

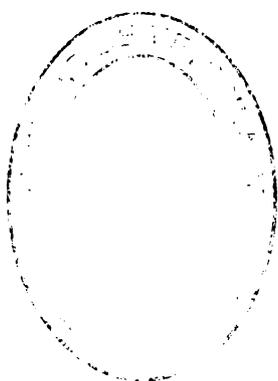
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**COMPARACIÓN DE DOS DISPOSITIVOS VAGINALES CON DIFERENTES
CANTIDADES DE PROGESTERONA EN DOS PROTOCOLOS DE
SINCRONIZACIÓN DE CELO CON INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO
FIJO EN VAQUILLONAS DE CARNE**

Por

Severino CELHAY BARRETO
Alejandro RODRIGUEZ MARTÍNEZ



TESIS DE GRADO, presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias
Orientación Producción Animal
Modalidad: Trabajo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2011



FV-28944

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:



Dr. Danilo Fila

Segundo Miembro (Tutor):

Dr. Daniel Cavestany

Tercer Miembro:

Dra. Carolina Fiol

Cuarto Miembro (Co-tutor):

Dr. Guillermo de Nava

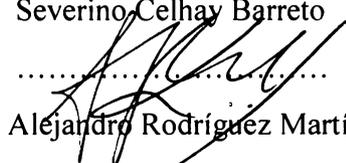
Fecha:

16 de mayo de 2011

Autores:



Severino Celhay Barreto



.....
Alejandro Rodríguez Martínez

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 8 (ocho)

AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor Daniel Cavestany por su dedicación y paciencia.
- A Guillermo de Nava por su invaluable colaboración.
- A Juan Cavestany y personal de Santa Antonia.
- A nuestros padres, por brindarnos la oportunidad de estudiar y todo su apoyo.
- A nuestros hermanos y amigos por estar siempre.
- A Lina y María Laura.
- A todos los compañeros, por hacer de esta carrera algo tan disfrutable.
- A cada uno de nuestros profesores que contribuyeron en nuestra formación.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
TABLA DE FIGURAS Y CUADROS.....	VI
RESUMEN	1
SUMMARY	1
INTRODUCCIÓN	2
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	4
Ciclo estral bovino.....	4
Control neuroendocrino del ciclo estral.....	6
Hipotálamo	6
Hipófisis.....	7
Ovarios.....	7
Útero	8
Hormonas que regulan el ciclo estral.....	8
GnRH	8
Hormonas gonadotropicas.....	9
Hormonas ováricas	10
Estrógenos	10
Progesterona.....	10
Inhibina.....	11
Hormonas uterinas	11
Prostaglandinas	11
Pubertad.....	11
Ondas Foliculares	13
Manejo Farmacológico del Ciclo Estral	15
El uso de las prostaglandinas en la sincronización de celos	16
Presentación de celo con tratamiento a base de PG.....	16
Protocolos con dosis única de PG	17
Protocolos con doble dosis de PG.....	17
El uso de la GnRH en la sincronización de celos	17
Combinación de GnRH y PG en animales ciclando.....	18

Protocolos	18
Select Synch	18
Ovsynch	18
Cosynch	19
PreSynch	20
El uso de la progesterona-progestágenos en la sincronización de celos	20
Dispositivos intravaginales	21
Combinación de progesterona y PG	21
Combinación de progesterona y GnRH	22
El uso de los estrógenos en la sincronización de celos	23
Combinación de Estrógenos con Progesterona	23
Combinación de estrógenos, GnRH y PG	25
HeatSynch	25
Combinación de progesterona, estrógenos, GnRH y PG	25
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	28
Hipótesis	28
Objetivos	28
MATERIALES Y MÉTODOS	29
Animales	29
Lotes	30
Análisis estadístico	31
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

TABLA DE FIGURAS Y CUADROS

Figura 1- Fisiología del ciclo estral bovino.....	6
Figura 2- Esquema simplificado de las interrelaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero.....	8
Figura 3- Ondas foliculares del ciclo estral de tres ondas	14
Figura 4- Distribución de los animales utilizados según peso dentro de cada rango de edad.....	29
Figura 5- Esquema del tratamiento realizado al lote 1	30
Figura 6- Esquema del tratamiento realizado al lote.....	31
Figura 7- Porcentaje de celos prematuros según dispositivo utilizado.....	32
Cuadro I- Porcentaje de preñez en vaquillonas para carne de acuerdo a tratamiento, edad y peso corporal.....	33

RESUMEN

Se evaluaron dos dispositivos intravaginales de liberación de progesterona (P4) con dos cantidades diferentes (1,38 y 0,5 g). Se utilizaron 342 vaquillonas de carne divididas en dos lotes: lote 1, con 188 animales de 24 meses y lote 2 con 154 animales de 14 meses, todos ciclando y con condición corporal ≥ 4 (escala de 1 a 8). Los protocolos utilizados fueron, para el lote 1: Día 0 por la mañana: 1 mg de de Benzoato de Estradiol (BE) e inserción del dispositivo intravaginal (CIDR con 1,38 g de P4 o CRONIPRES con 0,5 g de P4); Día 7 en la mañana: 150 μg de d- (+) cloprostenol (PG) y retiro del dispositivo; Día 9: detección de celo (7 a 8 am) e IA ; por la tarde, a los animales que no se detectó celo en el lote 1 se les inyectó GnRH (8 μg de buserelina) y luego se hizo IATF (50-56 h de retirado el dispositivo), para el lote 2: Día 0 por la tarde: 1 mg de BE e inserción del dispositivo intravaginal (CIDR con 1,38 g de P4 o CRONIPRES con 0,5 g de P4); Día 7 en la tarde: 150 μg de d- (+) cloprostenol (PG) y retiro del dispositivo; Día 9: detección de celo (7 a 8 am) e IA a primera hora de la tarde; a los animales que no se detectó celo se les inyectó GnRH (8 μg de buserelina) y fueron IATF 12 más tarde. La detección de celos prematuros para el lote 1 fue de 24 animales (12,7% del total), mientras que en lote 2 fue de 39 animales (25,3% del total). El porcentaje de preñez obtenido luego de la IATF fue de 67,3% para todos los animales (CIDR 69,0% y CRONIPRES 65,5%; $P > 0,1$).

SUMMARY

We evaluated two intravaginal progesterone-releasing devices with two levels of progesterone (P4) (1.38 and 0.5 g). A total of 342 beef heifers were used, divided in two groups: Group 1 with 188 animals 14 months old and Group 2 with 154 animals 24 months old, all cycling and body condition ≥ 4 (scale of 1 to 8). The Protocol used was for group 1: Day 0 in the morning: 1 mg of estradiol benzoate (BE) and insertion of the intravaginal device (CIDR with 1.38 g of P4 or CRONIPRES with 0.5 g of P4); Day 7 in the morning: 150 μg de d- (+) cloprostenol (PG) and withdrawal of the device; Day 9: heat detection (7 to 8 am) and AI to both groups, in the afternoon those animals that were not detected in heat in Group 1 received GnRH (8 μg buserelin) and TAI (50-56 h after device withdrawal), while Group 2 received the same treatment but those animals that didn't show heat received GnRH and were timed inseminated 12 h later. In group 1 12.7% (24) of heifers were prematurely detected in heat, while in group 2 this rate was of 25.3% (39). The pregnancy rate obtained after TAI was 67.3% for all animals (CIDR 69.0% and CRONIPRES 65.5%; $P > 0.1$).

INTRODUCCIÓN

Para lograr un ternero por vaca y por año en un sistema de producción bovina, las hembras deberían estar nuevamente preñadas a los 82 días de paridas. Esto significa que restando a los 365 días del año, 283 días del período de gestación y teniendo en cuenta los 40 a 60 días de la recuperación de la capacidad reproductiva después del parto, las vacas disponen sólo de un estro ó dos para lograr la preñez siguiente (Bó y col., 2002b).

Durante los últimos años se ha producido un gran avance en el desarrollo en los programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) lo cual incrementó notablemente la cantidad de animales incluidos en estos programas (Baruselli y col., 2003; Bó y col., 2005)

El principal factor limitante en el éxito de la inseminación artificial en bovinos es la falla en la detección de celos (Rowson y col., 1972; Lauderdale, 1972; Roche, 1974; Barr, 1974; Foote, 1975; De Kruif y Brand, 1978; Larson y Ball., 1992; Geary y col., 2001; Yamada, 2005).

La detección de celo lleva mucho tiempo y mano de obra, depende de las influencias ambientales y suele ser ineficiente e imprecisa. En invierno por ejemplo, el período de horas luz es muy corto (9 h 45 min en junio) y por lo tanto hay 14 h 15 min de oscuridad, lo que impide la observación de los animales en las horas de máxima ocurrencia de celos que son entre las 1:30 AM y 6:00 AM (Foote, 1975; Pinheiro y col., 1998; Barros y col., 2000). También trabajos realizados han encontrado diferencias entre el día y la noche siendo mayor el porcentaje de celos durante la noche (Cavestany, comunicación personal). Por lo tanto, la razón primaria para sincronizar el estro, en vacas., es facilitar el uso de la inseminación artificial (IA) (Xu y Burton, 1999) y así disminuir las pérdidas debido a fallas en la detección de celos, maximizando esto con la IATF.

Para la utilización de la inseminación artificial, existen una infinidad de protocolos que se han ido desarrollando de acuerdo a las necesidades que plantean las diferentes condiciones de los rodeos, cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas pero el médico veterinario debe tener un conocimiento profundo de la fisiología reproductiva del bovino y el efecto de los factores ambientales y de manejo sobre la fisiología reproductiva. Las hormonas utilizadas son esteroideas (estrógenos, P4), proteicas (FSH, LH, eCG, hCG) o poli péptidos (GnRH), en forma natural o sintética, administradas parenteralmente (subcutánea o intramuscular), oral o por vía de implantes vaginales o subcutáneos. Todas ellas tienen su acción en el ciclo estral de la hembra y por tanto pueden modificar los eventos naturales (Cavestany, comunicación personal).

Dentro de estos grupos hormonales tenemos aquellos que tienen su acción sobre la vida del cuerpo lúteo (prostaglandinas) y por consiguiente la secreción de P4, también tenemos las que ejercen su acción sobre la fase folicular (estrógenos, GnRH y FSH). También existen

los llamados análogos que dentro de este grupo las más utilizadas son PMSG (eCG) con acción FSH como también LH y la hormona hCG con acción LH ejerciendo su efecto sobre el control de la ovulación.

Cuando se utiliza la sincronización de celos u ovulaciones se acortan los períodos de servicio y de partos, se incrementa la uniformidad de las crías y se aumentan las posibilidades de usar la IA como una herramienta de utilización de genética de alto valor (Larson y col., 2006).

En vaquillonas tanto para producción de leche como para producción de carne, la limitante en la baja detección de celos y en la sincronización de éstos, originaron el desarrollo de diferentes estrategias para obtener la mayor cantidad de animales inseminados en el menor tiempo posible (Silcox y col., 1995; Pursley y col., 1995; Geary y col., 2001). Los porcentajes de preñez que se obtienen en vacas con cría luego de realizar una IATF promedian el 50%, valores similares pueden obtenerse cuando los protocolos son utilizados en vaquillonas, aunque en esta categoría sería esperado un mayor porcentaje de preñez (Cledou y col., 2006). Datos de análisis de resultados de programas de IATF indican que es posible obtener porcentajes de preñez promedio del 50% a primo inseminación, tanto en vacas con cría al pie como en vaquillonas Bos Taurus de dos años de edad (Cutaia y col., 2003).

La comparación realizada en vaquillonas utilizando un programa de IATF (IATF el primer día y repaso con IA y toros) o un programa de inseminación artificial (IA por 42 días y luego repaso de toros) permitió demostrar que se logra un mayor porcentaje de preñez acumulada en los protocolos de tiempo fijo así como un mayor peso (13,6 kg) de los terneros al destete (de Nava y col., 2008).

Dada la importancia de la IATF en la producción animal es que nos propusimos investigar diferentes posibilidades en la sincronización de la ovulación en vaquillonas de carne y así obtener datos objetivos de la utilización de dispositivos con diferente cantidad de P4 y su impacto en el porcentaje de preñez esperado, así como el porcentaje de celos prematuros antes de la IATF.

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Ciclo estral bovino

Luego de alcanzada la pubertad la hembra bovina entra en un período de ciclicidad reproductiva que continúa durante toda su vida, esta ciclicidad es la que conocemos como el ciclo estral de los animales (Senger, 2003).

El ciclo estral consiste en una serie de eventos reproductivos predecibles que comienzan en el estro y terminan en el estro siguiente. Se continúan a lo largo de la vida adulta y son interrumpidos por la gestación, lactancia, nutrición inadecuada o cuando las condiciones ambientales son estresantes. Condiciones patológicas del tracto reproductivo como infecciones uterinas y momificación fetal también pueden causar anestro, período en el cual la ciclicidad se ve interrumpida. El ciclo estral provee a las hembras repetidas oportunidades para quedar gestadas. La receptividad sexual y copulación son los eventos conductuales principales que ocurren durante el estro. La copulación generalmente ocurre temprano en el ciclo estral. Si no ocurre la concepción comienza otro ciclo estral, proporcionándole a la hembra otra oportunidad para concebir. (Senger, 2003).

En las vaquillonas la duración del ciclo estral es de 20 días y de 21 en vacas, con rangos normales de 18 a 22 y 18 a 24 respectivamente. La ovulación es espontánea y ocurre generalmente 12 horas luego de finalizado el estro (Arthur, 1991).

Los ciclos estrales en las diferentes especies se clasifican de acuerdo a la frecuencia con que ocurren a lo largo del año; siguiendo ésta clasificación la vaca se encuentra entre las especies poliéstricas continuas (Senger, 2003).

