

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**COMPARACION ENTRE DOS TIPOS DE ESTRADIOL Y DOS FUENTES DE
PROGESTERONA EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACION DE CELOS CON
INSEMINACION A TIEMPO FIJO EN VACAS HOLANDO EN PRODUCCION**

por

Gabriel, ARRUTI VILLAAMIL
María Elisa, FERNÁNDEZ TABELIRA
Sofía, GARCÍA ALVAREZ



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

MODALIDAD: Ensayo Experimental



**MONTEVIDEO
URUGUAY
2010**

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de mesa:



Dr. Eduardo Blanc

Segundo miembro (Tutor):



Dr. Daniel Cavestany

Tercer miembro:



Dra. Teresa de Castro

Fecha: 26 de Agosto de 2010

Autores: Gabriel ARRUTI VILLAAMIL

María Elisa FERNANDEZ TABELIRA

Sofía GARCIA ALVAREZ



FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con (15/11/10) 



AGRADECIMIENTOS

- A nuestro tutor Daniel Cavestany, por su dedicación y apoyo.
- Al personal de campo del INIA La Estanzuela.
- A Marteen Andringa por su colaboración en el ensayo.
- A Jaqueline, Gabriela, Ruth, Rosina, Ana Carolina, Patricia, Julia, Amanda, Carolina y Noelia, por sus agotadoras búsquedas en la biblioteca y su gran paciencia.
- A Raquel Correa y Pablo Rodriguez, por su colaboración.
- A nuestros padres, por darnos la oportunidad de estar acá y por su apoyo incondicional.
- A nuestros hermanos y amigos que siempre estuvieron ahí cuando los necesitamos.
- A todos los compañeros que conocimos y que formaron parte de los mejores recuerdos que nos llevamos.
- A cada uno de los profesores que nos formaron en esta carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	3
INTRODUCCION.....	4
OBJETIVO.....	5
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	6
Ciclo estral bovino.....	6
Control endocrino del ciclo estral	8
Hormona GnRH.....	8
Hormonas gonodotrópicas.....	9
Hormonas ováricas.....	10
Estrógenos.....	10
Progesterona.....	10
Hormonas uterinas.....	11
Dinámica folicular.....	12
Comportamiento estral.....	14
Características de comportamiento primarias.....	14
Características de comportamiento secundarias.....	15
Signos físicos	17
Factores que afectan el comportamiento de la vaca en celo.....	18
Detección de celos.....	20
Métodos de detección de celos.....	21
Observación visual.....	21
Métodos auxiliares y/o complementarios a la observación visual.....	22
Control artificial del ciclo estral.....	23
El uso de la PG en la sincronización de celos.....	23
Protocolo con dosis única de PG.....	25
Protocolo con doble dosis de PG.....	25
El uso de la GnRH en la sincronización de celos.....	26
Combinación de GnRH y PG.....	26

El uso de la progesterona en la sincronización de celos.....	28
Dispositivos intravaginales.....	29
Progesterona inyectable.....	30
Combinación de progesterona y PG.....	30
Combinación de progesterona y GnRH.....	31
El uso de los estrógenos en la sincronización de celos.....	31
Combinación de estrógenos con progesterona.....	32
Combinación de estrógenos, GnRH y PG.....	33
Combinación de GnRH, progesterona, PG y estrógenos.....	33
MATERIALES Y METODOS.....	35
Animales y manejo.....	35
Tratamientos.....	36
Detección de celos, ultrasonografía ovárica, inseminación artificial y diagnóstico de preñez.....	37
Análisis estadístico.....	49
RESULTADOS.....	40
Puntuación del comportamiento de celo.....	40
Manifestación de celo.....	41
Intervalo tratamiento celo.....	42
Diámetro folicular.....	43
Concentración de progesterona.....	44
Preñez.....	44
DISCUSION.....	46
Puntuación del comportamiento de celo.....	46
Manifestación de celo.....	46
Intervalo tratamiento celo.....	48
Diámetro folicular.....	49
Preñez.....	49
CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAFIA.....	51

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Figura 1 - Esquema del control hormonal del ciclo estral.....	12
Figura 2 - Ondas foliculares del ciclo estral de tres ondas.....	14
Figura 3 - Esquema del tratamiento hormonal realizado.....	36
Figura 4 - Dispersión de la puntuación del comportamiento de celo.....	41
Figura 5 - Medias de los intervalos desde el fin del tratamiento al inicio de los celos para cada grupo.....	43
Figura 6 - Relación entre el diámetro folicular y el puntaje de comportamiento de celo	44
Figura 7 - Porcentaje de preñez obtenidos en vacas Holando en producción.....	45
Cuadro I - Escala de puntos para el comportamiento estral en vacas.....	38
Cuadro II - Número de vacas Holando en producción en cada categoría de puntuación de comportamiento de celo y porcentaje de celo obtenido en cada grupo	42

RESUMEN

Con el objetivo de comparar una nueva fuente de progesterona (P4) natural e inyectable, en base oleosa y de liberación lenta con un dispositivo intravaginal en un protocolo de sincronización de celos, 51 vacas en lactación de la raza Holando, con una condición corporal de $2,47 \pm 0,03$ puntos, $104,1 \pm 7,8$ días de lactancia y una producción diaria de $21,8 \pm 0,7$ L, fueron divididas en 2 grupos. La mitad de cada grupo fue tratado a su vez con Benzoato de estradiol (BE) o 17 beta estradiol (E17). Los tratamientos fueron: Grupo 1 (n= 15): Día 0: GnRH y colocación del dispositivo intravaginal con P4. Día 7: prostaglandina F2 α (PG) y retiro del dispositivo intravaginal. Día 8: BE. Grupo 2 (n= 16): Día 0: GnRH y colocación del dispositivo intravaginal con P4. Día7: PG y retiro del dispositivo intravaginal. Día 8: E17. Grupo 3 (n= 10): Día 0: GnRH e inyección de P4. Día 7: PG. Día 8: BE. Grupo 4 (n=10): Día 0: GnRH e inyección de P4. Día 7: PG. Día 8: E17. Todos los animales recibieron 8 μ g i.m de GnRH, 500 μ g i.m de prostaglandina F2 α (PG) y 1 mg i.m de estrógenos. Los dispositivos intravaginales contenían 500 mg de P4 y a los animales tratados con P4 inyectable se les administró 200 mg vía subcutánea. En todos los grupos se detectó celo a partir del día 7 inseminándose los animales que presentaban celo y el día 9 se realizó IATF. Las variables analizadas fueron: puntuación de comportamiento de celo, manifestación de celo, el intervalo de tiempo entre el fin del tratamiento de sincronización y el inicio del celo, diámetro de los folículos preovulatorios y porcentaje de preñez. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos hormonales en cuanto a la puntuación de celo (P= 0,902), el número de animales que manifestaron celo (P= 0,909), el diámetro folicular (P= 0,840) y los porcentajes de preñez (P= 0,862). No se encontraron diferencias significativas entre los 4 grupos para la variable intervalo tratamiento-celo (P= 0,509), pero sí se encontraron diferencias para esta variable entre los grupos tratados con dispositivos intravaginales y los tratados con la progesterona inyectable (P= 0,031). Los grupos tratados con progesterona inyectable manifestaron el celo más tarde que los tratados con dispositivos intravaginales (22,6 horas y 12,2 horas respectivamente). No se encontró una correlación significativa entre los diámetros foliculares y la puntuación de comportamiento de celo (r= 0,26). Se puede concluir

que la progesterona inyectable sería un buen reemplazo para el dispositivo intravaginal y tanto el benzoato de estradiol como el estradiol 17 beta serían una buena opción al momento de elegir el estrógeno a utilizar en un protocolo de sincronización de celos.

SUMMARY

With the objective of comparing a natural injectable progesterone with an intravaginal progesterone releasing device in a synchronization protocol, 51 Holstein lactating cows with 2.47 ± 0.03 points of body condition, 104.1 ± 7.8 postpartum days and 21.8 ± 0.7 L of milk production per day were divided into 2 groups, each one treated with a different type of progesterone. Half of each of these groups were treated with estadiol benzoate (EB) or estradiol 17 beta (E17). Group 1 (n=15): Day 0: GnRH and insertion of intravaginal device with P4. Day 7: prostaglandin F2 α (PG) and removal of intravaginal device. Day 8: EB. Group 2 (n= 16): Day 0: GnRH and insertion of intravaginal device with P4. Day 7: PG and removal of intravaginal device. Day 8: E17. Group 3 (n= 10): Day 0: GnRH and P4 injection. Day 7: PG. Day 8: EB. Group 4 (n=10): Day 0: GnRH and P4 injection. Day 7: PG. Day 8: E17. All the animals received 8 μ g i.m of GnRH, 500 μ g i.m of prostaglandin F2 α (PG) and 1 mg i.m of estrogen. As for the P4, intravaginal devices contained 500 mg of P4 and the animals treated with injectable P4 received 200 mg subcutaneous. Estrus was detected in all the groups starting on day 7 and the cows detected in heat were inseminated. On day 9 fixed time artificial insemination (FTAI) was done. The variables analyzed were: behavior score, estrus, the interval from the end of treatment to the beginning of heat, diameter of the preovulatory follicles and pregnancy rates. There was no significant difference between the 4 groups for the behavior score (P= 0.902), the number of cows in heat (P= 0.909), the follicular diameter (P= 0.840) and the pregnancy rates (P= 0.862). There was also no significant difference between the 4 groups for the variable interval end of treatment-start of heat (P= 0.509), but there was a difference in this variable when comparing the groups treated with intravaginal progesterone with the group treated with the injectable progesterone (P=0.031). The groups treated with injectable progesterone expressed heat later than the intravaginal device groups (22.6 hours and 12.2 hours respectively). No significant correlation was found between follicular diameters and the behavior scores (r= 0.26). It can be concluded that the injectable progesterone is a good alternative for the intravaginal device and either the estradiol benzoate or 17 beta estradiol are a good choice when using estrogen in a synchronization protocol.

INTRODUCCION

La eficiencia reproductiva es el factor más importante que afecta la producción y la economía en un rodeo lechero (Diskin y col., 2002). La eficiencia reproductiva en rodeos de leche es comúnmente medida mediante el intervalo entre partos (IEP), parámetro que afecta la producción diaria de leche (litros) de la vaca durante su vida productiva y el ingreso asociado por las ventas de leche de su producción, condicionando la rentabilidad del establecimiento (Becaluba, 2006).

Las causas principales de una mala eficiencia reproductiva incluyen falla en la fertilización y mortalidad embrionaria. La falla en la fertilización es ocasionada generalmente por un error en la detección del celo, un error en el tiempo o en la técnica de inseminación, mala calidad del semen y ovulación retardada (Nakao, 1998). Una inseminación temprana o tardía, infección uterina, mala nutrición y una deficiencia en la fase luteal se consideran como causantes de mortalidad embrionaria (Nakao, 1998).

El IEP está determinado por el período de espera voluntario, por el porcentaje de detección de celo (PDC) y por el porcentaje de concepción (PC). El PDC es la relación entre los animales detectados en celo y el total de los que efectivamente están ciclando y el PC es el porcentaje de preñez obtenido sobre las que se sirvieron, la relación factorial entre ellos nos dan el porcentaje de preñez (PP) (Cutaia y Bó, 200-). El PP representa la proporción de vacas que quedan preñadas durante cada ciclo estral y se vincula directamente con el número de días con posterioridad al periodo de espera voluntario necesarios para que las vacas queden preñadas. A medida que el PP aumenta, debido a que el PDC y el PC son mayores, el IEP disminuye (Becaluba, 2006). Luego de un IEP de 365 días, cada día de vaca vacía, se pierden entre 7 y 10 litros de leche, dependiendo de la producción media del rodeo (Glauber, 2007).

