnesis y examen clínico). Una evaluación seminal correcta no precisa tanto de altas inversiones en tecnología, como de la implementación

correcta de protocolos de evaluación básicos y del conocimiento para saber interpretar los resultados obtenidos. Así, es imprescindible conocer cómo afectan a la calidad seminal, el proceso de degeneración testicular y el proceso de maduración testicular en los toros jóvenes, los dos fenómenos que van a marcar de manera decisiva la capacidad reproductiva de un toro.

Por otro lado, aun tratándose de pruebas básicas, con equipamiento muy sencillo, el protocolo debe estandarizarse, para trabajar con una adecuada precisión. Se debe prestar especial atención a factores como la temperatura o los instrumentos de dilución.

Por lo general y debido a que la rapidez del proceso es mandataria, las pruebas de laboratorio se restringen a: volumen y color del eyaculado, motilidad masal e