Roberts (1979), divide el ciclo estral en dos períodos: fase folicular (o estrogénica) y fase luteínica (o progesterónica) (Figura 1). Esta división se basa en las principales estructuras presentes en el ovario durante cada fase (Senger, 2003). La fase folicular comprende el período que va desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación, en general es relativamente corta abarcando un 20% del ciclo estral (Senger, 2003). Durante la misma se produce el desarrollo folicular, la ovulación, y comienza la organización del folículo que ovuló en un nuevo cuerpo lúteo (Ungerfeld, 2002), siendo los estrógenos las hormonas predominantes (Senger, 2003). La fase luteal abarca el período desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo. Esta fase tiene una duración mayor que la ya definida fase folicular, ocupando el 80% del ciclo estral. Durante esta fase la estructura predominante en el ovario es el cuerpo lúteo y la principal hormona reproductiva la P4 (Senger, 2003). Otros autores subdividen estos dos períodos en cuatro fases: Estro: día 0, Metaestro: días 1 al 3, diestro: días 4 al 18 y proestro: desde el día 19 al inicio del estro, basándose en la presencia de estructuras ováricas (folículos, cuerpos lúteos) cambios uterinos, vaginales y de conducta manifiestos (McDonald, 1991) (Figura 1). El proestro es el periodo de crecimiento folicular rápido bajo estimulación gonadotrópica. La conducta del animal

responde al incremento progresivo de los niveles de estrógenos secretados por los folículos en desarrollo. Hay una disminución progresiva de los niveles de P4 debido a la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior (McDonald, 1991). El útero esta agrandado, el endometrio se vuelve congestivo y edematoso y hay un aumento de la actividad secretoria de las glándulas. La mucosa vaginal se vuelve hiperémica. Los signos externos se caracterizan por edema vulvar e hiperemia. (Arthur, 1991). El estro es el período caracterizado por el deseo sexual y la aceptación del macho por la hembra (Roberts, 1979). Su duración tiene una media de 18 horas, con un rango de 6 a 24 horas (Ungerfeld, 2002). En sistemas pastoriles como el nuestro, la duración de celos tiene un promedio de $13,5 \pm 2,0$ horas con un máximo de 31,7 y un mínimo de 4,7 horas. Las vaquillonas tienen periodos de celos más cortos que las vacas pero con sintomatología más intensa, los signos secundarios de celo comienzan antes en estas que en las vacas. La duración de los signos de celo es mayor en vacas en pastura que en confinamiento (Cavestany, comunicación personal). El estradiol secretado por el folículo dominante en esta etapa provoca cambios en el tracto genital femenino (Roberts, 1979). Las glándulas del útero, cérvix y vagina secretan abundante cantidad de moco. El epitelio vaginal y el endometrio están hiperémicos y congestionados, y el cérvix se encuentra dilatado. En la vaca la ovulación se produce de manera espontánea unas 12 horas después de finalizado el estro (metaestro) (Arthur, 1991). El metaestro es la fase inmediata posterior al estro, es el periodo entre la ovulación y la formación del cuerpo lúteo funcional; también considerada la transición entre la dominancia de los estrógenos y la dominancia de la P4, ya que durante el metaestro temprano, ambas hormonas se encuentran bajas, comenzando a predominar luego la segunda de ellas. Durante ésta etapa las células foliculares se transforman en células luteales (luteinización) (Senger, 2003). El período de máxima función luteal y secreción de P4 corresponde al diestro (Senger, 2003), esta es la fase del ciclo en la cual el cuerpo lúteo se desarrolla de manera total, llegando al tamaño maduro hacia el día 7 del mismo, y los órganos reproductores se encuentran bajo la influencia dominante de la P4. Esta es la fase más larga del ciclo estral, con una duración de 16 a 17 días en la vaca (McDonald, 1991). En esta fase desaparece la hiperplasia e hipertrofia de las glándulas uterinas y el cuello uterino se contrae. Las secreciones del aparato genital son escasas y pegajosas. La mucosa vaginal se vuelve pálida (Arthur, 1991).

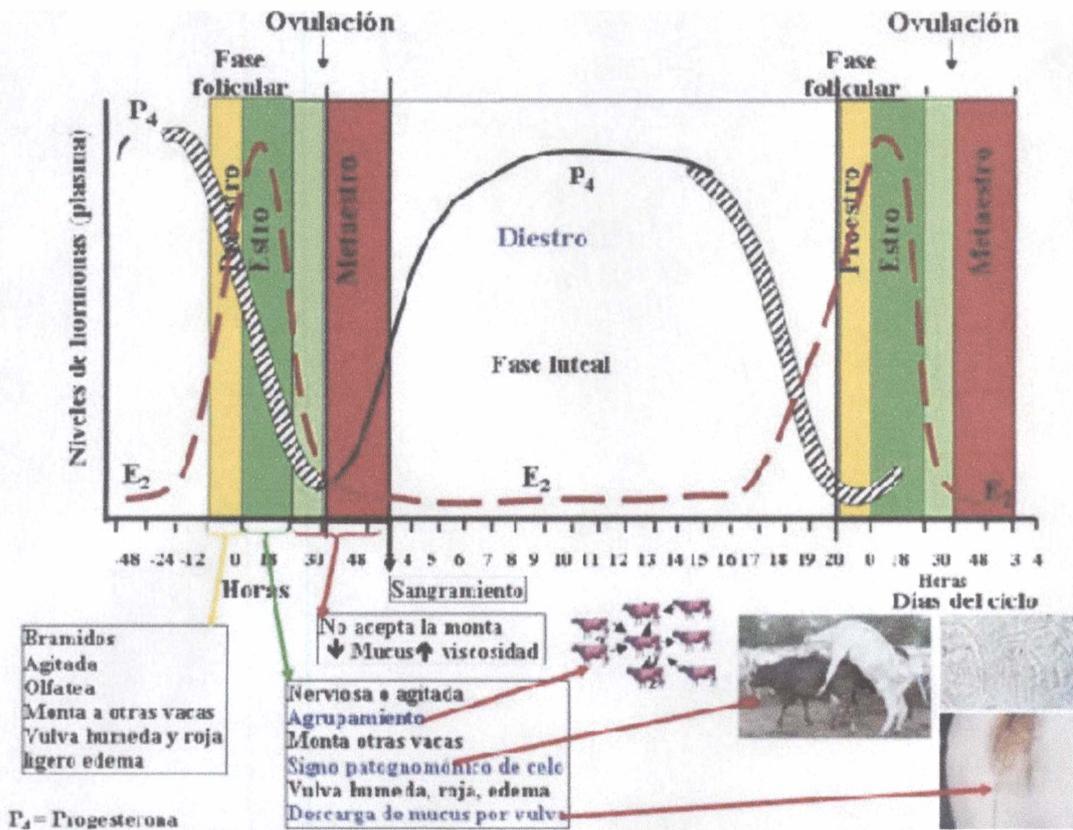


Figura 1: Fisiología del ciclo estral bovino (Fuente: Reineri, INTA, 2007)

Control neuroendocrino del ciclo estral

El ciclo estral está regulado por una interacción hormonal regida por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero (H-H-O). Las complejas interacciones entre las hormonas del eje H-H-O y el útero involucran un mecanismo de control positivo y negativo para mantener el ciclo estral de la vaca. Las principales hormonas secretadas por esas estructuras son la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), el estradiol (E2), la progesterona (P4) y la prostaglandina F2 (PG) (Hafez, 1989; Arthur, 1991).

Hipotálamo

Controla la liberación de las gonadotropinas de la hipófisis anterior mediante la acción de sustancias específicas liberadoras e inhibidoras. Estas son secretadas por las neuronas hipotalámicas y transportadas desde la eminencia media del hipotálamo hasta la hipófisis por el sistema portal hipotálamo-hipofisario (Arthur, 1991). La GnRH, en la eminencia

media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisario y de aquí a las células de la adenohipófisis en donde su función es estimular la síntesis y secreción de las hormonas hipofisarias, FSH y LH (Hafez, 1989).

Hipófisis

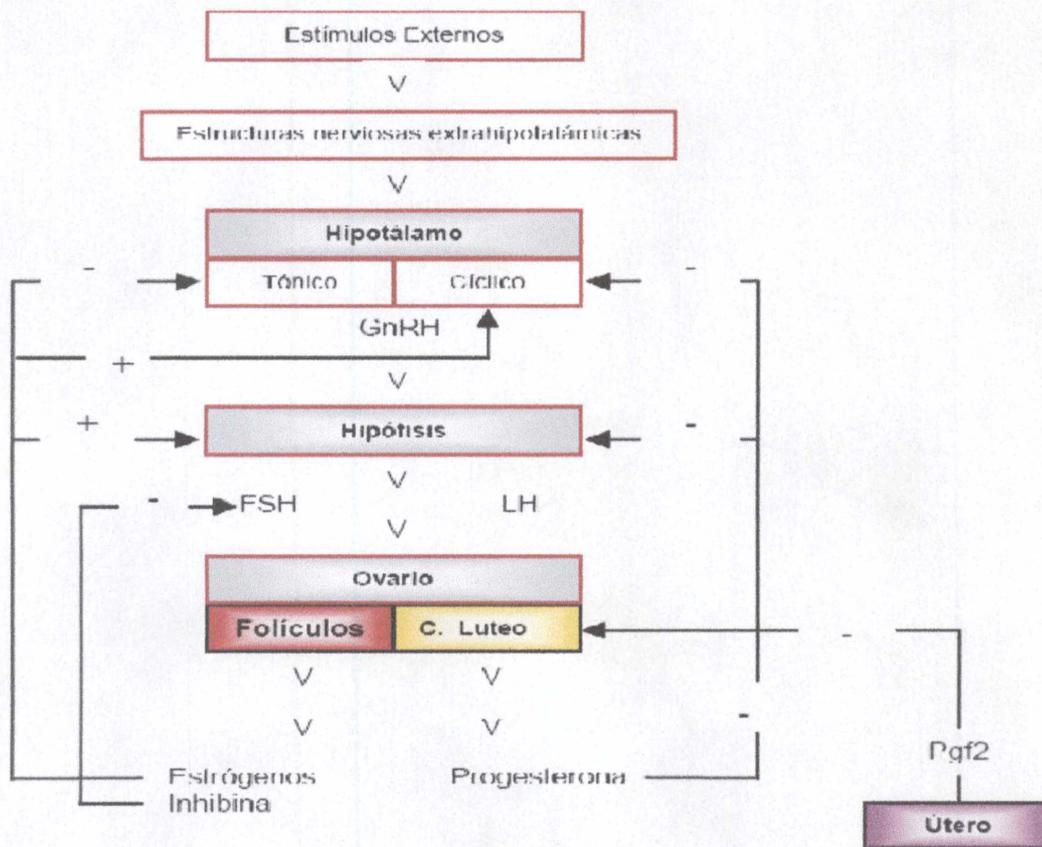
Está formada por una parte anterior o adenohipófisis y una posterior o neurohipófisis. La adenohipófisis secreta 3 hormonas gonadotropicas que son la foliculo estimulante (FSH), luteinizante (LH) y prolactina, todas con acción primaria sobre las gónadas (Hafez, 1989). Tanto la FSH como la LH, son secretadas por células basófilas de la pituitaria anterior (Morrow, 1986). La FSH es la responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular y la LH interviene en el proceso de esteroidogénesis ovárica, ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Estas hormonas son secretadas a la circulación en forma de pulsos y son reguladas por dos sistemas, el tónico y el cíclico. El sistema tónico produce el nivel basal circulante, siempre presente, de hormonas hipofisarias las cuales promueven el desarrollo de los elementos germinales y endocrinos de las gónadas. El sistema cíclico opera más agudamente, siendo evidente por solo 12 a 24 horas en cada uno de los ciclos reproductivos de la hembra. El modo cíclico tiene por función primaria causar la ovulación (Hafez, 1989; Arthur, 1991).

Ovarios

Son glándulas exocrinas (liberan óvulos) y endocrinas (secretan hormonas). Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar a los estrógenos, la P4 y la inhibina. Los estrógenos, hormonas esteroideas, son producidos por el foliculo ovárico y tienen acciones sobre los distintos órganos blanco como son las trompas de Falopio, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, en el cual estimulan la conducta de celo y el hipotálamo donde ejercen un "feedback" negativo sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico. La P4, hormona esteroidea, es producida por el cuerpo lúteo por acción de la LH. Los efectos de la P4 se observan después que el tejido blanco ha estado expuesto durante cierto tiempo a la estimulación de los estrógenos. Esta preparación por los estrógenos conduce a un efecto sinérgico. Esta hormona prepara el útero para el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un efecto feedback negativo sobre el centro tónico. La inhibina, hormona proteica, es producida por el foliculo ovárico (células granulosas) e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH. Ejerce un feedback negativo a nivel hipofisario, produciendo una menor secreción de FSH (Hafez, 1989; Arthur, 1991).

Útero

El útero libera PG que juega un rol importante en la regulación de la vida del cuerpo lúteo; la regresión del cuerpo lúteo (luteolisis) es un evento clave responsable de la ciclicidad ovárica (Ungerfeld, 2002).



Callejas, S., 1995.

Figura 2: Esquema simplificado de las interrelaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero. Modificado de Callejas, S., 1995.

Hormonas que regulan el ciclo estral

GnRH

Schally y col. (1971) y Amoss y col. (1971), describieron por primera vez la identidad y estructura del decapeptido GnRH. La síntesis y secreción de la GnRH establece la interface crítica entre los sistemas endocrino y nervioso que controlan la reproducción.

En el hipotálamo existen dos centros liberadores de GnRH, el centro tónico y el centro cíclico. El centro tónico es el responsable de la secreción basal de la GnRH; las neuronas de

éste centro liberan pequeños episodios de la hormona de forma pulsátil y continúa durante toda la vida reproductiva del animal. El centro preovulatorio (cíclico) es el responsable de la liberación preovulatoria de GnRH que estimula el pico de LH, causando la ovulación. Este centro libera niveles basales de GnRH hasta que recibe un estímulo positivo apropiado, cuando los estrógenos llegan a un umbral determinado en ausencia de P4, lográndose la liberación preovulatoria de GnRH (Senger, 2003). Cada centro tiene diferentes sensibilidades al feedback positivo y negativo. El centro cíclico es más sensible al feedback positivo que producen los estrógenos, mientras que el centro tónico lo es frente al feedback negativo ejercido por la P4; el porqué de esta sensibilidad es tema de investigación aún (Senger, 2003).