Numerosos estudios demuestran que una de las principales causas de la baja eficiencia reproductiva en rodeos lecheros es la falla en la detección de celos en forma eficiente (Balla y col., 2006; Blanco, 2007; Glauber, 2007; Roche y Diskin, 2005; Stevenson, 2005; Viñoles y Cavestany, 2000). Esta ineficiente detección de celos disminuye la producción de leche total a lo largo de la vida productiva del

animal y el número de terneros nacidos por vaca, aumenta el número de días abiertos y la tasa de reposición por problemas reproductivos (Sepúlveda y Rodero, 2003).

Para reducir los problemas asociados a la detección de celos en los últimos años se han incorporado técnicas diseñadas para controlar la dinámica folicular y la ovulación permitiendo además sistematizar en gran medida los trabajos reproductivos en los tambos. (Bó y col., 2009). Estos programas de sincronización mejoran la eficiencia de la detección de celos, la tasa de preñez, concentran mejor los partos, y optimizan la mano de obra, mejorando la eficiencia reproductiva (Blanco, 2007). Asimismo, al controlar las ondas foliculares del ovario se aumenta la precisión en la sincronización de los estros, incrementando la fertilidad de la inseminación artificial, e induciendo la actividad cíclica en animales en anestro o vaquillonas prepúberes (Martínez y col., 2007).

Una de las alternativas más útiles para incrementar la cantidad de vacas inseminadas en un período corto y eliminar los problemas de la detección de celos es la utilización de protocolos que sincronizan la ovulación y permiten la inseminación sistemática sin la necesidad de detectar celo, generalmente denominados protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Bó y col., 2009; Glauber, 2007; Viñoles y Cavestany, 2000).

OBJETIVO

Comparar la eficiencia de la sincronización de celos y la fertilidad en vacas Holando en producción al utilizar un mismo protocolo de sincronización de celos empleando GnRH y Prostaglandina F₂ α , variando la fuente de Progesterona y el tipo de Estrógeno.

REVISION 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 de la vaca se define como un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente en el animal no preñado durante todo el año, cuya duración es aproximadamente de 21 días, con un rango de 17 a 24 días (Ungerfeld, 2002). Existen gran número de factores que pueden influenciar la duración del ciclo como ser raza del animal, estación del año, presencia del toro, nutrición, producción láctea y número de lactancias entre otros (Arthur, 1991). Los ciclos estrales 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). En estos animales la ciclicidad estral solo se interrumpe con la gestación, durante las 3 a 6 semanas posteriores al parto, durante una alta producción láctea, cuando existen evidentes deficiencias nutricionales y en ciertas condiciones patológicas (Arthur, 1991; Marcantonio, 1998). Roberts (1979) divide el ciclo estral en dos períodos: fase folicular (o estrogénica) y fase luteínica (o progesterónica). 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 progesterona (Senger, 2003). Otros autores subdividen estos dos períodos en cuatro fases: proestro (día 18 al 21) y estro (día 0), comprendidos en la fase folicular; y metaestro (días 1 al 4) y diestro dentro de la fase

luteal (Peters y Ball, 1991). El proestro es el período que precede al estro. El mismo comienza cuando los niveles de progesterona declinan, como resultado de la regresión del cuerpo lúteo y termina con el inicio del estro. Se considera el período de transición endócrina entre la dominancia progesterónica y la estrogénica, siendo las hormonas gonadotrópicas (FSH y LH) las responsables de dicha transición (Senger, 2003). El útero aumenta de tamaño, el endometrio está congestionado y edematoso y sus glándulas presentan abundante actividad secretora. La mucosa vaginal está hiperémica y el número de capas celulares que forman su epitelio se incrementa, estando cornificadas las más superficiales (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 (Fernández y col., 2007). Según Senger (2003) es el período de reconocimiento más fácil ya que se caracteriza por cambios comportamentales visibles como la receptividad sexual y la monta. El estradiol secretado por el folículo dominante en esta etapa provoca cambios en el tracto genital femenino (Roberts, 1979). Las glándulas del útero, cervix 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 (Arthur, 1991). El metaestro es la fase inmediata posterior al estro, es el período 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 progesterona, 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). En esta fase se reducen las secreciones de las glándulas uterinas, cervicales y vaginales (Arthur, 1991). El período de máxima función luteal y secreción de progesterona corresponde al diestro, y finaliza cuando se produce la regresión del cuerpo lúteo (Senger, 2003). Es la etapa de mayor duración del ciclo pudiendo durar 16 a 17 días en la vaca (Mc. Donald, 1991). Los altos niveles de progesterona promueven un ambiente uterino

adecuado para la nidación y desarrollo del embrión (Senger, 2003). 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).

Control endocrino del ciclo estral

El ciclo estral resulta de la coordinación fundamentalmente de cuatro órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero) (Marcantonio, 1998). Se ha estudiado que la comunicación entre ellos se realiza a través de hormonas, siendo las principales involucradas: la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) secretada por el hipotálamo; la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) secretadas por la hipófisis; el estradiol, la inhibina y la progesterona, de origen ovárico; y la prostaglandina F_{2α} (PG) secretada por el útero (Ungerfeld, 2002).

Hormona GnRH

La hormona liberadora de gonadotrofinas o GnRH es un decapeptido secretado por el hipotálamo que desempeña un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento de la reproducción; como su nombre lo indica la función más conocida es el control de la secreción de las hormonas gonadotrópicas LH y FSH (Ungerfeld, 2002). En el hipotálamo existen dos centros liberadores de GnRH, el centro tónico y el centro preovulatorio. 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 continua durante toda la vida reproductiva del animal. El centro preovulatorio 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 progesterona, lográndose la liberación preovulatoria de GnRH (Senger, 2003). Cada centro tiene diferentes sensibilidades al feedback positivo y negativo. El centro preovulatorio es más sensible al feedback positivo que producen los estrógenos,

mientras que el centro tónico lo es frente al feedback negativo ejercido por la progesterona; el por qué de esta sensibilidad es tema de investigación aún (Senger, 2003).

Hormonas gonodotrópicas

Las hormonas FSH y LH se sintetizan en forma continua y se almacenan en la glándula hipófisis, de donde se liberan a lo largo del ciclo estral (Mc. Donald, 1991). Como su nombre lo indica juegan un rol fundamental en la estimulación de las gónadas; son las principales mediadoras del sistema nervioso central sobre las actividades endócrinas y gametogénicas de las gónadas (Ungerfeld, 2002). Su secreción está regulada por la hormona GnRH y los esteroides gonadales (Hafez, 2002). Mientras que los retrocontroles de las gónadas sobre la FSH, ejercidos por el estradiol, progesterona, inhibina, activina y folistatina, actúan primariamente a nivel hipofisiario, la mayoría de los retrocontroles sobre la LH se efectúan a nivel hipotalámico, modulando la liberación de GnRH (Ungerfeld, 2002). Ambas hormonas son las responsables de la emergencia de las ondas foliculares y la selección de un folículo dominante (Huanca, 2001). Elevaciones de la concentración plasmática de FSH son responsables de la emergencia de una onda folicular, la que posteriormente es suprimida por productos de los folículos en crecimiento. El folículo que primero adquiere receptores para LH llega a adquirir la condición de folículo dominante mientras que los restantes se convierten en subordinados y van a sufrir atresia (Adams y col., 1992). El folículo dominante secreta cada vez más estrógenos e inhibina los que inhiben la secreción de FSH y al mismo tiempo estimulan al centro preovulatorio hipotalámico provocando un incremento de los niveles de LH (Senger, 2003). Este incremento llega a ser de hasta 20 a 80 veces mayor que los niveles basales, lo que se conoce como el pico de LH. El proceso ovulatorio se desencadena a partir de éste, determinándose el estallido del folículo preovulatorio y la liberación del ovocito; lo que en la vaca ocurre unas 24 a 30 horas luego de iniciado el celo (Ungerfeld, 2002).

Hormonas ováricas

El ovario produce dos hormonas esteroides importantes, estradiol 17 beta y progesterona, 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 (Mc. Donald, 1991).

Estrógenos

El principal estrógeno biológicamente activo, es el estradiol 17 beta, los otros estrógenos, estriol y estrona, se consideran metabolitos del estradiol. La testosterona se sintetiza a partir del colesterol (el precursor común de las hormonas esteroides) en las células de la teca interna bajo el control de la LH y FSH. La testosterona se convierte en estradiol 17 beta, en las células de la granulosa por la acción de la enzima aromatasa (Peters y Ball, 1991). 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 el anabolismo proteico y tienen actividad epitelio-trófica (Ungerfeld, 2002).

Progesterona

Es la hormona progestacional más importante producida por el cuerpo lúteo del animal cíclico, y por el cuerpo lúteo y la placenta durante la preñez, siendo necesaria para el mantenimiento de la misma (Mc. Donald, 1991). Su secreción es estimulada por la hormona LH principalmente (Hafez, 2002). Las concentraciones plasmáticas de la progesterona 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). Se le atribuyen las

siguientes funciones: prepara el endometrio para la implantación del embrión y mantenimiento de la preñez, aumenta la actividad de las glándulas secretorias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio; desarrolla el tejido secretor de las glándulas mamarias (Hafez, 2002). En concentraciones altas, inhibe el estro y la liberación de gonadotropinas de la glándula hipófisis. En las vacas esto puede regular la duración del diestro, porque en cuanto el cuerpo lúteo deja de secretar progesterona, sigue una descarga de FSH, que provoca el desarrollo de los folículos (Mc.Donald, 1991). Se ha visto que el descenso de los niveles sanguíneos de progesterona, en acción sinérgica con el aumento de niveles de estrógenos provoca la conducta del celo (Mc.Donald, 1991). 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).

Hormonas uterinas

Muchas clases de prostaglandinas se encuentran en diferentes tejidos de mamíferos. Desde el punto de vista reproductivo la prostaglandina de mayor importancia es la prostaglandina F₂α (PG), la cual es sintetizada y liberada por el útero a partir del ácido araquidónico (Ungerfeld, 2002). Hay quienes no las consideran hormonas en un sentido estricto, utilizando los términos “parahormona” u “hormona local” debido a que las mismas no son secretadas por ninguna glándula en particular y tienen una vida media muy corta que solo les permite tener acciones locales (Ungerfeld, 2002). 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 principal función de la prostaglandina es causar la luteólisis o regresión del cuerpo lúteo en el animal no preñado. Los requerimientos para que ésto se lleve a cabo son: presencia de receptores de oxitocina en las células endometriales, presencia de un nivel crítico de oxitocina y síntesis PG por el endometrio (Senger, 2003). Se ha demostrado que la

PG se libera desde el día 17 del ciclo, de una manera pulsátil y que la secreción continúa, durante un período de 2 o 3 días o al menos hasta que la concentración de progesterona sea mínima (Peters y Ball, 1991). La administración exógena de prostaglandina entre los días 7 y 18 del ciclo, provoca la manifestación de celo en la vaca, 60 a 80 horas post-inyección. Cabe destacar que en esta especie el cuerpo lúteo es refractario a la acción de la hormona en los primeros días del ciclo (Senger, 2003).