La GnRH ejerce su acción biológica a nivel hipofisario, estimulando la secreción de LH y FSH, produciendo la ovulación y luteinización de los folículos.

En bovinos con un folículo dominante en crecimiento (al menos 10 mm de diámetro), el tratamiento con GnRH induce la ovulación con la emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 2 días después del tratamiento (Thatcher y col., 1993; Pursley y col., 1995; Martínez y col., 1999).

Hormonas gonadotropicas

Las gonadotrofinas, como su nombre lo indica, juegan un rol fundamental en la estimulación de las gónadas; son los principales mediadores del sistema nervioso central sobre las actividades endocrinas y gameto génicas de las gónadas. Las células de la hipófisis anterior que secretan gonadotrofinas son conocidas como gonodotropos, siendo células identificables como basófilas (Ungerfeld, 2002).

El reclutamiento de ondas foliculares y la selección de un folículo dominante se realizan sobre la base de la respuesta diferencial a la FSH y la LH (Ginther y col., 1996). Los picos en las concentraciones de FSH en plasma (Adams y col., 1992) son seguidas, 1 ó 2 días más tarde, con la emergencia de una nueva onda folicular. Luego la FSH es suprimida por productos de los folículos en crecimiento (Ej. estradiol e inhibina). En cada onda, el folículo que primero adquiere receptores de LH se convierte en el folículo dominante, mientras que los subordinados (que siguen dependiendo de la FSH) sufren atresia (Adams y col., 1993; Adams y col., 1998). La supresión de la LH, como consecuencia de la secreción de P4 del cuerpo lúteo (CL) termina causando que el folículo dominante interrumpa sus actividades metabólicas lo cual lleva a la regresión, a un nuevo pico de FSH y a la emergencia de una nueva onda folicular (Adams y col., 1993).

La regresión luteal permite que aumente la frecuencia de pulsos de LH. El crecimiento del folículo dominante aumenta y se eleva la concentración de estradiol lo cual resulta en una retroalimentación positiva del eje hipotalámico hipofisario, un pico de LH y la ovulación (Wiltbank, 1997).

Hormonas ováricas

El ovario produce dos hormonas esteroides importantes, estradiol 17β y P4, las cuales ocasionan cambios en el tracto genital y en algunas otras partes del cuerpo (Mc Donald, 1991). Además de las hormonas esteroides, el ovario participa en la secreción de factores peptídicos, como el inhibidor de maduración del ovocito (OMI), la inhibina y la relaxina (McDonald, 1991).

Estrógenos

Los estrógenos se producen en la teca interna y las células de la granulosa del folículo ovárico con el control sinérgico de la FSH y la LH. Las principales funciones fisiológicas del estradiol 17β y de los estrógenos en general son el desarrollo y mantenimiento de la estructura funcional de los órganos sexuales de la hembra así como los caracteres sexuales secundarios (Mc Donald, 1991). Son responsables del comportamiento estral, aunque pequeñas cantidades de P4 o una pre exposición a la misma (Priming) potencializa su efecto. Inducen los cambios en el tracto tubular requeridos para el apareamiento exitoso y el transporte de los gametos (Morrow, 1986).

Muchas respuestas tisulares importantes son estimuladas por estrógenos; estimulan la receptividad sexual, regulan la secreción de gonadotrofinas, estimulan el inicio de la secreción de prostaglandinas, promueven el crecimiento de las glándulas endometriales y de los ductos de la glándula mamaria, estimulan la actividad secretoria en el oviducto, frenan el crecimiento de los huesos largos, promueven al anabolismo proteico y tienen actividad epitelio-trófica (Ungerfeld, 2002).

Progesterona

La P4 es producida por el cuerpo lúteo del animal cíclico y por el cuerpo lúteo y la placenta durante la gestación, siendo necesaria para el mantenimiento de la preñez. En los animales cíclicos la fuente de P4 son las células luteínicas del cuerpo lúteo (McDonald, 1991).

Las concentraciones plasmáticas de la P4 comienzan a elevarse desde el día 4 del ciclo, alcanzan un pico alrededor del día 8 y permanecen altas hasta el día 17; luego adquieren niveles basales antes del próximo estro y ovulación (Peters y Ball, 1991).

Coordina el ciclo estral a través del feedback negativo sobre la secreción de LH. Suprime la actividad miometrial, promueve la secreción de “leche” uterina por las glándulas endometriales, bloquea las manifestaciones de celo y permite la implantación del embrión en el útero. Actúa sinérgicamente con los estrógenos para promover el crecimiento uterino y mamario (Morrow, 1986).

La administración exógena de esta hormona suprime el estro y la ovulación; actuando como un “cuerpo lúteo artificial”. Cuando los niveles de ésta descienden la vaca entra en proestro y estro 2 ó 3 días después (Senger, 2003).

Inhibina

Es una hormona proteica de origen gonadal que juega un rol importante en la regulación de la secreción de FSH. La principal fuente de inhibina en la hembra es la granulosa de los folículos en crecimiento. Esta provoca un feedback negativo sobre la liberación de FSH.

Es capaz de inhibir selectivamente la liberación de FSH a partir de la hipófisis, sin alterar la liberación de LH (Hafez, 1989).

Hormonas uterinas

Prostaglandinas

Las prostaglandinas son ácidos grasos hidroxilados, no saturados de 20 carbonos. Son sintetizados en varios tejidos, y tienen una gran variedad de funciones. El ácido araquidónico es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular la PGF_{2α} y la PGE (Hafez, 1989), las cuales son producidas en el útero (McDonald, 1991).

La PG en la vaca actúa a nivel local por transferencia, difusión o algún otro medio, desde la vena útero-ovárica hacia la arteria ovárica (Mc Donald, 1991). Otros autores sostienen que en la vaca la PG es transportada desde el útero al ovario a través de un mecanismo vascular a contracorriente, entre la vena uterina y la arteria ovárica (Senger, 2003). Este mecanismo es de gran importancia para permitir concentraciones altas en el ovario dada la rápida metabolización de la hormona al ingresar en la circulación general (Ungerfeld, 2002).

La PG es liberada por el útero y juega un rol importante en la regulación de la vida del cuerpo lúteo; la regresión del cuerpo lúteo (luteolisis) es un evento clave responsable de la ciclicidad ovárica (Ungerfeld, 2002). La capacidad de la PG para inducir luteolisis ha sido explotada extensivamente como una herramienta para manipular el ciclo estral de los animales domésticos (Morrow, 1986).

Pubertad

En hembras bovinas la pubertad puede definirse como la adquisición de la capacidad para reproducirse, en tanto la pubertad no debe ser interpretada como un evento aislado siendo caracterizada como la etapa final de muchas alteraciones fisiológicas y morfológicas que

culmina con la capacidad de concebir y mantener la gestación. Siendo así una definición interesante para la pubertad, sería la primera ovulación fértil acompañada de una fase luteal de duración normal (Sá Filho, 2006).

La edad a la pubertad es una característica de producción fundamental en bovinos. En razas de carne seleccionadas para precocidad sexual, las vaquillonas pueden llegar a la pubertad con edades de entre 13 y 15 meses. En sistemas intensivos de producción de leche o de carne las vaquillonas deben presentar el primer parto dentro de los 25 meses de edad. El atraso de la ocurrencia del primer parto acarreará importantes pérdidas económicas (Souza y col., 1995).

Son muy amplias las diferencias que se pueden encontrar entre razas e incluso dentro de una misma raza, con respecto a la edad y el peso con que un determinado individuo alcanza la pubertad. Teniendo en cuenta que el efecto de la edad y el peso pueden ser minimizados por el efecto de las condiciones ambientales y de manejo, es muy difícil establecer unos parámetros e incluso poder llegar a comparaciones entre razas (de Nava, comunicación personal).

Desde un punto de vista práctico la interferencia de estos factores en el comienzo de la pubertad hay que considerarla en el sentido de cuál es el peso y la edad mínima necesaria para que una determinada raza sea susceptible de alcanzar la pubertad, y se considera que esta se obtiene en el 65% del peso adulto en todas las especies. Otros autores sostienen que la pubertad se alcanza aproximadamente cuando en el animal se obtiene un 50% del peso total del adulto, en las novillas de razas cárnicas, mientras que en las novillas de actitud lechera la edad tiene lugar entre el 45–55% del peso adulto. Es decir el peso de las novillas frisonas en el momento de la pubertad está comprendido entre 240 y 260 kg, en la Hereford entre 260 y 300 kg y en las Aberdeen Angus entre 230 y 250 kg. Aunque la pubertad está relacionada con el peso en algunas especies y con la edad en otras, en el bovino el peso y la edad son importantes en la determinación de la pubertad. La edad puede ser un modulador importante en la determinación del inicio de la pubertad en novillas para carne y en general, en todas las especies de animales, la pubertad se adelanta al desarrollo corporal, dando a entender que las hembras pueden multiplicarse antes de que sus órganos estén en plenitud de su capacidad para la producción y reproducción (Araujo Guerra, 2004)

La madurez sexual es definida como la edad en que un animal llega a su máximo potencial reproductivo. Esta madurez sexual es evidenciada por el aumento de la incidencia de manifestación de celos y de la fertilidad (Byerley y col., 1987). Generalmente son necesarios dos a tres ciclos estrales con fases luteales normales (40 a 60 días pos pubertad) para que la hembra bovina adquiera madurez sexual, capacidad de concebir y llevar la gestación a término (Santos y Sá Filho, 2006).

Santos y Sá Filho 2006, observaron que vaquillonas servidas en el primer ciclo post pubertad presentaron menor tasa de concepción en comparación con vaquillonas servidas en el tercer ciclo. La fertilidad de vaquillonas ciclando sometidas a monta natural o a IATF en el inicio de la estación reproductiva parece ser dependiente de la cantidad de ciclos estrales que esas vaquillonas presentaron previamente.

Ondas Foliculares

El proceso de crecimiento y degeneración de folículos, conocido como dinámica folicular, ocurre continuamente durante todo el ciclo estral (Senger, 2003) y es independiente de la fase del ciclo (Arthur, 1991).

Una onda folicular consiste en la emergencia sincrónica de un grupo de folículos antrales con un diámetro de 4-5 mm. Un folículo (dominante) se selecciona mientras el resto de los folículos (subordinados) se vuelven atrésicos (Ginther y col., 1989). Los ciclos estrales en bovinos están compuestos de 2 ó 3 ondas foliculares. Tanto en ciclos de 2 ondas como en los de 3, la emergencia de la primera onda folicular ocurre el día de la ovulación (día 0). En ciclos de 2 ondas, la segunda onda emerge los días 9 ó 10. En ciclos de 3 ondas, la segunda onda emerge los días 8 ó 9 y la tercera onda emerge los días 15 ó 16 (Figura 3). El ciclo estral tiene una duración entre 20 y 23 días en ciclos de 2 y 3 ondas respectivamente (por lo tanto, la duración “promedio” del ciclo de 21 días no es muy común).

El folículo dominante presente al momento de la luteólisis se convierte en el folículo ovulatorio y la emergencia de la siguiente onda folicular se retrasa hasta la próxima ovulación. Probablemente la proporción de bovinos con 2 y 3 ondas sea aproximadamente igual. Los bovinos alimentados con una ración baja en energía presentaron una mayor proporción de ciclos de 3 ondas que aquellos alimentados con una ración alta en energía (Murphy y col., 1991).

El reclutamiento de ondas foliculares y la selección de un folículo dominante se realizan sobre la base de la respuesta diferencial a la FSH y la LH (Ginther y col., 1996). Los picos en las concentraciones de FSH en plasma (Adams y col., 1992) son seguidas, 1 ó 2 días más tarde, con la emergencia de una nueva onda folicular. Luego la FSH es suprimida por productos de los folículos en crecimiento (Ej. estradiol e inhibina). En cada onda, el folículo que primero adquiere receptores de LH se convierte en el folículo dominante, mientras que los subordinados (que siguen dependiendo de la FSH) sufren atresia (Adams y col., 1993; Adams y col., 1998). La supresión de la LH, como consecuencia de la secreción de P4 del cuerpo lúteo (CL) termina causando que el folículo dominante interrumpa sus actividades metabólicas lo cual lleva a la regresión, a un nuevo pico de FSH y a la emergencia de una nueva onda folicular (Adams y col., 1993).

La regresión luteal permite que aumente la frecuencia de pulsos de LH. El crecimiento del folículo dominante aumenta y se eleva la concentración de estradiol lo cual resulta en una retroalimentación positiva del eje hipotalámico hipofisario, un pico de LH y la ovulación (Wiltbank, 1997).

Se ha demostrado que estas ondas de crecimiento folicular no ocurren únicamente durante el ciclo estral, sino también ocurren antes de la pubertad, durante la preñez, durante el anestro y el puerperio (Bó y col., 2000; Senger, 2003). Sin embargo estas ondas foliculares no producen folículos dominantes que produzcan altos niveles de estrógenos (Senger, 2003).

En vaquillonas y durante el posparto precoz de vacas multíparas parecen más frecuentes los ciclos ováricos con dos ondas, mientras que vacas adultas presentan habitualmente ciclos de tres ondas (Fernández Tubino, 2003).

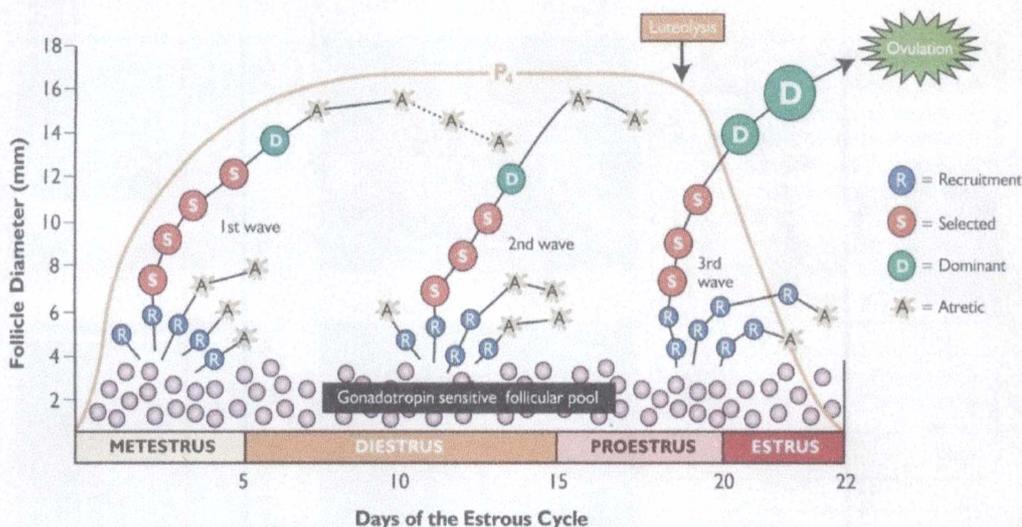


Figura 3: Ondas foliculares del ciclo estral de tres ondas (Fuente: Senger, 2003)

Ha quedado demostrado que los folículos dominantes de cualquier onda del ciclo son capaces de ovular, y lo que es igualmente importante, que la fertilidad sub siguiente a la ovulación de cualquiera de estos folículos es muy similar (Fernández Tubino, 2003).