En la Figura 1 se esquematizan las relaciones hormonales del ciclo estral.

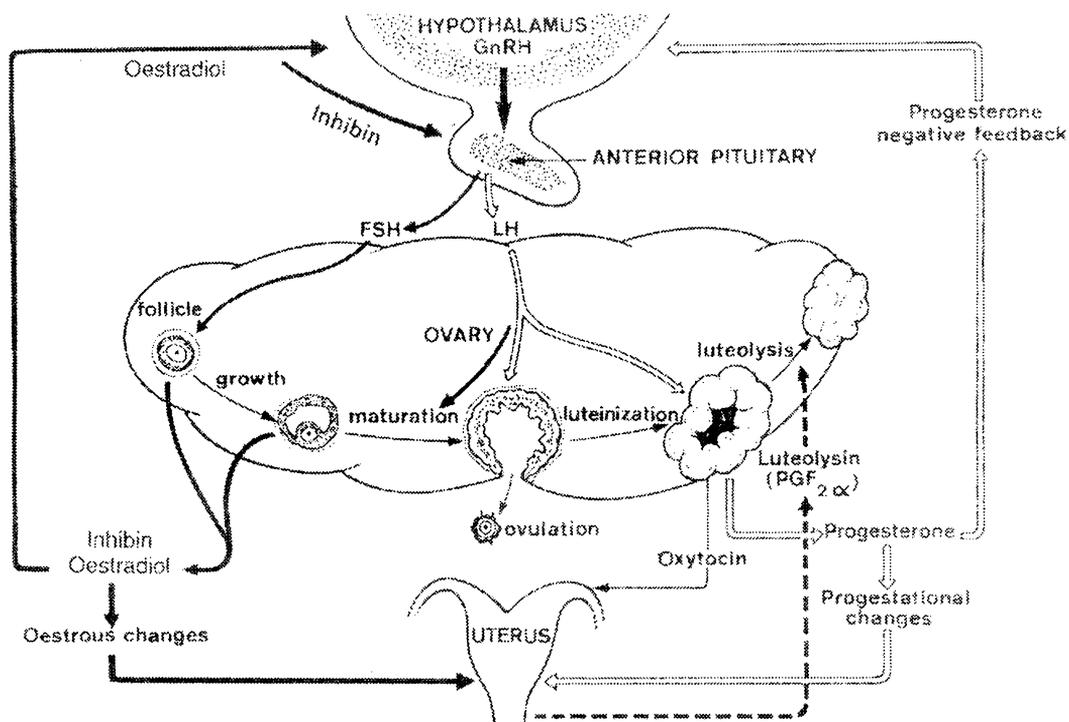


Figura 1 - Esquema del control hormonal del ciclo estral (Fuente: Peters y Ball, 1991)

Dinámica folicular

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). Involucra 4 procesos: reclutamiento, selección, dominancia y atresia. El reclutamiento es la fase de desarrollo folicular en donde un grupo de pequeños folículos comienzan a crecer y a

producir estrógenos (Lucy, 2008; Senger, 2003). El crecimiento se produce en ondas, cada onda se caracteriza por la emergencia de un grupo de folículos con un diámetro de 4 mm que crecen por 2 o 3 días y uno de ellos es seleccionado, continúa creciendo y se convierte en folículo dominante e inhibe el crecimiento del resto de los folículos, llamados subordinados, los cuales se vuelven atrésicos y regresan (Ungerfeld, 2002) (Figura 2). 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 el 95% de los ciclos estrales de los bovinos hay dos o tres ondas e independientemente del patrón de desarrollo folicular, la primer onda comienza luego de la ovulación (día 0). La segunda onda comenzará el día 9 o 10, para los ciclos de dos ondas, y el día 8 o 9, en los ciclos de tres ondas, en éstos la tercera emerge en el día 15 o 16, siendo las dos primeras anovulatorias (Bó y col., 2000). El desarrollo folicular está controlado por la secreción de hormonas provenientes de la hipófisis, el cuerpo lúteo y los folículos. Se ha demostrado que hay incrementos de las concentraciones de FSH dos días antes de la emergencia de cada onda, esta descarga sería la responsable del reclutamiento de los folículos (Bó y col., 2000; Ungerfeld, 2002). Posteriormente, a medida que se produce el crecimiento de los folículos, los niveles de FSH van disminuyendo a consecuencia de la inhibina y el estradiol producidos por los mismos. Estos autores plantearon que a medida que se acerca el momento de la desviación folicular, el folículo de mayor tamaño secreta grandes cantidades de estradiol, lo que sumados a la inhibina generan un ambiente fuertemente inhibitorio sobre la secreción de FSH (Callejas, 2004).

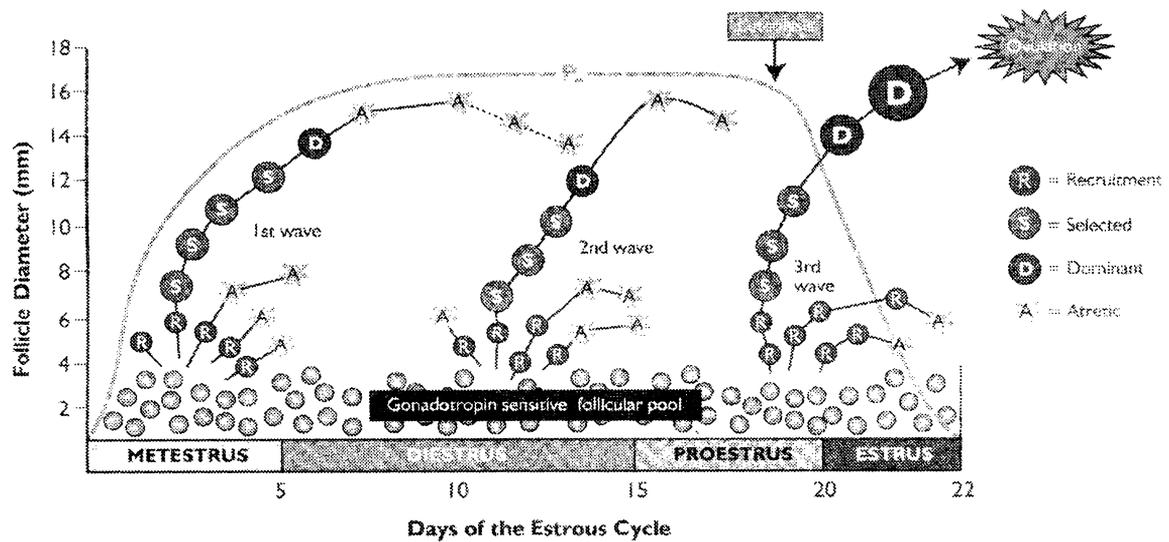


Figura 2 - Ondas foliculares del ciclo estral de tres ondas (Fuente: Senger, 2003)

Comportamiento estral

Las vacas pueden ser detectadas en celo debido a que durante este período muestran un comportamiento específico y signos físicos que pueden verse en el animal (Marcantonio, 1998; Van Eerdenburg, 2009). El perfil hormonal que lleva a la expresión de celo en la vaca es un alto nivel de estrógenos en sangre y la caída de los niveles de progesterona. Estos altos niveles de estrógeno y baja concentración de progesterona son considerados prerrequisitos para la expresión de celo, pero no son los que en última instancia inducen el comportamiento clásico de celo. Estas señales son desconocidas, pero incluyen neurotransmisores y posiblemente neuropéptidos (Becaluba, 2006).

Características de comportamiento primarias

a) *Aceptación de la monta*

Generalmente se acepta que el criterio más seguro para saber si una vaquilla o vaca se encuentra en celo es el que acepte ser montada por el toro u otra vaca (Becaluba, 2006; Foote 1975; Marcantonio, 1998; Peters y Ball, 1991; Sepúlveda y

Rodero, 2003; Van Eerdenburg, 2009). La receptividad de la monta consiste en la inmovilidad de la hembra durante 6 a 8 segundos al ser montada por el toro u otra compañera del grupo (Becaluba, 2006). Sin embargo estudios recientes han reportado bajos números de comportamiento de quietud (Van Eerdenburg, 2009), por lo que una serie de signos complementarios de comportamiento estral, que de por sí mismos no pueden significar que una vaca esté apta para la inseminación, se han utilizado por la mayoría de los sistemas y ayudas para la detección (Peters y Ball, 1991; Van Eerdenburg, 2006).

Características de comportamiento secundarias

Estos signos secundarios llevan a que algunos animales del rodeo interactúen, conformando el denominado grupo sexualmente activo (GSA) (Marcantonio, 1998).

a) Actitud de monta

La característica secundaria de comportamiento más constante del celo es la actitud de montar. El 95% de las hembras en celo montan a otras integrantes del GSA, pero solamente el 30-40% de las hembras que montan está en celo (Marcantonio, 1998; Van Eerdenburg, 2009). Según Van Eerdenburg (2009) una vaca puede ser considerada en celo cuando monta otra vaca dos veces en 24 hs y el comienzo del comportamiento de monta es el mejor predictor del momento de la ovulación (Roelofs y col., 2005; Van Eerdenburg, 2009). Las montas pueden ser craneales o "desorientadas", cuando el animal activo monta a otro por la cabeza, (Marcantonio, 1998) siendo altamente discriminativo de que una vaca se encuentra en estro (Britt y col., 1986; Van Eerdenburg, 2009).

b) Montada moviéndose

Puede servir como una indicación de proestro, dado que las vacas cercanas al estro son más atractivas para las vacas en celo, quienes intentaran montarlas (Van Eerdenburg, 2009).

c) *Incremento de la actividad*

Las vacas se encuentran inquietas, caminan con mayor frecuencia, interrumpen el pastoreo y se reduce el tiempo de rumia, pudiendo disminuir también la producción de leche (Arthur, 1991; Foote, 1975; Marcantonio, 1998; Sepúlveda y Rodero, 2003).

d) *Mugidos*

El mugir de forma continua puede ser un síntoma de celo (Marcantonio, 1998; Van Eerdenburg, 2009), sin embargo en vacas de tambo solo algunos animales muestran este signo, por lo que el potencial selectivo para la vaca lechera es bajo (Van Eerdenburg, 2009).

e) *Flehmen*

Los animales pueden manifestar el reflejo de Flehmen o levantamiento del labio superior (Sepúlveda y Rodero, 2003). A pesar de que también es observado durante el diestro, tiene una alta frecuencia durante el estro (Van Eerdenburg, 2009).

f) *Olfateo de vulva*

La vaca en celo suele olfatear y lamer los genitales de otras vacas, pero también es receptora de esta actividad por parte de las otras vacas del rebaño (Becaluba, 2006; Marcantonio, 1998; Sepúlveda y Rodero, 2003) y generalmente es seguido por el flehmen (Arthur, 1991; Van Eerdenburg, 2009).

g) *Encuentros cabeza-cabeza*

Presentan las clásicas "topadas". El componente agresivo de comportamiento se explicaría por la conformación de un nuevo grupo dentro del rodeo, el GSA, lo que llevaría a peleas por el establecimiento de un nuevo orden social (Marcantonio, 1998).

h) *Apoyo de mentón*

Lo más frecuente es que antes de intentar la monta la vaca en celo coloque la barbilla sobre la zona dorsal de una compañera con objeto de inspeccionar su posible receptividad a ser montada, signo que se considera como un buen indicador

de celo (Arthur, 1991; Van Eerdenburg, 2009).