Sin embargo estudios realizados indican que el tamaño del folículo ovulatorio en el momento de la inseminación influye significativamente en los porcentajes de preñez y en la mortalidad fetal o embrionaria luego de una IATF en vacas pos parto, pero no hay efecto en los porcentajes de preñez cuando estas vacas ovulan espontáneamente.

Perry y col., (2007), realizaron un ensayo donde estudiaron las relaciones entre el tamaño del folículo ovulatorio y la preñez en vaquillonas de carne. El objetivo del mismo fue evaluar las relaciones entre la fertilidad y la mortalidad embrionaria fetal con el tamaño del folículo pre ovulatorio y las concentraciones circulantes de estrógenos antes de inducir la ovulación o cuando esta es espontánea en vaquillonas de carne. Las vaquillonas fueron inseminadas en 1 de 2 grupos: los animales del grupo 1 (n=98), fueron IATF después de sincronizar el estro e inducir la ovulación. Para esto se usó un protocolo en el cual los animales recibieron en el día 0 GnRH, en el día 7 PG, se detecta celo e insemina por 48 h; a las no inseminadas se les administra una segunda dosis de GnRH seguida de IATF (Cosynch). Los animales del grupo 2 (n=110), fueron inseminados (IA) 12 h luego de detectado el celo (Detector electrónico de monta), esto se realizó en un periodo de 23 días. Se estudió la relación entre el tamaño folicular al momento de la inseminación artificial, el porcentaje de preñez y viabilidad embrionaria al día 27, 41, 55 y 68 pos IA. Los resultados demostraron que el máximo porcentaje de preñez fue de $68 \pm 4,9\%$, esto se obtuvo con un folículo de 12,8 mm. Cuando la ovulación fue de folículos menores a 10,7 mm o mayores a 15,7 mm era menos probable ($P < 0,05$) que mantuviera la preñez que folículos de 12,8 mm. Hubo un 28% de vaquillonas que presentaron folículos menores a 10,7 mm y 4% de las mismas tuvieron folículos mayores a 15,7 mm.

Los efectos de la concentración de estrógenos y el comportamiento de celo en el porcentaje de preñez aparentan estar mediados a través del tamaño del folículo ovulatorio. Medidas de manejo para optimizar el tamaño del folículo ovulatorio mejoran la fertilidad (Perry y col., 2007).



Manejo Farmacológico del Ciclo Estral

El control de los eventos reproductivos puede lograrse a través de la administración farmacológica de agentes biológicos activos, los cuales están basados o son hormonas naturales que la hembra bovina produce y libera en diferentes momentos de su ciclo estral (Cline, 2002).

La sincronización de celos y ovulaciones permite aumentar la cantidad de vacas en estro en un periodo menor de tiempo (Cavestany y Foote, 1985). Esto reduce el tiempo requerido para su detección o en algunos casos hace posible la inseminación en un momento fijo sin la detección del estro (Hafez, 1989).

El control preciso de la ovulación permite realizar la inseminación artificial a tiempo fijo sin necesidad de detección de celos (Thatcher y col., 2001). 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 los celos no detectados; y mejorar la eficiencia de la inseminación artificial (Cavestany, 2002). Para que tengan aplicación práctica no deben ser costosos y deben alcanzar una buena respuesta en términos de fertilidad (Cavestany, comunicación personal)

Un tratamiento de sincronización de la ovulación adecuado, debe contemplar tanto la funcionalidad del cuerpo lúteo como el desarrollo folicular, permitiendo así regular el momento de la ovulación de un folículo de buena calidad (Viñoles y Cavestany, 2000).

El uso de las prostaglandinas en la sincronización de celos

La inyección de PG es una manera de inducir la regresión del cuerpo lúteo de una forma similar al proceso normal. La tasa de concepción de este método es similar a la del celo natural (en comparaciones dentro de cada rodeo) (Cavestany, 2002).

Se basa en la capacidad de las prostaglandinas para provocar la regresión morfológica y funcional del cuerpo lúteo del ciclo; como consecuencia de su acción solo se pueden aplicar en animales cíclicos y durante la fase luteal del ciclo. La falta de respuesta plena (periodo refractario) de las vacas durante los días 1 a 5 del ciclo se explica porque todavía no existe en el ovario un cuerpo lúteo plenamente funcional. La aplicación de PG a partir del día 17 del ciclo, día en que se produce la lisis espontánea del cuerpo lúteo por PG endógena, va seguida de un celo normal, que habría ocurrido igualmente de no haber aplicado PG exógena (Fernández Tubino, 2003). Su respuesta depende de la presencia de un cuerpo lúteo funcional (día 7 a 16 del ciclo estral) y varía de acuerdo al día del ciclo en que se aplique, debido a la ocurrencia de ondas foliculares durante el mismo (Sirois y Fortune, 1988; Lucy y col., 1992).

Cuando se induce la luteólisis con un tratamiento de PG, el comienzo del estro se distribuye en un periodo de 6 días (Seguin, 1987).

Presentación de celo con tratamiento a base de PG

Animales tratados con PG entre los días 5 y 10 del ciclo; se producirá la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y los animales presentaran celo sobre todo al día 3 del tratamiento, habrá cierta dispersión en la salida a celo debido al diferente tamaño del folículo dominante en el momento del tratamiento.

Animales tratados con PG entre los días 11 y 13 del ciclo; en este caso la presentación de celos se produce con mayor dispersión que en el caso anterior, ya que habrá algunos animales en los que la ovulación se produce a partir del folículo dominante de la primer onda (presentan celo el tercer día pos tratamiento) y en cambio, otros animales ovularán a

partir del folículo dominante de la segunda onda (celos observados entre días 4 y 5 pos tratamiento).

Animales sincronizados con PG entre los días 14 y 16 del ciclo: los celos consecutivos a estos tratamientos se concentran al día 3 pos tratamiento debido a que normalmente ovula el folículo dominante de la segunda onda folicular (Fernández Tubino, 2003).

Protocolos con dosis única de PG

La utilización del tratamiento con una dosis de PG permite ahorrar la mitad del sincronizante empleado que en los tratamientos convencionales con dos inyecciones. El porcentaje de respuesta, tras una sola inyección de PG entre los días 7 a 16 es de 60 a 70% (Cavestany, 2002)

Dentro de estos tenemos:

- Inyección de PG a la totalidad del rodeo, detección de celo e IA durante 6 días (60 a 70% de respuesta)
- Palpación rectal e inyección de PG a los animales que presenten cuerpo lúteo y luego detección de celo e IA por 6 días.
- Detección de celos e IA durante 6 días, inyección de PG y detección de celos e IA por 6 días más.

Protocolos con doble dosis de PG

Doble aplicación de PG en la totalidad de los animales: utilización de dos dosis de hormona aplicada con un intervalo de 11 a 14 días. Con la primera aplicación en rodeos que están ciclando se obtiene una respuesta del 60%. Con la segunda aplicación de PG se introduce en estro al resto de los animales. A partir de las 48 h de la segunda inyección se comienza a detectar celo e inseminar por 2 a 3 días (Becaluba, 2006).

Doble aplicación de PG con inseminación después de la primera y segunda dosis: este método consiste en una variante del procedimiento descrito anteriormente, utilizado para inseminar vacas que entran en celo después de la primera aplicación de PG. Los animales son observados después de la primera aplicación por 96 h e inseminados. Los que no se detectaron en celo, reciben una segunda dosis de PG y son inseminados cuando demuestran el celo, que se da la mayoría de las veces entre las 48 y 96 h (Becaluba, 2006).

El uso de la GnRH en la sincronización de celos

En bovinos con un folículo dominante en crecimiento (al menos 10 mm en diámetro), el tratamiento con GnRH induce la ovulación con la emergencia de una nueva onda folicular

aproximadamente 2 días después del tratamiento (Thatcher y col., 1993; Pursley y col., 1995; Martínez y col., 1999), mientras que si es administrada antes de la dominancia parecería no afectar el progreso subsecuente de la onda, presumiblemente por la falta de receptores de LH en las células de la granulosa de los folículos en crecimiento (Diskin y col., 2002).

Combinación de GnRH y PG en animales ciclando

Protocolos

Select Synch

GnRH-PG: inyección de GnRH y 7 días más tarde una inyección de PG con posterior detección de celo por 96 h e IA (Cavestany, 2002).

Es usado para sincronizar el estro más que la ovulación, por lo que igual requiere 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 cuerpo lúteo 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 h de detectado el mismo (Thatcher y col., 2001). La mayoría de las vacas ciclando entran en celo luego de las 36 a 71 h después de la inyección de PG. Si no se realiza un programa de presinconización, algunas vacas pueden entrar en estro antes de la inyección de PG (Thatcher y col., 2001).

Ovsynch

GnRH-PG-GnRH: GnRH, a los 7 días PG y una segunda inyección de GnRH a las 48 h, con IATF aproximadamente 16 h más tarde (Pursley y col., 1997).

El protocolo Ovsynch ha sido mucho más eficaz en vacas lecheras en lactancia que en vaquillonas (Pursley y col. 1997; Martínez y col. 2000b). A pesar de que se desconoce la causa de esta discrepancia, la ovulación luego de la primera inyección de GnRH ocurrió en el 85% de las vacas pero sólo en el 54% de las vaquillonas (Pursley y col., 1997). Además, 19-20% de las vaquillonas mostraron estro antes de la inyección de PG, lo cual redujo dramáticamente la fertilidad a la IATF (Wiltbank, 1997).

Se ha demostrado que el estadio del ciclo estral al momento de inicio del programa Ovsynch afecta la tasa de preñez. Los animales en los que se inicia un programa Ovsynch entre los días 1 y 4 o los días 13 y 17 del ciclo tuvieron tasas de preñez mucho más bajas que los que se iniciaron en otros momentos (Ej. 20 vs. 50%, respectivamente) (Thatcher y col., 2000).

Atkins y col. (2008), evaluaron la respuesta folicular a GnRH en vaquillonas de carne ciclando en días específicos del ciclo estral. La respuesta se evaluó como la ovulación o luteinización de un folículo dominante y el posterior inicio de una onda folicular en respuesta a la GnRH. Estos autores observaron que las vaquillonas que reciben GnRH en los días 2, 10 y 18 del ciclo estral no ovulan más del 70% de los folículos dominantes, mientras que el 92% de las vaquillonas que reciben GnRH en el día 5 del ciclo ovulan.

Cuando se comienza el programa Ovsynch durante el metaestro, puede que el folículo dominante no responda al tratamiento inicial con GnRH y comience a sufrir atresia al momento aproximado en que se inyecta la PG. Los días 13 a 17, el folículo dominante de la segunda onda puede no ovular en respuesta al primer tratamiento con GnRH y ante la ausencia de ovulación, la PG endógena podría causar luteólisis y ovulación temprana del folículo dominante (en relación a la IATF) causando por lo tanto infertilidad.

Martínez y col. (1999), obtuvieron resultados que confirmaron que el tratamiento con GnRH provoca la ovulación del folículo dominante sólo en el 56% de las vaquillonas y por lo tanto, no induce de manera uniforme la emergencia de una nueva onda folicular. Esto resulta en bajas tasas de preñez en vaquillonas luego de la IATF.

En un experimento (Martínez y col., 2002), comprobaron que la presencia de un CIDR entre la primera inyección de GnRH y la inyección de PG superó el problema de las bajas tasas de preñez. El uso de un CIDR en un programa de 7 días tipo Ovsynch mejoró las tasas de preñez en vaquillonas tratadas con GnRH - CIDR alcanzando un 68% en comparación con el grupo control tratados con GnRH que fue de 39%. En conclusión, el uso de CIDR en protocolos Ovsynch mejoró significativamente las tasas de preñez en vaquillonas.

Una alternativa para aumentar los porcentajes de preñez en vaquillonas sería la detección de celo y la IA de aquellas vaquillonas que entran en celo antes. Sin embargo esta alternativa no mejora la preñez si se combina Ovsynch con el uso de CIDR (Tenhagen y col., 2006; Lamb y col., 2006).

Otra alternativa es la pre sincronización (descrita más adelante) antes de la primera inyección de GnRH (Bó y col., 2009).

Vacas en anestro no responden satisfactoriamente a protocolos de sincronización basados en combinaciones de GnRH y PG y sus porcentajes de preñez fueron menores que cuando se aplicó en vacas ciclando (Bicalho y col., 2007).

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 en que se administra la segunda inyección de

GnRH, con lo que se disminuye el movimiento del ganado a solamente 3 oportunidades (Geary y Whittier, 1999).

PreSynch

Consiste en dos inyecciones de PG con un intervalo de 14 días siendo la última inyección 12 días antes de la primera inyección de GnRH. Este programa de pre sincronización hará que las vacas se encuentren entre los días 5 y 12 del ciclo estral al momento del comienzo del protocolo Ovsynch, lo que resulta en mayor precisión de la sincronización, mayor porcentaje de concepción y por lo tanto de preñez (Moreira y col., 2000).