Signos físicos

Las hembras en celo presentan una serie de signos físicos que pueden ser evidenciados sin necesidad de que interactúen con el GSA, los cuales complementan la sintomatología del celo pero no deben ser tomados como indicadores únicos (Marcantonio, 1998).

a) *Descarga vulvar mucosa*

Cuando un hilo largo de mucus (50cm) claro y viscoso cuelga de la vagina, la vaca puede ser considerada en celo, pero no es confiable como indicador de celo ya que puede ser visto por varios días en ciertos animales (Arthur, 1991; Becaluba, 2006; Van Eerdenburg, 2009). Esta descarga de origen cervical es más evidente en vaquillonas que en vacas y se hace más notoria en el momento que la vaca monta a otra (Marcantonio, 1998).

b) *Edematización de vulva*

Producto de la acción de los estrógenos, que incrementan la irrigación del aparato genital la vulva se encuentra ligeramente edematosa y congestionada (Arthur, 1991; Foote, 1975; Marcantonio, 1998).

c) *Pelos de la grupa*

Por las reiteradas montas podemos observar que los pelos de la región pélvica quedan revueltos, despeinados, e incluso pueden verse peladuras con relación a las saliencias óseas, lo que nos indica que ese animal fue montado aún sin haber sido observado por el operador (Marcantonio, 1998; Van Eerdenburg, 2009).

d) *Aumento de la temperatura corporal*

La hembra en celo aumenta su temperatura corporal en 0,3 a 1,1 °C. Este cambio es muy variable y de corta duración. El aumento también se ve reflejado en la temperatura la leche (aumento de 0,2 a 0,4 °C) (Marcantonio, 1998).

Estos signos físicos auxiliares se manifiestan a medida que el animal se acerca al estro, se vuelven más frecuentes e intensos en él y declinan después del mismo (Mc.Donald, 1991).

Factores que afectan el comportamiento de la vaca en celo

- *El macho*: el coito acorta la duración del período de celo y puede acelerar el momento de la ovulación (Cavestany y Méndez, 1993; Mc. Donald, 1991). Por otro lado Ahmed (2007) describe que la ausencia de feromonas del macho disminuye la secreción de GnRH por el hipotálamo y consecuentemente la liberación de LH provocando inactividad ovárica.

- *El clima*: una temperatura ambiente elevada puede reducir no solamente la duración, si no también la intensidad del celo. Puede incluso aumentar la frecuencia de anestros o celos no detectados. Las lluvias intensas provocan una disminución de la actividad sexual (Ahmed, 2007; De Silva y col., 1981; Sanders, 2005; Van Eerdenburg, 2009; White y col., 2002; Youngquist y Threlfall, 2007). En climas templados o moderados la duración del estro puede ser de 20 a 30% más duradero que en vacas de ambientes muy calurosos o fríos (Sepúlveda y Rodero, 2003).

- *Momento del día*: la mayoría de los autores apuntan a que el comienzo del celo se produce durante la noche o a primera hora de la mañana (Sepúlveda y Rodero, 2003). Cavestany describe que la ocurrencia de celos es mayor en horas de la noche, encontrando el 70% entre las 18:00 y las 06:00 horas (Cavestany, 2005). Estudios realizados por De Silva y col., (1981), demuestran que los animales en celo, presentan mayor actividad estral durante la mañana que durante la tarde, lo que concuerda con reportes de Foote (1975). Mientras que otros encontraron una mayor actividad de monta por la tarde (Gwazdauskas y col., 1983).

- *Razas y líneas genéticas*: está establecido que *Bos indicus* muestra una duración e intensidad del estro mucho más débil que *Bos taurus*. En los derivados del *Bos taurus* se han encontrado variaciones entre razas en la intensidad de celo, pero

también entre individuos de diferente color de capa (Sepúlveda y Rodero, 2003).

- *El número de la población sexualmente activa*: cuando el número de vacas en celo aumenta, el número de montas (actividad sexual) por período de celo aumenta (Cavestany y Méndez, 1993). Además se ha reportado que al introducir una vaca en celo a un grupo de animales se estimula el comportamiento estral (aumentando las montas) (Van Eerdenburg, 2002).

- *El número de celos posparto*: a medida que aumentan los celos posparto la actividad de monta también aumenta (Cavestany y Méndez, 1993).

- *Nutrición*: la subnutrición lleva a una alta incidencia de inactividad ovárica, disminución de la expresión de celo y bajas tasas de ovulación (Ahmed, 2007). Así mismo el intervalo desde el parto a la ovulación está inversamente relacionado al promedio del balance energético durante los primeros 20 días de lactación (Sanders, 2005; Youngquist y Threlfall, 2007).

- *Estrés*: varios autores concuerdan en que un período de estrés para los animales resulta en una disminución de la liberación de la GnRH y como consecuencia en los picos de LH, retrasando la ovulación y alterando los patrones normales de comportamiento estral (Hilary y Smith, 2000; Nanda y col., 1990; Stoebel y Moberg, 1982).

- *Producción de leche*: aunque hay autores que sostienen que no existe una correlación negativa entre producción de leche y manifestación de celo (Britt y col., 1986.), estudios más recientes han demostrado que altos niveles de producción de leche reducen la duración del estro así como su expresión. Los niveles de estrógenos en el estro y la duración e intensidad del mismo son afectados inversamente por la producción elevada de leche (Glauber, 2007; Lopez y col., 2004).

- *Edad de la vaca*: en vaquillonas la duración del celo es menor que en vacas

adultas (Mc. Donald, 1991). Por otro lado estudios demuestran que las vacas de más edad presentan mayor actividad de monta que las más jóvenes, (Gwazdauskas y col., 1983), pudiendo ser por una mayor dominancia y experiencia de las primeras sobre las segundas (De Silva y col., 1981).

- *Superficie donde se encuentran los animales:* la superficie donde montan las vacas influye en la duración del celo y en la actividad de monta y aceptación de ella. Superficies de cemento, mojadas y pisos de los corrales disminuyen la exteriorización del celo (Ahmed, 2007; Fernández y col., 2006). Son preferibles pisos de tierra o una cama de paja espesa (Van Eerdenburg, 2009). Esto concuerda con estudios realizados por Britt y col., (1986), quienes describieron que el factor que más afectaba la manifestación de celo era la superficie donde se observaba a los animales en celo.

- *Sistemas de producción:* cualquier sistema de alojamiento de los animales que no permita que éstos interactúen entre ellos a lo largo del día lleva a una menor manifestación de celo (Ahmed, 2007). Otros estudios reportan que los animales que viven en confinamiento, al liberarlos para la detección de celos, demuestran un mayor número de montas por hora que aquellos que viven durante todo el año en la pastura (De Silva y col., 1981; Gwazdauskas y col., 1983). Esto podría sustentarse con lo sugerido por Britt y col., (1986) de que llevar los animales a un lugar distinto de su rutina diaria despertaría la actividad sexual.

Detección de celos

Zarco (1990), en una revisión sobre los factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en bovinos de leche, define la eficiencia de la detección de celos como el porcentaje de vacas en estro que son detectadas en celo y la precisión de la detección de celos como el porcentaje de vacas detectadas en estro que realmente están en celo (Cavestany, 2000a). La ausencia de un método eficiente de detección de celos, limita extremadamente el desempeño reproductivo en vacas lecheras en lactancia. En un gran porcentaje de vacas que se encuentran

ciclando, el período en que se presenta el celo no es detectado (Balla y col., 2006; Alnimer 2005). En Uruguay, la eficiencia de la detección de celos se encuentra entre el 40 y 55% (Cavestany y col., 2007).

Dentro de los factores que afectan la eficiencia de la detección de celos se enumeran:

- 1- el tiempo dedicado a la observación de los animales.
- 2- el horario en que se realiza.
- 3- el cabal conocimiento de los signos de celo.
- 4- las características físicas del área donde se realiza la detección de celos.
- 5- responsabilidad y motivación que tengan las personas encargadas de la tarea.

De los 5 puntos mencionados, a excepción del 4° todos están relacionados de manera directa a factores humanos (Cavestany, 2000a).

Métodos de detección de celos

Observación visual

Este método consiste en que una persona responsable de la tarea observe el rodeo para identificar aquellas hembras que presenten el único indicador específico de celo: la pasividad a la monta. Un programa de detección de celo 3 veces por día (al amanecer, mediodía y atardecer) o 2 veces por día (al amanecer y al atardecer) por un período de 1 hora puede detectar el 90% de los celos que ocurren (Cavestany y Méndez, 1993). La observación visual es el método más común de detectar una vaca en celo, sin embargo estudios recientes indican que la intensidad de los síntomas mostrados por los animales no es tan alta como se describía anteriormente, siendo uno de los mayores problemas la falta de eventos de quietud en los animales en celo (Van Eerdenburg, 2009). Dado esto Van Eerdenburg y col., (1996), han desarrollado un sistema de cuantificación del comportamiento estral, el cual incluye además de la aceptación de la monta otras características de comportamiento de celo. Dentro de este sistema, en base a la frecuencia de los comportamientos durante el estro y el diestro, una vaca suma puntos por cada signo comportamental que despliegue, los cuales se suman durante un período de 24

horas; el umbral de determinación de una vaca en celo es de 50 puntos (Van Eerdenburg, 2009) .

Son importantes la frecuencia, duración y tiempo de observación. Los animales deben observarse durante períodos en los que no se distraen por otras actividades y cuando están en libertad de interactuar entre ellos. El observador debe estar bien entrenado y conocer a los animales y su comportamiento, no debiendo realizar la detección durante otras actividades, como alimentación. Las mejores observaciones serían después del ordeño y alimentación, en la mañana, temprano en la tarde y en las últimas horas de la tarde. Para ser efectivos, los períodos de observación deberían durar más de 20 minutos (Becaluba, 2006; Van Eerdenburg, 2009).

Se recomienda para una mejor detección un sistema de registros donde se anote, por separado, los animales que aceptaron la monta y los que demuestran los signos secundarios (Fernández y col., 2006).

Métodos auxiliares y/o complementarios a la observación visual

Hay una gran variedad de ayudas para la detección de celos. Muchas de ellas son beneficiosas como complemento de un programa bien organizado de detección visual y no deberían ser considerados como sustitutos de la observación (Becaluba, 2006).

- a) Métodos detectores de pasividad a la monta: pintar la base de la cola; animales detectores; dispositivos detectores de la presión de monta; televisión en circuito cerrado.
- b) Métodos basados en la medición de la actividad física: podómetros; collares.
- c) Métodos detectores de cambios no visuales: cambios a nivel cervico-vaginal; cambios en la temperatura corporal o de leche; detección de progesterona.
- d) Métodos basados en el control del ciclo estral: la utilización de programas de control del ciclo estral, efectuados mediante el uso de hormonas, simplifica o elimina, en caso de inseminación artificial a tiempo fijo, el problema de detección de celos.

Control artificial del ciclo estral

La regulación de la actividad ovárica se ha convertido en una herramienta muy útil y de creciente uso en explotaciones lecheras comerciales. Los objetivos que se persiguen son: programas de reproducción controlada (sincronización de celos); regulación de ondas foliculares para mejorar la precisión de la sincronización de celos; reducción de la incidencia de los celos no detectados; y mejorar la eficiencia de la inseminación artificial (Cavestany, 2002).