Se han investigado los efectos de la pre sincronización con PG antes de un protocolo Cosynch sobre la sincronía de celo, el cuerpo lúteo, los diámetros foliculares preovulatorios y la tasa de preñez luego de la IATF en vaquillonas de carne. La pre sincronización redujo la proporción de vaquillonas en celo antes de la IATF, lo cual sugiere que este enfoque podría ser útil en la aplicación exitosa de programas Cosynch u Ovsynch en vaquillonas.

Es importante al momento de iniciar la pre sincronización verificar que las vacas se encuentren ciclando ya que si no el tratamiento no será efectivo (Thatcher y col., 2001).

Una única dosis de GnRH 7 días previos al inicio de Ovsynch, es igualmente efectivo a dos dosis de PG dadas con intervalos de 14 días (Dejarnette y Marshal, 2003). La pre sincronización con GnRH también tiene la ventaja de ser potencialmente efectiva en vacas cíclicas y en anestro (Thompson y col., 1999; Stevenson y col., 2000).

El uso de la progesterona-progestágenos en la sincronización de celos

La Progesterona 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).

Estas hormonas suprimen el estro y la ovulación a través de la inhibición de la liberación de la hormona LH y la maduración de los folículos de Graaf (Larson y Ball, 1992), mediante un feedback negativo sobre el hipotálamo suprimiendo la GnRH (Senger, 2003). El cese de la actividad de la fuente exógena de P4 permite el aumento de la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH y el crecimiento de un folículo dominante que ovulará entre 48 y 72 h. después (Senger, 2003).

Una de las principales ventajas del uso de progestágenos para sincronizar el estro, con respecto a la PG es que ha 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 pos parto (Smith y col., 1979; Beal y Good, 1986; Anderson y Day, 1998); o en vaquillonas pre púberes (Anderson y col., 1996; Hall y col., 1997).

Los tratamientos largos con progestágenos (mayores a 14 días) permiten la regresión espontánea del cuerpo lúteo, y si bien resultan exitosos en lograr una alta sincronización de celos, el porcentaje de concepción disminuye; la razón de ello es un crecimiento folicular anormal (Lucy y col., 1992), que resulta en la formación de folículos persistentes, envejecidos al momento de la ovulación (Thatcher y col., 2001). Cuando el protocolo es iniciado durante la fase folicular del ciclo estral, la tasa de recambio folicular disminuye aún más, mientras que cuando el progestágeno es administrado durante la fase luteal del ciclo estral, la tasa de recambio aumenta, así como la tasa de preñez (Thatcher y col., 2001). Si el tratamiento se realiza al inicio del ciclo estral la fertilidad es normal, mientras que se ve disminuida cuando el tratamiento es iniciado en etapas tardías del ciclo (alrededor del día 11). Estos autores han descrito que cuando los tratamientos comienzan al inicio del ciclo estral el cuerpo lúteo existente podría sobrevivir al período de tratamiento con la P4 exógena llevando a una mala sincronización de los celos. Por esta razón es necesaria la incorporación de un agente luteolítico cuando se aplica un tratamiento corto de P4 para obtener una buena eficiencia en la sincronización y una fertilidad normal (Larson y Ball, 1992).

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 natural (Bó y col., 1998) o progestágenos (Medroxiprogesterona, MAP; Cavestany, 2000).

Dispositivos intravaginales

Existen diferentes tipos de dispositivos intravaginales comerciales los cuales contienen cantidades distintas de P4, como por ejemplo: CIDR (1,3 y 1,9 g de P4), CRONIPRES (0,500 g de P4), PRID (1,55 g de P4), DIB (1 g de P4), DISPOCEL (1 g de P4), etc. (Becaluba, 2006).

Combinación de progesterona y PG

La utilización de un dispositivo liberador de P4 durante 7 días provee suficiente P4 como para prevenir la aparición del estro. La inyección de PG al momento del retiro del implante causa la regresión del cuerpo lúteo presente, induciendo de esa manera la aparición de estro (Ficke y col., 1997).

Las vacas con altas concentraciones de P4 antes de la inyección de PG para sincronizar el estro tienen tanto una tasa de detección de celos mayor (Rosemberg y col., 1990), como una tasa de concepción más alta (Folman y col., 1990).

Lucy y col. (2001), realizaron un ensayo cuyo objetivo fue testear la eficacia de un dispositivo intravaginal de P4 y una inyección de PG para sincronizar el estro y acortar el

intervalo a la preñez en vaquillonas de carne. Los animales ($n=724$, con una edad de $442,5 \pm 2,8$ días) fueron divididos en tres grupos con diferentes tratamientos. El grupo control (G1) que no fue tratado, el grupo 2 (G2) tratado con PG y el grupo 3 (G3) tratado con P4 intravaginal (CIDR) por 7 días y a su vez PG en el día 6. Animales prepuberales que entraron en celo fue más alto en el G3 (71%) que en el G1 (54%) y el G2 (45%). Animales cíclicos que entraron en celo tuvieron valores similares para G1 (87%), G2 (88%) y G3 (92%). Las probabilidades para el tratamiento son $P<0,01$ y para el estado cíclico $P<0,001$. Para la concepción al primer servicio los porcentajes fueron, en pre púberes 56% (G1), 44% (G2) y 57% (G3) y en cíclicas 61%, 54% y 61% respectivamente con una $P \leq 0,10$ según tratamiento y $P \leq 0,10$ según estado cíclico. El porcentaje de preñez total para el periodo fue en pre púberes 31% (G1), 25% (G2), 50% (G3) y en cíclicas 64%, 56%, 69% respectivamente con una $P \leq 0,001$ entre tratamientos y $P<0,001$ según el estado cíclico. Las diferencias más importantes se obtuvieron en animales pre púberes tratados con CIDR + PG que entraron en celo en este período así como en el porcentaje de preñez de este mismo grupo, esto justificaría el beneficio de incluir P4 en esta categoría de animales. (Lucy y col. 2001).

Combinación de progesterona y GnRH

Un protocolo Ovsynch modificado con el agregado de un implante de Norgestomet entre el día 0 y 7 del mismo fue probado por Stevenson y col. (1997) en vacas de carne en anestro y ciclando, obteniendo una tasa de preñez de 62% y 59% respectivamente. Por lo tanto, al iniciar el protocolo Ovsynch en un ambiente alto en P4 se incrementa la fertilidad del tratamiento (Murugavel, 2003).

Siguiendo con las mejoras del protocolo Ovsynch, se estudió la utilización conjunta de GnRH con un dispositivo intravaginal de liberación lenta de P4, protocolo denominado "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).

Lamb y col. (2006), evaluaron si un protocolo de IATF podría producir porcentajes de preñez similares a un protocolo con detección de celo e IA. Las vaquillonas se dividieron en 4 grupos.

1. G1 ($n=516$): al día 0 se le coloca el CIDR por 7 días al retirar se administra PG seguido de detección de celo por 72 h e IA 12 h de detectado el celo, a las que no se detecta celo se les inyecta GnRH y 12 h después IATF.
2. G2 ($n=503$): el día 0 reciben CIDR + GnRH al día 7 se remueve el CIDR y se administra PG se detecta celo por 72 h e IA 12 h más tarde, a las que no se detecta celo se les inyecta GnRH y 12 h después IATF.

3. G3 (n=525): el día 0 reciben CIDR por 7 días y al removerlo se les administra PG, 60 h luego de la PG se inyecta GnRH e IATF.
4. G4 (n=531): el día 0 reciben CIDR + GnRH al día 7 se remueve el CIDR y se administra PG, 60 h más tarde se inyecta GnRH e IATF.

Se tomaron muestras de sangre para determinar el estatus ovárico en los días -17 y -7, el porcentaje de vaquillonas que se diagnosticó con actividad cíclica al inicio del tratamiento fue de 89%. La preñez para los diferentes grupos fue: 54,7% para el grupo 1 (G1), 57,5% para el grupo 2 (G2), 49,3% para el grupo 3 (G3) y 53,1% para el grupo 4 (G4). Aunque los porcentaje de preñez fueron similares entre grupos existe una tendencia ($P=0,065$) que el G2 tenga mayores porcentajes de preñez que el G3. Se concluye que el G2 tuvo porcentajes de preñez similar a protocolos que combinan detección de celo + IA e IATF.

También estos autores observan que el G1 y el G2 tuvieron similares porcentajes de estro en las 72 h pos PG. En el G1 y G2 el porcentaje de preñez de las que fueron detectadas en celo previamente fue de 60,9% y 63,4% respectivamente mientras que las que fueron IATF a las 84 h tuvieron preñeces de 36,8% (G1) y 38,9% (G2). Las vaquillonas que tuvieron protocolos de detección de celo + IA e IATF tuvieron mejores porcentajes de preñez (56%) que las asignadas a programas de IATF (51%) ($P<0,05$). Sin embargo los porcentajes de preñez en vaquillonas que recibieron GnRH al momento de colocación del CIDR (55%) fueron similares a las que no recibieron GnRH en el momento de la colocación del CIDR (52%).

El uso de los estrógenos en la sincronización de celos

Hay varios tipos de estrógenos que pueden ser utilizados, 17β estradiol, Benzoato de estradiol, Valerato de estradiol y Cipionato de estradiol. Cada uno tiene una estructura química diferente que lo llevará a diferencias en cuanto a la absorción y metabolismo en el organismo, de ahí que la concentración de estradiol circulante luego de una sola dosis de estrógeno depende del tipo y la dosis de estrógeno que se va a utilizar (Souza y col., 2005).

Combinación de Estrógenos con Progesterona

Según Diskin y col. (2002), el uso de estrógenos en conjunto con dispositivos de progestágenos, son utilizados para acortar la vida útil del cuerpo lúteo y terminar una onda folicular existente e inducir la emergencia de una nueva onda folicular.

Mediante experimentos Bó y col., (1995), concluyen que el tratamiento con progestágenos y estradiol- 17β o BE, administrados en cualquier momento del ciclo estral inducen el crecimiento sincrónico de una nueva onda folicular aproximadamente 4 días más tarde.

De esta manera se aumenta la precisión de la sincronización de celos, potenciando el pico de LH, a la vez que se refuerza la manifestación de celo después del tratamiento con P4 (Morrow, 1980).

Además los estrógenos al tener la capacidad de producir atresia folicular disminuyen la infertilidad en protocolos basados en P4 causada por el crecimiento y la ovulación de folículos viejos (Burke y col., 1999).

Bó y col., (2002a), realizaron un experimento en el que evaluaron el porcentaje de preñez de 4 protocolos, con o sin BE a las 24 h de remoción del CIDR. Se utilizaron 242 vaquillonas Aberdeen Angus de 15-17 meses de edad con un peso de 282 ± 23 kg con una condición corporal de 6-7 (escala del 1 al 9). Todas las vaquillonas recibieron un CIDR + 50 mg de P4 + 2 mg de BE en el Día 0. Los CIDR fueron removidos en el Día 7 en la mitad de las vaquillonas y en el Día 8 en el resto. Los grupos variaron en el momento de la inyección de PG y en el tratamiento con BE pos CIDR. Los animales del Grupo CIDR + BE recibieron PG a la remoción del CIDR y 1 mg BE 24 horas después, mientras que los del Grupo CIDR No BE recibieron PG en el Día 4 y no recibieron BE. Todas las vaquillonas fueron IATF a partir de las 50-52 horas de retirado los dispositivos. Los resultados de preñez para los distintos grupos fueron: 68,9% para el grupo CIDR 7 días + BE, 62,9% para el grupo CIDR 8 días + BE, 51,6% para el grupo CIDR 7 días y no BE y 53,3% para el grupo CIDR 8 días y no BE. ($P < 0,05$). Estos resultados confirman por un lado, la utilidad de administrar BE a las 24 horas del CIDR y por otro lado, que los esquemas de CIDR con 7 u 8 días resultan en porcentajes de preñez similares. Esta posibilidad tiene una gran aplicación práctica, ya que se puede tratar un grupo grande de vaquillonas un mismo día y después variar el retiro del CIDR para IATF en dos días distintos.

Chesta y col. (2006) (citado por Cutaia y col., 2007) diseñan un experimento para evaluar los porcentajes de preñez en vaquillonas de carne ciclando ($n=193$), utilizando dispositivos intravaginales con diferentes concentraciones de P4 (1 g y 0,53 g) en protocolos de sincronización de la ovulación e IATF. Se dividieron a los animales en 2 grupos que alternativamente en el día -9 recibirán dispositivos de 1 gr o de 0,53 gr de P4, al mismo momento se inyectó BE a todos los animales. En el día -2 se retiran los dispositivos y se aplica PG, en el día -1 se inyecta BE para realizar posteriormente IATF al día 0 (52 a 56 h de retirado los dispositivos). De dicho experimento se obtuvieron los siguientes resultados, con el dispositivo de 1 g se obtuvo 49% de preñez, mientras que con el dispositivo de 0,53 g se obtuvo 49,5% de preñez. Las tasas de preñez no difieren entre los tratamientos.

Callejas y col. (2007), estos autores realizaron un trabajo que estudió el uso de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de P4 para controlar el ciclo estral en vaquillonas Holando Argentino inseminadas a tiempo fijo. Realizaron 2 ensayos, en los cuales el dispositivo permaneció colocado por 7 días (E1) u 8 días (E2). Se utilizaron 103 vaquillonas (E1: 44; E2: 59) con una edad de 18 a 24 meses y una CC de 3-4 (Escala del 1 al 5). Las vaquillonas, dentro de cada ensayo fueron distribuidas aleatoriamente en 2 grupos: El grupo 1 recibió un dispositivo de 0,558 g, el día 0 se colocó el dispositivo y se administró BE; el día 7 (E1) u 8 (E2) se retiraron los dispositivos y se administró PG, el día

8 (E1) o 9 (E2) se inyectó BE y el día 9 (E1) o 10 (E2) se realizó IATF (50-52 h post dispositivo). El grupo 2 un dispositivo de 1 g, manejo ídem al grupo 1. Los resultados en el porcentaje de preñez fueron para el E1(7 días de P4), con dosis de 0,558 g 66,7% y con dosis de 1g 50%; para el E2(8 días de P4), con dosis de 0,558 g fue de 58,6% y con dosis de 1 g fue de 60%. El porcentaje de preñez no fue afectado por la dosis de P4 utilizada. ($P>0,05$). Estos autores llegaron a la conclusión de que la dosis de 0,558 g o 1 g de P4 utilizadas en un dispositivo intravaginal para controlar el ciclo estral son igualmente efectivos para preñar vaquillonas Holando luego de realizar una IATF.

Combinación de estrógenos, GnRH y PG

HeatSynch

Una inyección de GnRH seguida a los 7 días por una inyección de PG y una inyección de estradiol 24 horas después e inseminación 48 horas después. Es una variación del Ovsynch en donde la segunda inyección de GnRH es suplantada por estradiol (Kasimanickam y col., 2005).

La sustitución de la segunda dosis de GnRH por BE 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). Otra de las ventajas de usar el estradiol es que aumenta el tono uterino facilitando la inseminación y las manifestaciones del estro son más marcadas (Thatcher y col., 2001).

Combinación de progesterona, estrógenos, GnRH y PG

Martínez y col., (2000a), determinaron la respuesta en las manifestaciones de celo y el porcentaje de preñez utilizando CIDR + PG y BE o GnRH alternativamente. Los animales fueron divididos en 3 tratamientos: BE + P4 (G1), GnRH (G2) y grupo control.

1. El grupo 1 (n=41), al día 0 recibió CIDR + BE+ un plus de P4, al día 7 se retiró el CIDR y se le administró PG, 24 h después se le inyectó BE y se inseminó 30 h después.
2. El grupo 2 (n=42), al día 0 recibió CIDR + GnRH, al día 7 se retiró el CIDR y se administró PG, 54 h más tarde se le inyectó GnRH y se inseminaron.
3. El grupo control (n=42), recibió CIDR el día 0 y 7 días después se retiró y se inyectó PG y se inseminaron 12 h después de detectado el celo.

Estos autores observaron que el porcentaje de estro fue más bajo en el grupo 2 (55%) que en el grupo control (83%) y en el grupo 1 (100%) ($P<0,01$); el intervalo de tiempo entre la remoción del CIDR y la manifestación de celos fue más corto y menos variable en el grupo 1 que en el grupo 2 y el control ($P<0,01$); el porcentaje de preñez del grupo 1 fue más alto (76%) que el grupo 2 (48%) o el grupo control (38%) ($P<0,01$).

de Nava y col., (2008), estudiaron el impacto de un programa de IATF en vaquillonas sobre la productividad de la vaca de la primera cría. Este ensayo se realizó con 199 vaquillonas distribuidas en 2 grupos, el grupo Control que fue inseminado luego de la detección de celo dos veces por día durante 50 días y el grupo Tratado que fue sincronizado con CIDR+ Estradiol al día -10, PG y retiro del CIDR al día -3, GnRH al día -1 e IATF 12 y 15 h después coincidente con el día 0 del ensayo. Estos observaron que el porcentaje de preñez al día 0 (2,3% vs 63,9%, grupos Control vs Tratado, respectivamente $P < 0,01$) y al día 50 (75,6% vs 89,5, grupos Control vs Tratado, respectivamente; $P < 0,02$) fueron afectados por el tratamiento, mientras que el porcentaje de preñez final en las vaquillonas (87,4% vs 92,7%, grupos Control vs Tratados, respectivamente; n.s.) y el porcentaje de preñez de las vacas de primera cría (46,2% vs 37,5%, grupos Control vs Tratados, respectivamente; n.s.), no lo fueron. Las hembras en el grupo tratado destetaron terneros 13,5 kg más pesados que el grupo Control ($P < 0,01$).

de Nava (2009), comparó la efectividad de dos dispositivos de P4 intravaginal en la tasa de preñez obtenida con un programa de inseminación a tiempo fijo en bovinos. Este ensayo se realizó con un total de 175 vaquillonas de 2 años y 25 vacas de primera cría de 3 años con más de 5 meses de paridas sin cría al pie, Polled Hereford ciclando. Fueron distribuidas en 2 grupos, el grupo 1 recibió el dispositivo conteniendo 0,75 g de P4, mientras que el grupo 2 le fue aplicado un dispositivo de 0,5 g de P4. Ambos grupos se manejaron en conjunto, todos los animales recibieron al día 0 P4 + Estradiol, al día 7 se retiró la fuente de P4 y se aplicó PG. En la mañana del día 9 todos los animales que mostraron celo fueron inseminados 12 h después, mientras que a los restantes se les administró GnRH por la tarde y fueron inseminados en la mañana siguiente. La cantidad de animales detectados en celo (33,3% para el grupo 1 vs 44,8% para el grupo 2) y la tasa de preñez final (70,8% vs 64,6% respectivamente), no fue afectada por tratamientos. La tasa de concepción de los animales que fueron inseminados en la tarde del día 9 tendió a ser mejor en el grupo 1 que en el grupo 2 (71,9% vs 51,2%, $P < 0,10$).

de Nava y col (2009), estudiaron el efecto de diferentes fuentes de P4 y GnRH en el resultado de un programa de inseminación a tiempo fijo en vaquillonas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto distintos dispositivos de P4 y diferentes análogos de GnRH en el resultado de un programa IATF. Vaquillonas Polled Hereford ciclando ($n=382$), entre 24 y 30 meses de edad y pesando en promedio 320 kg, fueron distribuidas en 1 de 6 grupos de tratamientos. Se utilizaron tres fuentes de P4 (CIDR nuevo; CIDR reutilizado y una esponja artesanal con 350 mg de acetato de medroxiprogesterona) y dos análogos de GnRH (lecirelina; buserelina). En el día 0, las vaquillonas recibieron BE más el correspondiente aparato intravaginal de P4. En la tarde del día 7, el correspondiente dispositivo fue removido y todas las vaquillonas recibieron PG. En la mañana del día 9, se detectó celo durante una hora y todos los animales alzados fueron inseminados en la tarde. En la tarde del día 9, el resto de las vaquillonas fueron asignadas al azar para recibir lecirelina ó

buserelina. Estas vaquillonas fueron inseminadas en la mañana del día 10. La cantidad de vaquillonas detectadas en celo ($P < 0,001$) y la tasa de concepción en el día 9 ($P = 0,006$) fue más alta para el grupo del CIDR usado que para los otros dos grupos; mientras que la tasa de preñez a la IATF no fue diferente entre ellos. No se encontraron efectos de interacción entre la fuente de P4 y el análogo de GnRH. La tasa de preñez global fue similar entre grupos (64,9%). Se concluye, que cantidad de vaquillonas que entran en celo anticipadamente en la mañana del día 9 puede estar influenciada por la cantidad de P4 del dispositivo utilizado en el programa.

Martínez y col. (2002), estudiaron el uso de la P4 intravaginal (CIDR), con GnRH, LH o BE para inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas de carne. Estos autores realizaron un trabajo en vaquillonas ($n = 257$) Angus y Angus Simmental que consistía en la colocación del CIDR por 7 días y al retirar PG a todos los animales. Se dividieron en 3 grupos, el grupo 1 se le inyectó GnRH a las 48 h de la PG inseminándola en este momento, el grupo 2 se le administró LH 48 h después de la PG también inseminándola al momento y el grupo 3 recibió BE 24 h después de la PG inseminándolas 28 h después o sea 52 h después de la PG. El porcentaje de celos en el grupo 3 fue mayor (92%) que el grupo 1 (65%) y el grupo 2 (60,8%), con una $P < 0,05$. El porcentaje de preñez general del grupo 1 fue de 65%, para el grupo 2 de 55,9% y para el 3 fue de 61,5%. Las vaquillonas que quedaron preñadas detectadas en celo tuvieron los resultados de 67,2% para el grupo 1, 61,3% para el grupo 2 y 62,5% para el grupo 3. Pero también se analizó las que quedaron preñadas sin detección de celo o sea de la IATF que fue de 61,1% para el grupo 1, 47,5% para el grupo 2 y 50% para el grupo 3. Existen diferencias estadísticas en el porcentaje de celos mientras que en los restantes datos no existen diferencias. En conclusión la GnRH, LH y BE en combinación con un dispositivo CIDR es efectivo para la sincronización de la ovulación para la IATF, dando como resultado tasas de preñez aceptables en vaquillonas de carne.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



Hipótesis

No existen diferencias en el porcentaje de preñez al utilizar diferentes dispositivos comerciales con diferentes cantidades de P4 en protocolos de sincronización de la ovulación con inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas de carne.

Objetivos

General:

Comparar los efectos de dos dispositivos intravaginales, CIDR (1,38 g de P4) y CRONIPRES Mono dosis (0,5 g de P4) en el porcentaje de preñez utilizando dos protocolos de sincronización de ovulaciones e inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas para carne.

Particular:

Evaluar el porcentaje de celos prematuros según la cantidad de P4 utilizada, CIDR (1,38 g de P4) y CRONIPRES (0,5 g de P4) en dos protocolos de sincronización de ovulaciones e inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas de carne.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

El ensayo se realizó en el establecimiento “Santa Antonia” ubicado en el paraje Costas del Sarandí, 2ª Sección Judicial del Departamento de Flores a 15 km Trinidad. Se utilizó un grupo de 342 vaquillonas de raza Aberdeen Angus y Hereford y sus cruza que fueron divididas en dos lotes por edad; el lote 1 con 188 vaquillonas de razas carniceras con una edad entre 24 y 27 meses con un peso corporal promedio de 323 kg y una condición corporal ≥ 4 (Escala de 1 al 8), el lote 2 con 154 vaquillonas de similares características raciales que las anteriores, con un rango de edad entre 12 y 15 meses, peso corporal promedio de 299 kg y con una condición corporal similar al lote 1.

En la figura 4 se muestra la distribución de los animales de acuerdo a peso y edad.

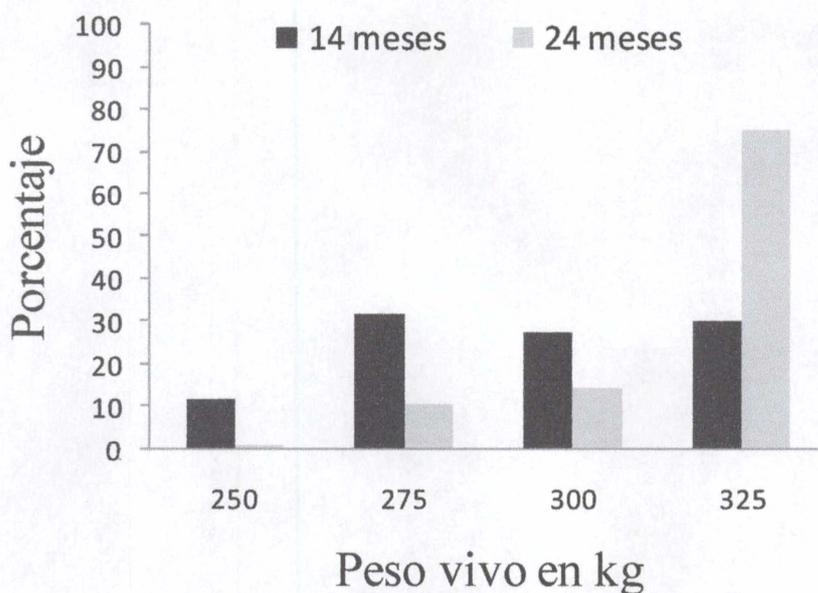


Figura 4: Distribución de los animales utilizados según peso dentro de cada rango de edad

En el día 0 del ensayo se realizó una palpación transrectal para evaluar la ciclicidad del rodeo (Grunert y Berchtold, 1988), todos los animales fueron considerados ciclando y también la misma fue para descartar posibles preñeces, estando la totalidad de los animales vacíos

Los dos grupos fueron divididos a la mitad recibiendo al azar uno de los dos tratamientos hormonales de P4.

Lotes

Lote 1 (24-27 meses)

El día 0 de mañana se colocaron los dispositivos intravaginales de P4 (94 animales con CIDR y 94 animales con CRONIPRES) y al mismo tiempo se administró 1 mg de BE (Estradiol 10, Laboratorio Rio de Janeiro, Santa Fe, Argentina) im a todos los animales. El día 7 por la mañana se retiraron los dispositivos de P4 y se inyectaron 150 µg de d-(+) cloprostenol (PG) (Prostaglandina, Laboratorio Rio de Janeiro, Santa Fe, Argentina). El día 9 por la mañana (7 a 8 am) se realizó detección de celos y las vaquillonas en celo fueron inseminadas en la tarde del mismo día. A las que no se le observó manifestación de celo durante la tarde de ese día se le administró 8 µg de acetato de buserelina (GnRH) (Receptal, Universal Lab, Montevideo, Uruguay) y fueron inseminadas, 50-56 h de retirado el dispositivo (Figura 5).

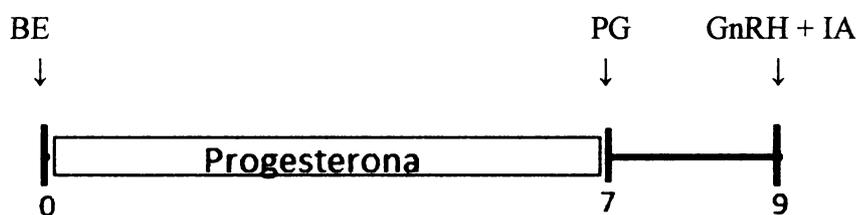


Figura 5: Esquema del tratamiento realizado al lote 1

Lote 2 (12-15 meses)

El tratamiento comenzó por la tarde del día 0, se procedió a la colocación de los dispositivos de P4 (77 animales con CIDR y 77 animales con CRONIPRES), al mismo tiempo se les administró 1 mg de BE inyectable a todos los animales. El día 7 por la tarde se retiraron los dispositivos de P4 y se administró PG. El día 9 por la mañana (7 a 8 am) se realizó detección de celos e inseminación a primera hora de la tarde, al resto de los animales que no se les observó conducta de celo se les administró GnRH e IATF 12 h más tarde, 60-64 h de retirado el dispositivo (Figura 6).