La mayoría de los sistemas de sincronización emplean un método para controlar el desarrollo de la onda folicular; prevenir la ovulación prematura en vacas cíclicas y promover la ovulación en vacas en anestro; provocar la regresión del cuerpo lúteo y sincronizar el celo y la ovulación al final del tratamiento (Lucy, 2008). Para que tengan aplicación práctica no deben ser costosos y deben alcanzar una buena respuesta en términos de fertilidad (Cavestany, 2000b). Un tratamiento de sincronización de celos 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). Esto facilita la implementación de la inseminación artificial (IA) a celo detectado y dependiendo de la combinación hormonal utilizada, se generan las condiciones para realizar una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), sin la necesidad de realizar detección de celos (Callejas, 2004). Las hormonas usadas para controlar el ciclo estral son idénticas (análogas) a las hormonas reproductivas que se encuentran en la vaca (Lucy, 2008). Dentro de las principales que se utilizan para manipular el ciclo estral se encuentran la PG, GnRH, Estrógenos y Progesterona.

El uso de la PG en la sincronización de celos

La utilización de PG para la sincronización de celos es una herramienta excelente. La prostaglandina es la sustancia natural producida por el útero de la vaca para causar la regresión normal del cuerpo lúteo. Por lo tanto una inyección de PG es una manera de inducir selectivamente la regresión del cuerpo lúteo de forma similar al proceso normal (Cavestany, 2002). Algunos de los análogos sintéticos que existen

en el mercado son Cloprostenol, Delprostenate, Alfaprostol, Etiproston, Fenprostaleno, etc. Como es sabido, dependiendo del momento en que se administra la PG será la respuesta que se obtenga. Del día 1 al 4 (metaestro) no se observa respuesta dado que se ha producido la ovulación y el cuerpo lúteo está en desarrollo. En los días 5 y 6 (diestro temprano), la respuesta es parcial, se está llegando al final del desarrollo del cuerpo lúteo. Entre los días 7 y 17 (diestro), el cuerpo lúteo está desarrollado y es sensible al efecto luteolítico de la PG y, por último, entre los días 18 a 21 (proestro), el cuerpo lúteo no es funcional y no hay respuesta a la acción de la PG (Callejas, 2004). Una de las desventajas de esta hormona es la variabilidad en la distribución de presentación de celo en un período hasta de 5 días, debida al estado folicular al momento del tratamiento (Huanca, 2001). En vacas de leche en producción la respuesta a esta hormona es más errática que en vaquillonas ya que mientras en esta categoría un 73% presenta estro dentro de los 5 días luego del tratamiento, en vacas en producción el porcentaje de celos en los primeros 5 días oscila entre un 12 y un 35% (Cavestany, 2002). El promedio más bajo del intervalo al estro en vacas cíclicas, se da cuando se inyecta PG de manera temprana (días 7 a 9), o de manera tardía (día 14 a 16) en el ciclo estral. Cuando se inyecta en los días 10 a 12 del ciclo se pueden observar 3 a 7 días de intervalo al estro, ya que el folículo dominante de la primera onda está sufriendo la atresia y el folículo dominante de la segunda onda es inmaduro aún (Lucy, 2008). La variación en el intervalo al estro luego de la inyección de PG puede verse disminuida si las inyecciones son administradas en series (intervalos de 11 a 14 días) o si la sincronización folicular se lleva a cabo 7 días antes de la inyección de PG (Lucy, 2008). En vacas en lactación los cambios metabólicos y hormonales alteran el desarrollo folicular del ovario, de modo que esta categoría de animales entra en celo más tarde que vaquillonas o vacas no lactando. Por lo tanto un intervalo de 11 días entre inyecciones resulta en una mayor proporción de vacas en etapas tempranas del ciclo al momento de la segunda inyección. Debido a esto, un intervalo de 14 días entre inyecciones en vacas en producción resulta en una mejor respuesta traducida en mayor porcentaje de preñez y disminución de días abiertos (Cavestany, 2002).

Protocolo con dosis única de PG

Este método de sincronización se recomienda para vacas en lactancia, realizando previa palpación de un cuerpo lúteo funcional y detección de celo 1 a 7 días post-inyección (Blanc y col., 1994). Estos autores indican que la precisión de la detección de la presencia de un cuerpo lúteo funcional, mediante palpación rectal han oscilado entre 71 y 96%, y que la respuesta a la inyección única de PG de esas vacas fue de 64 a 72% hasta los 8 días posteriores a ésta. La precisión de la palpación rectal para determinar funcionalidad ovárica está sujeta a errores los cuales son debidos fundamentalmente a la presencia de cuerpos lúteos no funcionales o a cuerpos lúteos pequeños ubicados en el interior del ovario, los cuales pueden no detectarse fácilmente a la palpación. Por lo que se estudió que la determinación de progesterona en leche previo a la inyección de PG mejora significativamente los resultados en términos de inseminación y porcentaje de preñez (Cavestany, 2000b). La utilización del tratamiento con una dosis de PG permite ahorrar la mitad del sincronizante empleado que en los tratamientos convencionales de 2 inyecciones (Cavestany, comunicación personal).

Protocolo con doble dosis de PG

- Doble aplicación de prostaglandina 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 cíclicos normalmente el efecto luteolítico se da aproximadamente en el 60% de las vacas. Con la segunda aplicación de PG se introduce en estro al resto de los animales. A partir de las 48 hs de la segunda inyección se comienza a detectar celo e inseminar por 2 a 3 días (Becaluba, 2006).

- Doble aplicación de prostaglandina 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 prostaglandina. Los animales son observados después de la primera aplicación por 96 horas e inseminados. Los que no se detectaron en celo, reciben una segunda

dosis de prostaglandina y son inseminados cuando demuestran el celo, que se da la mayoría de las veces entre las 48 y 96 hs. A pesar de la economía de la hormona, tiene como desventaja en relación al método original la observación de un período más largo de celos (Becaluba, 2006). Todos los protocolos con prostaglandina como única hormona, son indicados solamente para animales cíclicos, resultando en completo fracaso cuando se aplican en animales con condiciones nutricionales deficitarias y en estado de aciclia (Becaluba, 2006), debido a la ausencia de un cuerpo lúteo maduro en estas vacas (Yániz y col., 2004).

El uso de la GnRH en la sincronización de celos

El avance en el conocimiento de la fisiología del ciclo estral ha permitido en los últimos años encarar la sincronización de celos trabajando no sólo sobre la funcionalidad del cuerpo lúteo, sino también sobre la dinámica folicular. La utilización de un tratamiento con GnRH induce la ovulación de los folículos dominantes (de por lo menos 10 mm de diámetro) y el posterior desarrollo de una nueva onda folicular (Colazo y col., 2007). La GnRH sincroniza la emergencia de una nueva onda folicular solamente cuando es administrada en presencia de un folículo dominante funcional, 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 protocolos utilizados en vacas ciclando

- Select Synch:

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

La utilización de un tratamiento con GnRH induce la ovulación de los folículos dominantes y el posterior desarrollo de una nueva onda folicular y la inyección de

PG 7 días después causa la regresión del cuerpo lúteo. Esto se demostró monitoreando la dinámica folicular ovárica por ultrasonido y determinando los cambios hormonales (Balla y col. 2006). Numerosos estudios describen un porcentaje más alto en la sincronización de celos cuando se administra GnRH 6 o 7 días antes de la PG (cerca de un 80%) comparado con la administración única de PG (50-60%) (Yániz y col., 2004).

- Ovsynch:

GnRH-PG-GnRH: GnRH, a los 7 días PG y una segunda inyección de GnRH a las 48 horas, con IATF aproximadamente 16 horas más tarde (Amer, 2008).

La GnRH causa la luteinización u ovulación de los folículos grandes presentes en el ovario y el consiguiente inicio de una nueva onda de desarrollo folicular, en tanto la PG administrada 7 días más tarde provoca la regresión de las estructuras luteales formadas. Una segunda dosis de GnRH asegura la ovulación del folículo dominante de la siguiente onda. La inseminación a las 15-16 horas de la segunda dosis de GnRH permite la fecundación del ovocito liberado (Viñoles y Cavestany, 2000). La sincronía de la ovulación a la segunda GnRH y las tasas de preñez obtenidas a la IATF con este esquema son dependientes de que la primera inyección con GnRH induzca la ovulación del folículo dominante y consecuentemente sincronice el desarrollo folicular; por lo tanto se han llevado a cabo distintos procedimientos para mejorar el protocolo Ovsynch (Balla y col., 2006). Se ha demostrado recientemente que la fase del ciclo estral en el momento en el que se administra la GnRH afecta los resultados del programa Ovsynch. Si se administra GnRH durante la primera fase de crecimiento del folículo dominante, es posible que no se produzca la ovulación en respuesta a liberación de LH, en cuyo caso, no se sincronizará la emergencia de la onda folicular. Los animales responderán de manera más consistente a los protocolos con GnRH si éstos se inician entre los días 5 y 12 del ciclo; ésto se puede lograr con la presincronización antes de la primera inyección de GnRH (Bó y col., 2009). Huanca (2001) ha descrito que este protocolo ha sido más eficaz en vacas lecheras en lactancia que en vaquillonas. La ovulación en repuesta a la primera

aplicación de GnRH ocurrió en el 85% de las vacas y en solo el 54% de las vaquillonas (Huanca, 2001). 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).

- PreSynch-Ovsynch-IATF

PG-PG-GnRH-PG-GnRH: El denominado procedimiento Presynch involucra dos inyecciones de PG, administradas cada 14 días siendo la segunda inyección administrada 12 días antes del inicio del protocolo Ovsynch.

De esta manera se logra comenzar el protocolo Ovsynch en etapas tempranas de la fase luteal, días 5-12 del ciclo estral, lo que resulta en una mayor precisión en la sincronización de celo y un mayor porcentaje de preñez (Moreira y col., 2001). En diversos estudios las tasas de preñez de vacas multíparas se vieron incrementadas en un 13% con una inyección de PG administrada antes del protocolo Ovsynch, mientras que las preñeces se incrementaron entre un 12-14% en todas las vacas en lactancia con dos inyecciones de PG (PreSynch) (Cutaia y Bó, 200-)

El uso de la progesterona en la sincronización de celos

Intentos iniciales para regular el ciclo estral involucraron la administración exógena de progesterona (P4) o progestágenos sintéticos, para prolongar la fase luteal del ciclo estral o establecer una fase luteal artificial. 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 progesterona 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 hs. después (Senger, 2003). Los progestágenos además de mejorar la sincronización de celos también inducen estro y ovulación en un porcentaje aceptable de vacas en anestro (Lammoglia y col. 1998; Lucy 2008; Yániz y col.,

2004). Se utilizan con frecuencia para inducir la ciclicidad ovárica en vaquillonas prepúberes y vacas en anestro postparto (Lammoglia y col. 1998). Se ha demostrado que tratamientos prolongados con progestágenos por 14 o 21 días son efectivos para la sincronización de celos, sin embargo la fertilidad de estos celos es reducida. La buena sincronización de celos se debe a que el patrón de onda folicular no es mantenido y los folículos grandes persisten seguidos de una luteólisis espontánea y la razón de la baja fertilidad se debe a la ovulación de ovocitos anormales y envejecidos (Larson y Ball, 1992). La duración de la exposición a los progestágenos y la fertilidad dependen del momento del ciclo estral en que es iniciado un tratamiento con P4. 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 esta clase de hormonas se encuentra la progesterona natural, y los progestágenos sintéticos como son el Acetato de Melengestrol (MGA), Acetato de Fluorogestona (FGA), Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) y Norgestomet (Mapes).