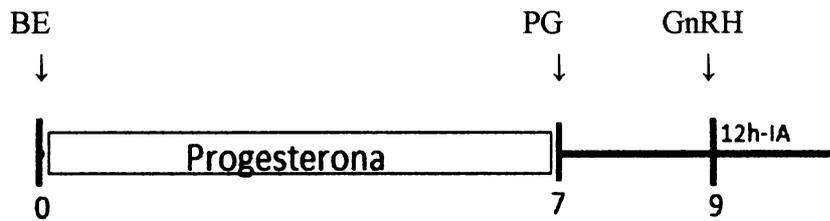


Figura 6: Esquema del tratamiento realizado al lote 2

Como fuentes de P4 se utilizaron los dispositivos intravaginales CIDR (Eazi-Breed, Universal Lab, Montevideo, Uruguay) con 1,38 g de P4 y CRONIPRES (Biogénesis Bagó, Montevideo, Uruguay) con 0,5 g de P4.

El semen utilizado (congelado), fue de 2 toros de la raza Aberdeen Angus de probada fertilidad en programas comerciales y un solo inseminador realizó todos los servicios.

Posteriormente, 15 días luego de la inseminación, se introdujeron toros a las vaquillonas y 30 días después de la inseminación se realizó ecografía tansrectal para diagnosticar preñez. (ALOKA 500, sonda de 5 MHz)

Análisis estadístico

Los porcentajes de preñez por tratamiento, lote y peso corporal se analizaron por chi cuadrado y las diferencias por regresión logística (SAS).

La detección de celos prematuros (antes del momento de la IATF) en lote 1 fue de 24 animales (12,7% del total), mientras que en el lote 2 de 39 animales (25,3% del total). En la figura 7 se muestra la distribución de celos prematuros en cada lote, según el dispositivo utilizado.

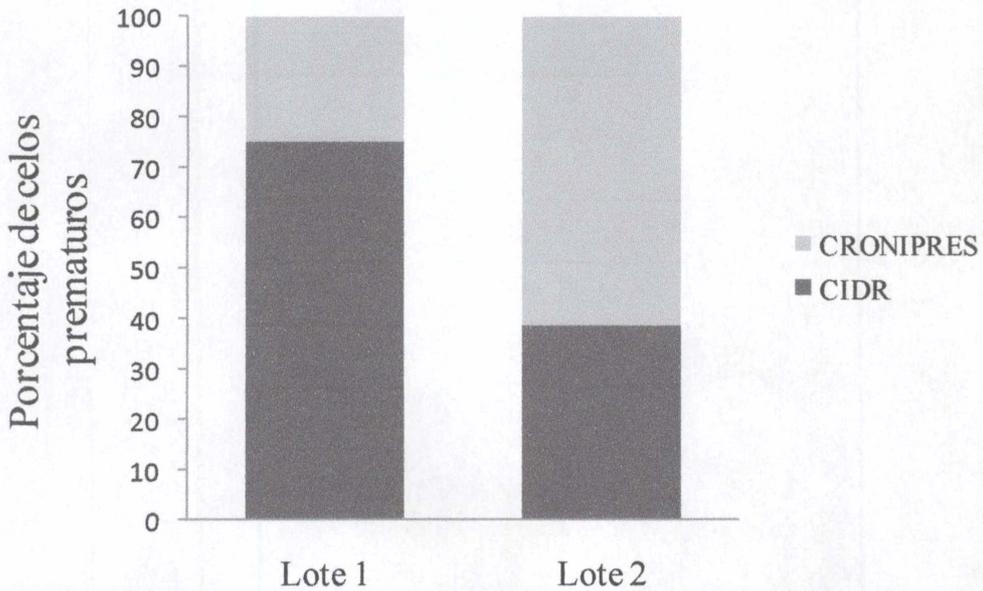


Figura 7: Porcentaje de celos prematuros según dispositivo utilizado

El porcentaje de preñez obtenido por ecografía 30 días luego de la IATF fue de 67,3% para todos los animales (CIDR 69,0% y CRONIPRES 65,5; $P > 0,1$) (Cuadro 1).

No se registraron diferencias en el porcentaje de preñez entre lotes (Cuadro 1).

Se observó una tendencia de un mayor porcentaje de preñez en los animales que pesaron 300kg, mientras que los de 250kg tuvieron el menor porcentaje de preñez (Cuadro 1).

Cuadro I: Porcentaje de preñez en vaquillonas para carne de acuerdo a tratamiento, lote y peso corporal

Categoría	Porcentaje de preñez			
	<i>N</i>	<i>PP</i> ¹	<i>OR</i> ²	<i>IC</i> ³
<i>Tratamiento</i>				
CRONIPRES (0,5 g P4)	171	65,5 ^a	0,869	0,550-1,371
CIDR (1,38 g P4)	171	69,0 ^a	1,0	Referente
<i>Lote</i>				
1 (24-27 meses)	188	68,7 ^a	1,326	0,780-2,253
2 (12-15 meses)	154	66,2 ^a	1,0	Referente
<i>Peso vivo (kg)</i>				
250	18	50,0 ^b	0,386	0,135-1,100
275	66	63,6 ^a	0,732	0,386-1,387
300	68	73,5 ^c	1,184	0,620-2,260
325	190	67,9 ^a	1,0	Referente
Total	342			

¹: Porcentaje de Preñez; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ^{a,b,c}: P<0,08

DISCUSIÓN

Los celos prematuros del lote 2 se pueden asociar a que la menor concentración de P4 que contiene el CRONIPRES puede resultar en una disminución de los niveles de esta hormona en sangre más pronto, asociado entonces a una mayor cantidad de celos anticipados que con el CIDR (de Nava, 2009; de Nava y col., 2009). Sin embargo los resultados en el lote 1 son inesperados, ya que se obtuvo mayor porcentaje de celos anticipados con el dispositivo CIDR (mayor concentración de P4). A nuestra consideración esto se podría deber a un error humano en la detección de celos y no haber detectado los animales del lote 1 que salieron en celo anticipadamente con el dispositivo CRONIPRES (probablemente antes que los celos anticipados del CIDR). Es importante destacar que nos referimos a los animales de mayor peso, pudiendo esto ser factor importante en aumentar la velocidad de metabolización de la P4 en sangre.

de Nava (2009), utilizando los mismos protocolos de sincronización de celo pero con concentraciones de P4 de 0,5 g y 0,75 g, obtuvo resultados similares al grupo 2 de nuestro experimento, detectando más animales con celo anticipado en los tratados con menor concentración de P4, siendo este valor 44,8% mientras que el grupo con mayor concentración de P4 fueron 33,3% los que tuvieron celo anticipado. El mismo autor del ensayo anterior, pero con 3 fuentes de P4 (CIDR nuevo, CIDR reutilizado y una esponja artesanal con 350 mg de acetato de medroxiprogesterona), observó que la cantidad de vaquillonas detectadas en celo fue más alta ($P < 0,001$) para el grupo del dispositivo reutilizado y concluye, en base a esto, que la cantidad de vaquillonas que entran en celo antes puede estar influenciada por la cantidad de P4 del dispositivo utilizado.

En los animales que presentaron celo anticipado en el lote 2 el porcentaje de preñez fue 66,6%, siendo esto similar al porcentaje de preñez general, mientras que los que presentaron celo anticipado del lote 1 la preñez fue 83,3%.

El inductor de la ovulación en este ensayo fue la GnRH; cuando se utiliza GnRH en protocolos de sincronización de ovulaciones la primer administración (al inicio del tratamiento) provoca la ovulación o regresión del folículo presente en el ovario, siempre que éste sea mayor a 10 mm, y el inicio de una nueva onda folicular que se identifica por ultrasonido a las 48 horas (Cavestany y col., 2003). Sin embargo, cuando éstos protocolos se inician con BE el recambio folicular ocurre en promedio de 4 a 5 días más tarde (Cavestany y Martínez Barbitta, 2010). Esto es muy importante cuando se está sincronizando el celo en vaquillonas ya que tienen ondas foliculares más cortas e irregulares, al utilizar BE al comienzo del protocolo se disminuye la aparición de celos anticipados (Andrés Rusiñol, 2011 datos no publicados).

No se obtuvieron diferencias significativas en el porcentaje de preñez entre las distintas concentraciones de P4 (CRONIPRES 0,5 g y CIDR 1,38 g). Esto demuestra que con estos protocolos son igualmente efectivos los dos dispositivos de P4 en sincronizar la ovulación

en vaquillonas de carne y que el resultado obtenido en la preñez no está afectado por la concentración de cada uno. Lo que abre la posibilidad de utilización de tanto uno como el otro, esto resulta interesante al momento de la inversión en la compra de los dispositivos ya que el CRONIPRES es sensiblemente más barato (aproximadamente la mitad de precio). Es importante hacer la salvedad de que el dispositivo CIDR es reusable con resultados satisfactorios de preñez, lo que va a disminuir sus costos en el largo plazo; otro aspecto por el que es importante el hecho de la reutilización es que se generan menos residuos y así disminuimos la contaminación ambiental. Debemos aclarar que para la reutilización del dispositivo CIDR se lo debe lavar, secar a la sombra y conservar en forma apropiada, lo que hace más engorroso y dificulta su manejo.

Los resultados de preñez obtenidos en este ensayo (CIDR, 69% y CRONIPRES, 65,5%) validan la efectividad de estos tratamientos para lograr una buena sincronización de la ovulación y un alto porcentaje de preñez en vaquillonas de carne y esto coincide con trabajos anteriores realizados por de Nava (2009), en el que obtuvo 70,8% de preñez con una concentración de P4 de 0,75 g y 64,6% de preñez con una concentración de 0,5 g de P4. Ambos ensayos tuvieron el mismo protocolo de IATF, que utilizaba GnRH como inductor de la ovulación (12 h previas a la IATF). Resultados diferentes reportan Chesta y col. (2006) (citado por Cutaia y col., 2007), que utilizaron el mismo protocolo con la diferencia que el inductor de la ovulación fue BE (30 h previas a la IATF); en este trabajo estos autores obtuvieron, para dispositivos de 1 g, 49% de preñez y para dispositivos de 0,53 g, 49,5% de preñez en vaquillonas de carne. Por su parte Callejas y col. (2007), utilizando el mismo protocolo que el anterior, realizaron un experimento con diferentes concentraciones de P4 (0,558 g y 1 g) y también variaron el día de retiro del dispositivo con 7 y 8 días. Los resultados en el porcentaje de preñez fueron para el grupo con 7 días de P4, con dosis de 0,558 g de 66,7% y con dosis de 1 g de un 50%; para el grupo con 8 días de P4, con dosis de 0,558 g fue de 58,6% y con dosis de 1 g fue de 60%.

Es importante destacar que la tasa de preñez de cada uno de los trabajos antes mencionados no difiere con respecto a la concentración de P4, pero sí entre trabajos podemos encontrar diferencias mayores y menores en el porcentaje de preñez.

En este trabajo no se observaron diferencias en el porcentaje de preñez entre los diferentes lotes (edades de 14 y 24 meses). Esto parecería indicar que es más importante para lograr una preñez en una vaquillona el peso vivo y el desarrollo corporal, y así lograr que los animales sean cíclicos al momento de la IATF. Estos parámetros eran muy similares entre lotes ya que existiendo una diferencia en promedio de 12 meses de edad solamente hay una diferencia de aproximadamente 25 kg a favor de las mayores (323 kg promedio) con respecto a las menores (298 kg promedio). Esto evidencia el buen manejo nutricional que recibieron las de menor edad para prácticamente igualar el peso vivo con un año menos. En base a estos resultados se puede inferir que el peso óptimo para lograr mayores porcentajes de preñez en vaquillonas para carne sería de 300 kg ya que los animales con este peso

tuvieron el mayor porcentaje de preñez con un 73,5%. La condición corporal de los animales era mayor a 4 en una escala del 1 al 8. A nuestra consideración estos factores (ciclicidad, peso vivo y condición corporal) serían parte importante de los altos porcentajes de preñez logrados; estos valores también están explicados por un buen programa de sincronización, con una buena metodología (buen inseminador) y con un semen de probada efectividad en rodeos comerciales, considerando que se trata de una IATF. Bó y col. (2002a) utilizando vaquillonas Angus de 15-17 meses de edad y con un peso promedio de 282 kg lograron 68,9% de preñez con protocolos basados en CIDR + BE. de Nava (2009), logró 64,9% de preñez global en vaquillonas entre 24 y 30 meses de edad, con un peso promedio de 320 kg y utilizando protocolos en base a CIDR + GnRH. Martínez y col. (2002), en vaquillonas Angus y Angus Simmental de 15 meses con un peso de 275-300 kg con protocolos basados en CIDR + GnRH lograron 65% de preñez.

CONCLUSIONES

En el presente ensayo:

No existieron diferencias en el porcentaje de preñez utilizando diferentes dispositivos comerciales con diferentes cantidades de P4 (CIDR 1,38 g y CRONIPRES 0,5 g) en vaquillonas de carne utilizando dos protocolos de IATF.

El porcentaje de celos prematuros observado en el lote 2 estuvo dentro de lo esperado, en el lote 1 fue inesperado.

1. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JCH, 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, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. (1993). Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 30:259-271.
3. Adams GP. (1998). Control of ovarian follicular wave dynamics in mature and prepubertal cattle for synchronization and superstimulation. *Proceedings of the XX Congress of the World Association of Buiatrics; Sydney, Australia; 1998.* 595-605.
4. Amoss M, Burgus R, Blackwell R, Vale W, Fellows R, Guillemin R. (1971). Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 44:205-210.
5. Anderson LH, Mc Dowell CM, Day ML. (1996). Progesterin- Induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol. Reprod.* 54:1025-103.
6. Anderson LH, Day ML. (1998). Development of a progesterin- based estrus synchronization program: I. Reproductive repose of cows fed melengestrol acetate for 20 days with an injection of progesterone. *J. Anim. Sci.* 76:1267-1272.
7. Araujo Guerra Á. (2004). Pubertad en la Hembra Bovina. Disponible en www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta 12/03/11.
8. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1991). *Reproducción y Obstetricia en Veterinaria.* 6ª ed. Madrid, Interamericana-Mc. Graw Hill. 702 p.
9. Atkins JA, Busch DC, Bader JF, Keisler DH, Patterson DJ, Lucy MC and Smith, MF. (2008). Gonadotropinreleasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: Effect of day of the cycle. *J. Anim. Sci.* 86:83-93.
10. Barr HL. (1974). Influence of estrus detection on days open in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 58:246-248.
11. Barros CM, Moreira MBP, Figueredo RA, Teixeira AB, Trinca LA. (2000). Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and Estradiol Benzoate. *Theriogenology*; 53:1121-1134.
12. Beal WE, Good GA. (1986). Synchronization of estrus in postpartum beef cows with melengestrol acetate and PGF2 α . *J. Anim. Sci.* 63:343-347.
13. Baruselli PS, Marques MO, Reis EL, Bó GA. (2003). Tratamientos hormonales para mejorar la performance reproductiva de vacas de cría en anestro en condiciones tropicales. *Resúmenes V Simposio Internacional de Reproducción Animal.* Huerta Grande, Córdoba, Argentina, p. 103-116.
14. Becaluba F. (2006). Métodos de sincronización de celos en Bovinos. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar . Fecha de consulta 12/03/11.