Los métodos de administración de progestágenos incluyen: administración oral, inyectable, dispositivos intravaginales e implantes subcutáneos de liberación controlada (Larson y Ball, 1992).

Dispositivos intravaginales

Actualmente en el mercado se encuentran disponibles diferentes tipos de dispositivos intravaginales los cuales contienen concentraciones variadas de progesterona, como por ejemplo: CIDR® (1,9 g de progesterona), CRONIPRES® (0,500 g de progesterona), PRID® (1,55 g de progesterona), DIB® (1 g de progesterona), DISPOCEL® (1 g de progesterona), etc. (Becaluba, 2006). Estos

dispositivos se colocan en la vagina el día 0 del tratamiento y se retiran el día 7 u 8, logrando concentraciones sanguíneas de P4 por encima de 1ng/ml durante al menos 5 días (Cavestany, 2008).

Progesterona inyectable

La progesterona inyectable es una P4 natural en base oleosa y de liberación lenta (Cavestany y col., 2008). La administración parenteral de esta hormona permite obtener ciertos beneficios frente a los más comúnmente utilizados dispositivos de liberación controlada (implantes intravaginales y subcutáneos), no se pierde tiempo en su colocación y posterior retiro y se evita la contaminación ambiental al no tener que ser eliminados (Cavestany y col., 2008). Además se ha estudiado que la colocación de dispositivos intravaginales causan vaginitis local en el 50-65% de las vacas, aunque esta inflamación no afecte la tasa de preñez, influencia negativamente la salud del animal (Chenault y col., 2003). Estudios determinaron que en vacas ciclando, luego de la administración de P4 inyectable los niveles iniciales de P4 fueron superiores a los obtenidos con dispositivos intravaginales y se mantuvieron más de 4 días por encima de 1 ng/mL, descendiendo luego hasta 0,28ng/ml el día 9 post-tratamiento (Cavestany y col., 2008).

Combinación de progesterona y PG

La combinación de un dispositivo intravaginal con progesterona (DIV) y una PG mejora la sincronización de celo y la tasa de preñez en comparación con tratamientos con PG sola. La administración de progesterona 7 días antes de la PG asegura que el cuerpo lúteo regrese en respuesta a la PG, ya que las vacas van a tener un cuerpo lúteo de al menos 7 días (Fogwell y col., 1986; Lucy y col., 2001). De todas maneras no es eficaz cuando gran parte de los animales a tratar están en anestro o son prepúberes (Lucy y col., 2001)

Combinación de progesterona y GnRH

Como ya se dijo anteriormente la utilización del protocolo Ovsynch no tuvo éxito para sincronizar las vacas en anestro postparto por lo que en los últimos años se ha combinado la utilización de un dispositivo de liberación de P4 con el protocolo Ovsynch en vacas de leche no cíclicas (Bó y col., 2009). En este protocolo, se coloca el dispositivo de liberación de P4 en la vagina en el momento en que se administra la primera inyección de GnRH del protocolo Ovsynch y el dispositivo se retira al administrar la PG, 7 u 8 días más tarde. Los resultados en las tasas de preñez de vacas con o sin dispositivos varían generalmente entre el 6 al 8% (Bó y col., 2009). Una de las razones de ésta variación es que la falta de exposición a progesterona antes de la ovulación natural o inducida por la GnRH resulta en un mayor riesgo de encontrar fases luteas cortas, en donde la luteólisis ocurre alrededor del día 10 del ciclo estral, momento en el cual el embrión no llega a enviar la señal para bloquear la cascada luteolítica, resultando en un menor número de vacas preñadas (Chebel y col., 2010). Por otro lado estudios demuestran que la utilización de progestágenos en conjunto con GnRH y PG en protocolos de IATF reduce la incidencia de ovulaciones prematuras, es decir antes de la inyección de la PG y mejora la sincronización de celo (Chebel y col., 2010)

El uso de los estrógenos en la sincronización de celos

El tratamiento con estrógenos en presencia de una concentración luteal de progesterona reduce tanto la concentración de FSH como la frecuencia de los pulsos de LH, resultando en regresión folicular, seguido de una nueva onda en 3 a 5 días (Alnimer, 2005). Es por esta razón que varias veces se combina progesterona más estrógenos resultando en la supresión de las ondas presentes y la emergencia sincrónica de una nueva onda folicular (Bó y col.,1995; Burke y col., 2000). La administración de estrógenos un día después de la luteólisis produce el pico de LH y comportamiento de celo (Alnimer 2005). A través de la estimulación de la GnRH hipotalámica, la fuente estrogénica aplicada un día después de la prostaglandina, potencia la frecuencia en los pulsos de LH produciendo el pico y la ovulación. Por

ello se puede substituir la inyección de GnRH por estrógenos en los protocolos de sincronización teniendo como ventaja un menor costo y la inducción de las características normales del celo (Stevenson y col., 2004). Se detectan menos picos de LH al utilizar estrógenos porque la GnRH es el factor inmediato para la liberación de LH desde la hipófisis, no el estrógeno (Stevenson y col., 2004). Con el estrógeno se produce el pico de LH 30 horas luego de la inyección y se produce una ovulación más dispersa que con la GnRH (Cavestany y col., 2002).

Hay varios tipos de estrógenos que pueden ser utilizados, 17 beta 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). Se ha observado que vacas tratadas con benzoato de estradiol alcanzan la máxima concentración sanguínea más tarde que cuando se tratan con 17 beta estradiol, pero más rápido que con el cipionato de estradiol (Souza y col., 2005). Asimismo el 17 beta estradiol resulta en un descenso más rápido a niveles basales luego de alcanzar el pico máximo que el benzoato de estradiol (Souza y col., 2005). También es importante tener en cuenta la producción de leche de las vacas a tratar, ya que se estudió que en vacas de alta producción cuyo metabolismo es muy alto se produce una reducción en las concentraciones de estradiol circulantes, que varias veces termina con fallas en la fertilidad (Souza y col. 2005).

Combinación de estrógenos con progesterona

La combinación de estrógenos y progestágenos tiene un poder aditivo sobre la inhibición de la FSH y LH resultando en la supresión de las ondas presentes y la emergencia sincrónica de una nueva onda folicular de 3 a 5 días después (Bó y col., 2000). Además los estrógenos al tener la capacidad de producir atresia folicular disminuyen la infertilidad en protocolos basados en progesterona causada por el crecimiento y la ovulación de folículos viejos (Burke y col., 1999). La aplicación de estrógenos junto con la inserción de un dispositivo con P4 durante 7 días, detienen

el crecimiento del folículo dominante e inducen la emergencia de una nueva onda folicular en forma sincrónica (Balla y col., 2006). Si esto es seguido de una inyección de PG al ser retirado el dispositivo y una inyección de estradiol 24 a 30 horas después de retirado el dispositivo para inducir estro y ovulación se logra mejorar la sincronización en vacas ciclando y en anestro (Day y col., 2000; Lammoglia y col., 1998).

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). Como ventajas tenemos que este protocolo tiene un costo menor y más vacas manifiestan el celo que en el Ovsynch y si bien hay una mayor variabilidad en la respuesta las tasas de gestación son comparables con las del protocolo Ovsynch (Stevenson y col., 2004; Kasimanickam y col., 2005). Para obtener el máximo beneficio con este protocolo se recomienda inseminar las vacas que son observadas en celo antes del tiempo para la IATF e inseminar a tiempo fijo todas las vacas que no demostraron el celo (Kasimanickam y col., 2005).

Combinación de GnRH, progesterona, PG y estrógenos

Al utilizar la GnRH al inicio del tratamiento evitamos la presencia de folículos persistentes que pueden aparecer cuando el tratamiento con progesterona comienza después del día 13 del ciclo estral (Schmitt y col., 1996). Esto también se puede lograr suplantando la GnRH por estrógenos (Day y col., 2000) obteniendo un protocolo más económico (Stevenson y col., 2004). Pero, según Ryan y col., (1995) la administración de GnRH es más efectiva que el estradiol cuando se da al inicio de un tratamiento con progesterona. La progesterona previene las ovulaciones espontáneas que suelen ocurrir cuando el folículo no es lo suficientemente maduro para responder a la GnRH (Murugavel, 2003). Administrar un agente luteolítico como

la PG el día que finaliza el tratamiento con la P4 permite obtener buenos resultados de sincronización y una buena fertilidad, ya que como se ha desarrollado anteriormente, cuando los tratamientos con P4 comienzan al inicio del ciclo estral el cuerpo lúteo existente podría sobrevivir a la hormona exógena provocando una mala sincronización de celos (Larson y Ball, 1992). La administración de estradiol 24-30 horas luego de finalizar el tratamiento con P4 sincroniza un pico de LH aproximadamente 16 a 18 horas después y la ovulación aproximadamente 24-32 horas después del pico de LH (Colazo y col., 2007). El estradiol debería ser aplicado a las 24 hs de haber retirado el dispositivo, una vez que la progesterona haya desaparecido por completo y no a las 0 hs cuando podría haber progesterona circulando, provocando una nueva sincronización de la onda folicular o forzando la ovulación de un folículo todavía "no maduro" (Cesaroni y col., 2007). Aplicando el estradiol a las 0 hs, habría una mayor dispersión en el momento de la ovulación que aplicándolo a las 24 hs (Cesaroni y col., 2007). Se ha descrito que esto no solo aumentó el número de animales en estro sino que además mejora la sincronización de celos (Murugavel, 2003). Xu y col., (2000) encontraron que se mejoran las tasas de preñez al administrar GnRH e insertar un dispositivo intravaginal con progesterona el día cero; retirar el dispositivo e inyectar PG el día 7, y el día 9 una inyección de estrógenos, cuando se compara con un tratamiento con dispositivo y estrógenos solamente.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo fue realizado en el tambo experimental del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela, ubicado en el departamento de Colonia, Km 11 de la ruta 50.

Animales y manejo

El 1° de setiembre de 2009 (último mes del período de servicios) se realizó una ecografía a todas las vacas con más de 28 días de inseminadas y de un total de 280 animales se seleccionaron 55 que estaban vacías y ciclando al examen (presencia de cuerpo lúteo a la ultrasonografía). Las vacas tenían entre 2 y 6 lactancias, con una condición corporal de $2,47 \pm 0,03$ puntos (escala de 1 al 5 de Edmonson y col., 1989), con $104,1 \pm 7,8$ días pos parto y una producción de leche de $21,8 \pm 0,7$ litros diarios. Los animales fueron repartidos al azar en cuatro grupos, los que se mantuvieron en un solo lote, separados del resto del rodeo, para facilitar la detección del celo y demás actividades hasta el 20 de octubre. Se ordeñaban dos veces por día, a las 4 y 16 horas, permaneciendo el resto del día pastoreando. La alimentación consistía en una mezcla de pasturas (50%), silo de maíz (30%) y concentrado (20%), éste último administrado la mitad durante el ordeño y la otra mitad con el silo, el cual se suministraba en un potrero a las 10 a.m.

Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y se retiró el dispositivo intravaginal. Día 8: se administró 1 mg i.m de estradiol 17 beta (Estradiol17β®, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

Grupo 3 MAD-4 + BE (n= 10)

Día 0: inyección i.m de 8 µg de un análogo sintético de la GnRH (GnRH®, Acetato de Buserelina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y administración de 200 mg subcutáneo de progesterona natural (Progesterona, MAD-4®, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Día 7: se administró 500 µg i.m de un análogo sintético de la prostaglandina F2α (Prostaglandina®, Cloprostenol, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Día 8: se administró 1 mg i.m de Benzoato de Estradiol (Estradiol 10 ®, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

Grupo 4 MAD-4 + E17 (n= 10)

Día 0: inyección i.m de 8 µg de un análogo sintético de la GnRH (GnRH®, Acetato de Buserelina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y administración de 200 mg de progesterona natural en base oleosa vía subcutánea (Progesterona, MAD-4®, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Día 7: se administró 500 µg i.m de un análogo sintético de la prostaglandina F2α (Prostaglandina®, Cloprostenol, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). Día 8: se administró 1mg de estradiol 17 beta i.m (Estradiol17β®, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

DetECCIÓN DE CELOS, ULTRASONOGRAFÍA OVÁRICA, INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ

A partir del día 7 se detectó celo tres veces por día, a las 7, 13 y 19 horas, durante 30 minutos, mediante la observación visual en el lugar habitual de pastoreo de los animales tratando de no interferir en sus comportamientos normales. La primera detección comenzó el día 7 a las 13 horas y la última se realizó a las 19 horas del

día once. A cada animal se le aplicó un parche (EstroTECT™, Heat Detector, USA) en la zona lumbo sacra y se lo identificó mediante un número que se pintó en la zona costal con el fin de mejorar la detección de celo. Esta actividad se llevó a cabo entre 4 personas, 3 observaban los animales y registraban en planillas y 1 se encargaba del manejo de los animales.

Para la detección de los celos se tomó en cuenta el sistema de Van Eerdenburg y col. (1996) que cuantifica cada uno de los comportamientos de celo. Dentro de este sistema, en base a la frecuencia de los comportamientos durante el estro y el diestro, una vaca suma puntos por cada signo comportamental que despliegue, los cuales se suman durante un período de 24 horas; el umbral de determinación de una vaca en celo es de 50 puntos (Van Eerdenburg, 2009) (Cuadro 1).

Cuadro I: Escala de puntos para el comportamiento estral en vacas.

Comportamiento	Puntos
Descarga vaginal mucosa	3
Flehmen	3
Inquietud	5
Montada moviendose	10
Olfateo de vulva	10
Apoyo del mentón	15
Monta o intento de monta	35
Monta por la cabeza	45
Aceptación de la monta	100

Fuente: Van Eerdenburg (2009)

Durante los días 7 y 8 del tratamiento se midió el diámetro de los folículos en el ovario mediante ultrasonografía transrectal, utilizando un equipo ALOKA SSD500 con transductor lineal con una frecuencia de 5.0 Mhz. Para obtener el diámetro de los folículos preovulatorios se tomó en cuenta el diámetro mayor. A partir del día 7 se realizó inseminación artificial a los animales que presentaban celo y el día 9 se realizó IATF a los restantes animales. Todos los animales fueron inseminados por la misma persona utilizando semen congelado de un solo toro. Se realizó diagnóstico de gestación el día 34 post inseminación mediante ecografía transrectal utilizando el mismo equipo que para la medición de los folículos. El día 10 se tomaron muestras de leche de 4 vacas (2 muestras de las vacas que presentaban DIV y 2 de las

RIA en fase sólida (Siemens).

Análisis estadístico

Las relaciones entre los protocolos de sincronización para el puntaje de comportamiento de celo, intervalo tratamiento-celo, diámetro folicular y preñez fueron analizadas a través del programa G-STAT student 2.0. Los procedimientos estadísticos implicados fueron: ANOVA, Chi Cuadrado, y correlación de Spearman. Se realizó ANOVA para estudiar las siguientes variables entre los cuatro grupos: puntuación del comportamiento de celo, intervalo tratamiento-celo y diámetro folicular. Para estudiar la manifestación de celo para los diferentes grupos se realizó Chi Cuadrado, al igual que para analizar la preñez. Para estudiar la correlación entre el diámetro folicular y la puntuación de comportamiento de celo se utilizó la correlación de Spearman.

RESULTADOS

De las 55 vacas del experimento, 4 de las que presentaban DIV fueron descartadas por presentar celo durante el tratamiento de sincronización, antes del retiro de los dispositivos intravaginales.

Puntuación del comportamiento de celo

Con respecto al comportamiento de celo, 24 de las 51 vacas (47%) tuvieron una puntuación mayor de 50 en un período de 24 horas; 18 vacas (35%) no llegaron a 50 puntos en 24 horas y 9 vacas (18%) no mostraron ningún signo de comportamiento de celo durante el mismo período de tiempo. La media de la puntuación de las vacas que presentaron signos de celo en 24 horas fue para el grupo 1: 233 (ds 282), para el grupo 2: 181 (ds 363), para el grupo 3: 161 (ds 343) y para el grupo 4: 140 (ds 315). Las diferencias de los puntajes entre los grupos no fueron estadísticamente significativas ($P= 0,902$), tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos con DIV o MAD-4 ($P= 0,546$). No se encontraron diferencias significativas en el puntaje obtenido entre los grupos tratados con benzoato de estradiol y 17 beta estradiol. ($P= 0,667$). En la figura 4 se muestra la dispersión de la puntuación de comportamiento de celo para cada grupo.

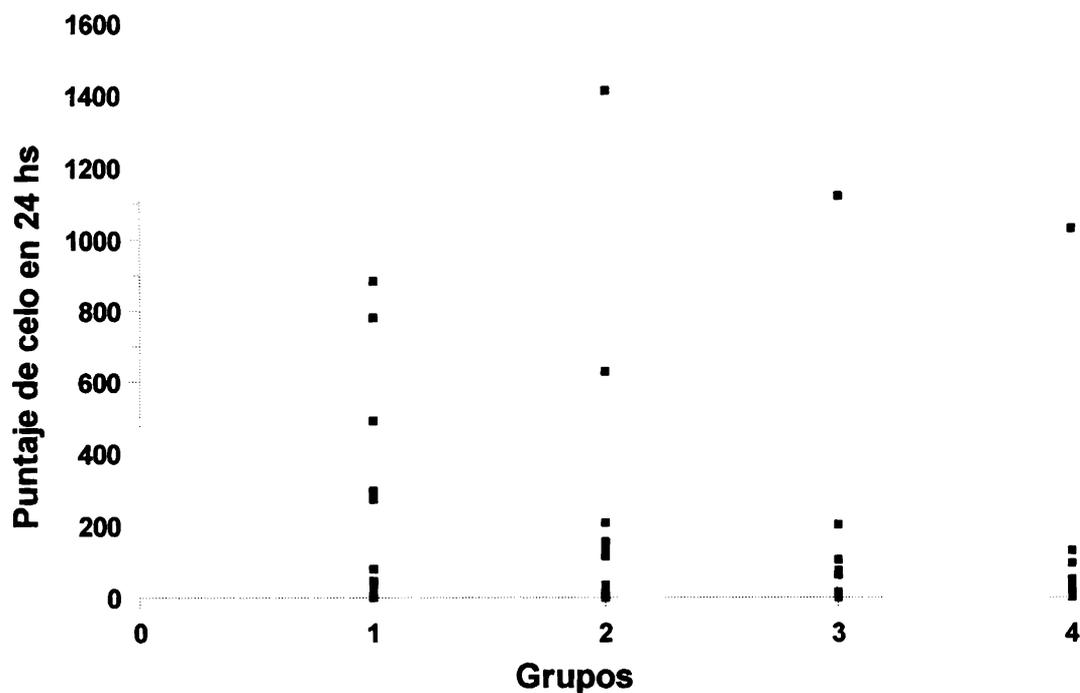


Figura 4- Dispersión de la puntuación de comportamiento de celo obtenido en vacas Holando en producción. Se utilizó el máximo de puntos obtenidos de cada vaca en 24 horas. Grupos: 1:DIV+BE, n=15; 2:DIV+E17, n=16; 3:MAD-4+BE, n=10; 4:MAD-4+E17,n=10. (P > 0.05).

Manifestación de celo

Los resultados de las puntuaciones de manifestación de celo se dividieron en 3 categorías: < 50 puntos, de 50 a 199 y 200 o más puntos. Las vacas dentro de las dos últimas categorías son las consideradas en celo. De las 51 vacas, 24 (47%) manifestaron celo (obtuvieron más de 50 puntos). No se encontró diferencia significativa entre los grupos en cuanto a la manifestación de celos (P= 0,909), ni en cuanto a la distribución dentro de las 3 categorías (P= 0,216). De las 42 vacas que presentaron algún signo de celo, 10 (24%) permitieron la monta.

Cuadro II: Número de vacas Holando en producción en cada categoría de puntuación de comportamiento de celo y porcentaje de celo obtenido en cada grupo. Grupos: 1:DIV+BE; 2:DIV+E17; 3:MAD-4+BE; 4:MAD-4+E17. (P > 0.05).

Grupo	n	Puntos			% celo *
		< 50	50 – 199	>200	
1	15	7	1	7	53,3
2	16	9	4	3	43,7
3	10	5	3	2	50,0
4	10	6	3	1	40,0

*Se define en celo a los animales que presentan más de 50 puntos en 24 hs.

Intervalo tratamiento-celo

Las primeras vacas comenzaron a entrar en celo 4 horas después de finalizado el tratamiento de sincronización y la última lo hizo a las 52 horas de haber finalizado el tratamiento. Se consideró como fin de tratamiento el día de la administración de los estrógenos (día 8 del protocolo de sincronización). No hay diferencias estadísticamente significativas entre los intervalos de los 4 grupos (P= 0,195); las vacas tratadas con la progesterona subcutánea demoraron más en demostrar celo que las vacas con dispositivos intravaginales, ya que se encontró una diferencia significativa al comparar los grupos con DIV (12,2 hs) frente a los grupos con MAD-4 (22,6 hs) (P= 0,031).

No hubo diferencias entre los grupos tratados con 17beta estradiol y benzoato de estradiol, por lo tanto el tipo de estrógeno no influyó en el inicio de celos (P= 0,611).

En la figura 5 se representan las medias de los intervalos entre el último tratamiento y el comienzo de los celos para cada grupo.