15. Bicalho R, Cheong S, Warnick L, Guard C. (2007). Evaluation of Progesterone Supplementation in a ProstaglandinF2 α - Based Resynchronization Protocol Before Timed Insemination. *J. Dairy Sci.*, 90:1193–1200.
16. Bó GA, Adams GP, Pearson RA, Mapletoft RJ. (1995). Exogenous control of follicular waves emergence in cattle. *Theriogenology* 43:31-40.
17. Bó GA, Adams GP, Caccia M, Martinez M, Colazo M, Mapletoft R. (1998). Actualización del control del ciclo estral bovino. IV Jornadas CABIA, Buenos Aires, Argentina, p. 13-24.
18. Bó G, Mapletoft R, Adams G. (2000). Actualización sobre el control del ciclo estral y la dinámica folicular en el ganado bovino. Simposio Intervet de Reproducción Bovina. Punta del Este, Uruguay, p. 13.
19. Bó G, Cutaia L. y Tríbulo R. (2002a). Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: Algunas experiencias realizadas en Argentina. Disponible en www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta 25/03/11.
20. Bó G, Cutaia L, Tríbulo R y Brogliatti M. (2002b). “Criterios en la elección de los programas de IATF en los rodeos para carne.” 1° Jornadas Taurus, Buenos Aires, Argentina, p. 10.
21. Bó G, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Aviles M, Menchaca A, Veneranda G, Baruselli P. (2005). Implementación de Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría de Argentina. 6° Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, p. 28.
22. Bó G, Cutaia L, Souza AH, Baruselli ES. (2009). Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 11/03/11.
23. Burke C, Boland M, Macmillan K. (1999). Ovarian responses to progesterone or estradiol benzoate administered intravaginally during diestrus in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 55:23-33.
24. Byerley DJ, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Short RE. (1987). Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *J. Anim. Sci.* 65:645-650.
25. Callejas S, Ochionero P, Gonzalez Chavez S y Cledou G. (2007). Uso de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de progesterona para controlar el ciclo estral en vaquillonas Holando Argentino inseminadas a tiempo fijo. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, p. 233.
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. (2000). Sincronización de celos en vacas Holando en producción con una esponja intravaginal impregnada con acetato de medroxiprogesterona (MAP). Temas de lechería: Reproducción. Serie Técnica 116. INIA. La Estanzuela, Uruguay, p. 33-54.

28. Cavestany D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de Uruguay. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 143-163.
29. Cavestany D, Meikle A, Kindahl H, Van Lier E, Moreira F, Thatcher WW, Forsberg M. (2003). Use of Medroxyprogesterone acetate (MAP) in lactating Holstein cows within an Ovsynch protocol: follicular growth and hormonal patterns. *Theriogenology*; 59:1787-1798.
30. Cavestany D, Martínez Barbitta M. (2010). Follicular dynamics, ovulation and estrus behavior in cycling Holstein cows synchronized with different estradiol and progesterone formulations. XXVI World Buiatrics Congress. 2010. Santiago, Chile, CD ROM.
31. Cledou G, Nosetti L y Callejas S. (2006). Uso del dispositivo Triu-B durante 7, 8 o 9 días en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista Taurus* 29: 18-24.
32. Cline MA. (2002). Efficacy of synthetic gonadotropin releasing hormone analogs for control of ovulation during estrus synchronization protocols. MSc thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, VA, USA, 194 p.
33. Cutaia L, Veneranda G, Tribulo R, Baruselli P, Bó G. (2003). Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. 5° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. p. 119-132.
34. Cutaia L, Peres L, Pincinato D, Chesta P, Ramos M, Bó G. (2007). Programas de sincronización de celos en vaquillonas de carne: Puntos críticos a tener en cuenta. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba. Argentina. p. 85-86.
35. De Kruif A, Brand A. (1978). Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. *New Zealand Vet. J.* 26:183-189.
36. de Nava G, Guggeri P, Rodríguez Sabarrós M, Gil A. (2008). Impacto de un programa de inseminación a tiempo fijo en vaquillonas sobre la productividad de la vaca de primera cría. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 187-188.
37. de Nava G. (2009). Comparación de la efectividad de dos fuentes de progesterona intravaginal en la tasa de preñez obtenida con un programa de inseminación a tiempo fijo en bovinos. XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 194-195.
38. de Nava G, Rodríguez Sabarrós M, Corti M, Martínez MF, Tutt D. (2009). Efecto de diferentes fuentes de progesterona y GnRH en el resultado de un programa de IATF en vaquillonas. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, Argentina. CD ROM.
39. Dejarnette JM, Marshal CE. (2003). Effects of presynchronization using combinations PGF2 α and (or) GnRH on Pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 77:51-60.

40. Dick A. (1998). Control de servicios artificiales en el tambo con el uso de progestágenos .CABIA. IV Jornadas, Bs As, Argentina. p. 67-76.
41. Diskin M, Austin E, Roche J. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom. Anim. Endocrinol.* 23:211-228
42. Fernández Tubino Álvaro. (2003). Ondas foliculares: Su importancia en los métodos de sincronización de celos en bovinos. Disponible en Bolsa del Libro. Facultad de Veterinaria Uruguay, /3/p.
43. Fernández D, Salazar E. (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, Montevideo, Uruguay, 52 p.
44. Ficke K, Day M, Inskoop E, Kinder J, Lewis P, Short R, Hafs H. (1997). Estrus and Luteal Function in suckled beef cow that were anestrous when treated with intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.* 75:2009-2015.
45. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosemberg M. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. Effects of progesterone and parity on conception. *J. Dairy Sci.* 73:2817-2825.
46. Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.* 58:248-256.
47. Geary TW, Whittier JC. (1999). Various protocols for synchronization of estrus or ovulation using GnRH and Prostaglandin. Beef Program Report. The Dept. of Anim. Sci. Colorado State University, USA, 48 p.
48. Geary TW, Whittier JC, Hallford DM, MacNeil MD. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J. Anim. Sci.* 79:1-4.
49. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. (1989). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 20:187-200.
50. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55:1187-1194.
51. Grunert E, Berchtold M. (1988). Infertilidad en la vaca. Buenos Aires. Hemisferio Sur, 475 p.
52. Hafez ES. (1989). Reproducción e inseminación artificial en Animales. 5° ed. Ed. Interamericana MC Graw-Hill. México. 677 p.
53. 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.
54. Kasimanickam R, Cornwell JM, Nebel RL. (2005). Fertility following fixed time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology* 63:2550-2559.

55. Lamb GC, Larson JE, Geary TW, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Ansotegui RP, Kesler DJ, DeJarnette JM, Landblom DG. (2006). Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂α, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84:3000-3009.
56. Lauderdale JW, (1972). Effects of PGF₂α on pregnancy and estrus cycle of cattle. *J. Anim. Sci.* 35:246 (abstract).
57. Larson L, Ball P. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 38:255-267.
58. Larson JE, Lamb GC, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Geary TW, Kesler DJ, DeJarnette JM, Schrick FN, DiConstanzo A, Arsenau JD. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂α and progesterone. *J Anim. Sci.* 84:332-342.
59. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW.(1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70:3615-3626.
60. Lucy MC, Billings HJ, Butler WR, Ehnis LR, Fields MJ, Kesler DJ, Kinder JE, Mattos RC, Short RE, Thatcher WW, Wettemann RP, Yelich JV and Hafs HD. (2001). Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF₂α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 79:982-995.
61. Martinez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (1999). Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 57:23-33.
62. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Janzen E, McCartney DH, Mapletoft RJ. (2000a). Estrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol, or GnRH. *Can. Vet. J.* 41:786-790.
63. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. (2000b). The use of CIDR-B devices in GnRH/LH-based artificial insemination programs. *Theriogenology*; 53: 202.
64. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook RB, Olson WO, Mapletoft RJ. (2002). The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 57:1049-1059.
65. McDonald LE. (1991). *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4ª ed. México. Interamericana 551 p.
66. Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Lopez F, Mattos R, Thatcher WW. (2000). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 834:1646-1659.
67. Morrow DA. (1980). Record essential for reproductive herd health in cattle. En: Morrow, DA. *Current therapy in theriogenology*. Saunders. NY; p. 552-559.

68. Morrow DA. (1986). *Current Therapy in Theriogenology*. 2° Ed. W.B. Saunders. Philadelphia. 1104 p.
69. Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP, Roche JF. (1991). Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 92:333-338.
70. Murugavel K. (2003). Reproductive performance of dairy cows following different estrous synchronization protocols. Disponible en: www.tesisenxarxa.net Fecha de consulta: 14/03/11.
71. Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD and Geary TW. (2007). Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:684-689.
72. Peters RA, Ball PJH. (1991). Reproducción del ganado vacuno. Acribia, Zaragoza. 222 p.
73. Pinheiro OL, Barros CM, Figueredo RA, Do Valle ER, Encarnaçao RO, Padovani CR. (1998). Estrous behavior and the estrus-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*; 49:667-681.
74. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. *Theriogenology*, 44:915-923.
75. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA and Anderson LL. (1997). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation of synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.
76. Roberts SJ. (1979). *Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción*. Buenos Aires. Hemisferio Sur, 1021 p.
77. Roche JF. (1974). Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F2 α . *J. Reprod. Fertil.* 37:135-138.
78. Rosemberg M, Kaim M, Herz Z, Folman Y. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. Effects on plasma progesterone and manifestation of estrus. *J. Dairy Sci.* 73:2807-2815.
79. Rowson L, Tervit R, Brand A. (1972). The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 29:145-148.
80. Sá Filho MF, (2006). IATF em Novilha. *Biocnologia da reprodução em bovinos*, 3er Simposio Internacional de Reproducao Animal Aplicada, San Pablo, Brasil. 54 p.
81. Santos JEP, Sá Filho MF. (2006). Nutrição e reprodução em bovinos. *Biocnologias da Reprodução em Bovinos 2° Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*, Londrina, Brasil, p. 30-54.
82. Schally AV, Arimura A, Kastin AJ, Matuso H, Baba Y, Reeding TW, Nair RM, Debuljuk L, White WF. (1971). Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide

- regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *J. Anim. Sci.* 173:1036-1038.
83. Seguin B. (1987). Control of the reproductive cycle in dairy cattle. *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, p. 300-308.
 84. Senger PL. (2003). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2^a ed. Washington. Current Conceptions. 373 p.
 85. Silcox RW, Powell KL, Pursley JL, Wiltbank MC. (1995). Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers with GnRH and prostaglandin. *Proc. Annual Conference of IETS. Theriogenology*; 43:325.
 86. Sirois J, Fortune JE. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39:308-317.
 87. Sirois J, Fortune JE. (1990). lengthening the bovine estrus cycle with low concentration of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 127:916-925.
 88. 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.
 89. Souza EM, Milagres JC, Silva AJ, Regazzi EA y Castro G. (1995). Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. *Rev. Soc. Bras. Zoot.* 24, 926-935.
 90. Souza H, Cunha A, Caraviello D, Wiltbank M. (2005). Profiles of circulating estradiol-17B after different estrogen treatments in lactating dairy cows. *Anim. Reprod.* 2:224-232.
 91. Stevenson JS, Hoffman DP, Nichols DA, Mckee RM, Krehbiel CL. (1997). Fertility in estrus-cycling and non cycling virgin heifers and suckled beef cows after induced ovulation. *J. Anim. Sci.* 75:1343-1350.
 92. Stevenson JS, Thompson KE, Forbes WL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR. (2000). Synchronized estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and PGF2 α with or without timed insemination. *J. Anim. Sci.* 78:1747-1758.
 93. 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.* 89:2567-2578.
 94. Tenhagen BA, Kuchenbuch S, Heuwieser W. (2006). Timing of ovulation and fertility of heifers after synchronization of estrus with GnRH and prostaglandin F2 α . *Reprod. Domest. Anim.* 40:62-67.
 95. Thatcher WW, Drost M, Savio JD, Macmillan KL, Schmitt EJ, Entwistle KW, De la Sota RL, Morris GR. (1993). New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 33:27-49.
 96. Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP. (2000). Strategies to improve reproductive management of dairy cows. *Adv. Dairy Technol.* 12:177-193.

97. Thatcher WW, Patterson MS, Moreira F, Pancarci M, Jordan ER, Risco CA. (2001). Current concepts for estrus synchronization and timed insemination. AABP. Proc. 34th Annual Convention. Canadá, p. 95 -105.
98. 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 PGF2 α . J. Anim. Sci. 77:1823-1832.
99. Ungerfeld R. (2002). Reproducción en los animales domésticos. Montevideo. Melibea. Tomo 1, 289 p.
100. Viñoles C, Cavestany D. (2000). Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en vaquillonas Holando. Temas de lechería: Reproducción. Serie Técnica 116. INIA La Estanzuela, Uruguay, p. 49-51.
101. Wiltbank MC. (1997). How information of hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. Proc. Annual Meeting of the Society for Theriogenology; 83:97.
102. Xu ZZ, Burton LJ. (1999). Reproductive performance of dairy heifers and estrus synchronization and fixed-time artificial insemination. J. Dairy Sci. 82:910-917.
103. Yamada K. (2005). Development of ovulation synchronization and Fixed Time Artificial Insemination in dairy cows. J. Reprod .Dev. 51:177-186.