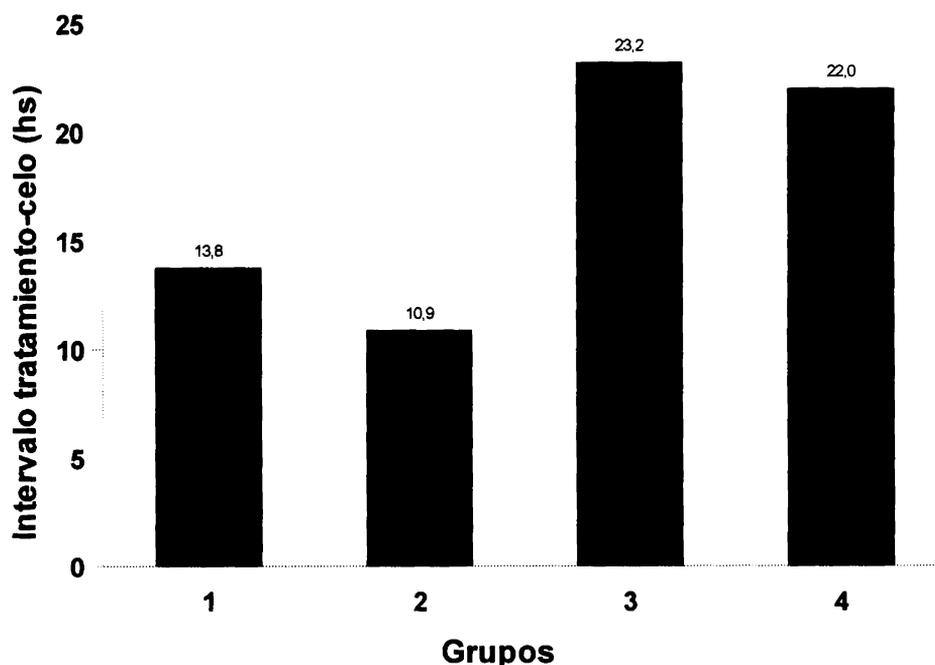


Figura 5 - Medias de los intervalos desde el fin del tratamiento de sincronización (día 8 del protocolo) al inicio de los celos en vacas Holando en producción. Grupos: 1:DIV+BE, n=15; 2:DIV+E17, n=16; 3:MAD-4+BE, n=10; 4:MAD-4+E17,n=10. (P>0.05).

Diámetro folicular

Los diámetros foliculares máximos medidos el día 8 variaron de 5 a 20 mm., con una media para el grupo 1: $12,0 \pm 3,8$ mm; grupo 2: $14,0 \pm 4,4$ mm; grupo 3: $12,0 \pm 0,5$ mm y grupo 4: $13,0 \pm 0,5$ mm. No hubo diferencia significativa en los diámetros foliculares entre los grupos ($P=0,840$) y tampoco hubo correlación significativa entre los diámetros foliculares y el comportamiento de celo ($r=0,26$), como se muestra en la figura 6.

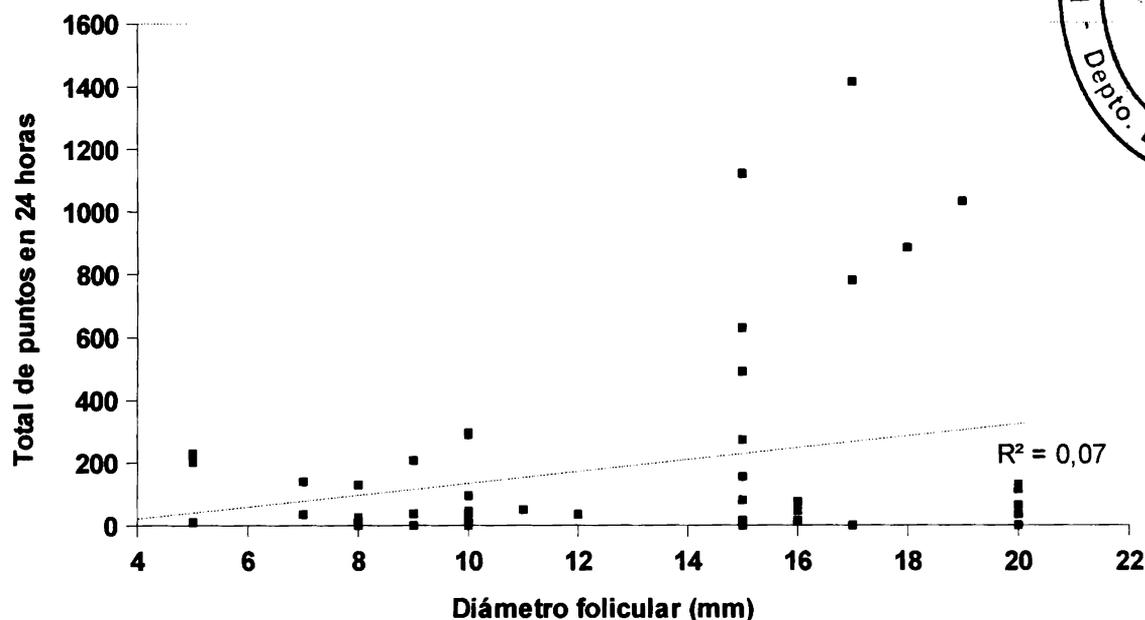


Figura 6 – Relación entre el diámetro mayor de los folículos preovulatorios medidos el día 8 del protocolo de sincronización y el puntaje de comportamiento de celo en vacas Holando en producción ($P > 0,05$).

Concentración de progesterona

El resultado de la determinación de progesterona el día 10 del tratamiento no arrojó diferencias entre los 4 grupos. Todas las muestras tuvieron una concentración de progesterona en sangre de $< 0,5$ ng/ml.

Preñez

De las 51 vacas, 15 (30%) se encontraron preñadas. De estas 15, sólo 3 vacas presentaron celo, 9 presentaron algunos signos de celo pero no llegaron a 50 puntos y 3 no presentaron ni un signo de celo durante las observaciones. Los porcentajes de preñez fueron para el grupo 1: 26,6%; grupo 2: 25,0%; grupo 3: 30,0% y grupo 4: 40,0%. Las diferencias entre los porcentajes de preñez entre los grupos no fueron significativas ($P = 0,862$); ni tampoco fueron significativas al agrupar los grupos 1 y 2 juntos, y 3 con el 4 ($P = 0,481$). Los porcentajes de preñez de cada grupo se muestran en la siguiente figura.

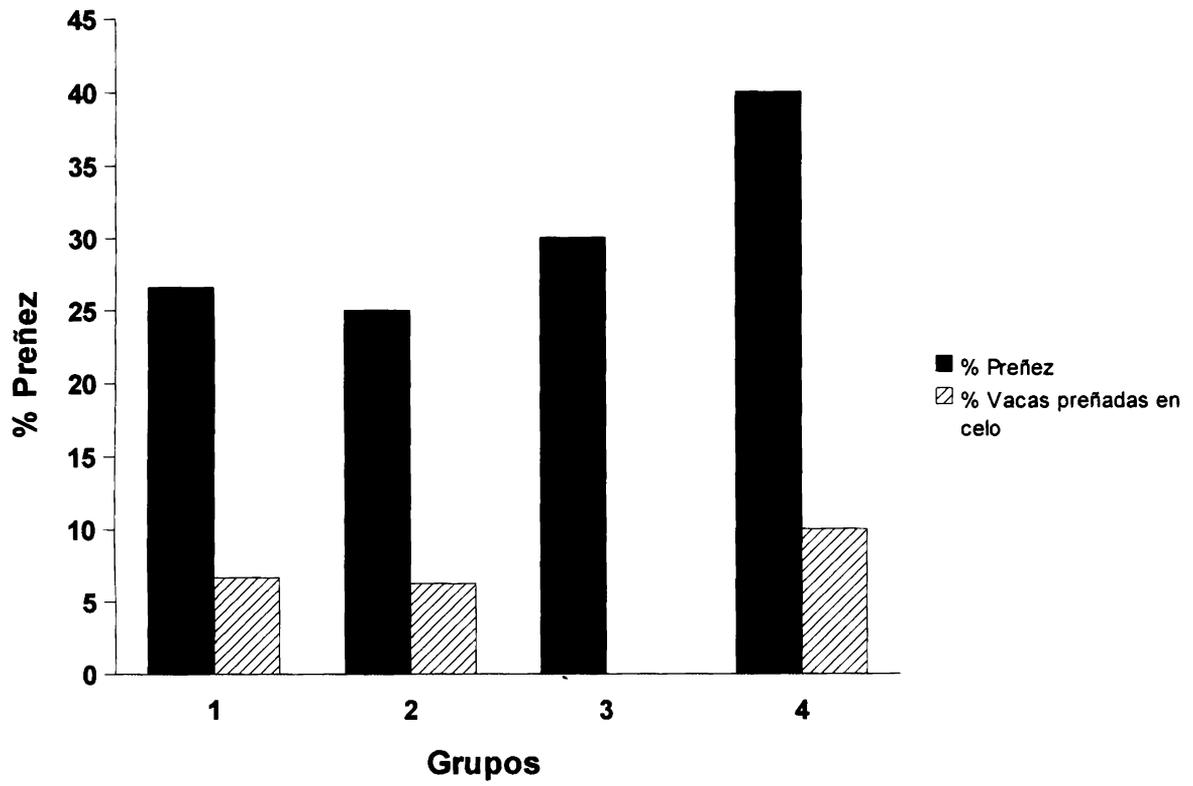


Figura 7 - Porcentaje de preñez obtenidos en vacas Holando en producción. Las barras negras indican los porcentajes de preñez y las barras rayadas indican el porcentaje de vacas preñadas que manifestó celo. Grupos: 1:DIV+BE, n=15; 2:DIV+E17, n=16; 3:MAD-4+BE, n=10; 4:MAD-4+E17,n=10. (P>0.05).

DISCUSION

Puntuación de comportamiento de celo

Como describen los resultados anteriormente no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la puntuación de celo para los diferentes grupos. Si bien obtuvimos puntuaciones mayores que las reportadas por Van Eerdenburg (2002) no debemos dejar de lado que en nuestro ensayo los celos en gran medida fueron inducidos por la administración de estrógenos exógenos. Por otro lado las diferencias podrían deberse también a que las observaciones fueron realizadas en diferentes contextos. La primera diferencia radica en que en el estudio de Van Eerdenburg (2002) los animales son alojados en establos, mientras que en nuestro ensayo permanecen en la pastura durante las observaciones, pudiendo tener una mayor interacción entre ellos y por lo tanto mayor manifestación de comportamientos de celo, dando así un puntaje más alto. Por otro lado el autor realiza dos observaciones por día en contraposición a las tres que se realizaron en el presente estudio, lo que podría arrojar diferencias en los puntajes obtenidos. Otra diferencia es el número de ordeñes entre los ensayos, mientras que en su estudio los animales eran ordeñados tres veces al día, en nuestro ensayo se ordeñaban dos veces al día, permaneciendo más tiempo en la pastura interactuando. A pesar de las diferencias en cuanto a los diseños experimentales de los dos ensayos, es importante destacar que el sistema de puntuación desarrollado por Van Eerdenburg y col. (1996) tiene un fundamento objetivo que es la alta correlación que existe entre la visualización de los signos de celo y los concentraciones de estradiol en sangre (Lyimo y col., 2000), pudiendo aplicarse en distintos sistemas productivos.

Manifestación de celo

El total de animales detectados en celo fue de 47%, menor de lo esperado y encontrado en otras investigaciones, ya que en ensayos reportados por Cavestany y col. (2004, 2005) se obtuvieron porcentajes de detección de celos desde un 52 % a un 80%. Por otro lado Carbajal y col. (2005), obtuvieron un 77%, mientras que

estudios realizados por Xu y col. (2000) arrojaron un 93,2 %. A pesar de los resultados anteriores, debemos destacar que en términos generales en Uruguay el porcentaje de detección de celos en vacas lecheras no supera el 60% (Cavestany, 2005), porcentaje que aún sigue siendo superior a los obtenidos en el presente estudio.

El número de animales que aceptó la monta representa el 24% del total, resultando menor que lo reportado en investigaciones donde obtuvieron 37%, 50%, 53% de aceptación de monta (At-Taras y Sphar, 2001; Van Eerdenburg y col., 2002; Lyimo y col., 2000, respectivamente), lo que indica una pobre manifestación de celo de los animales. Esta baja manifestación de celo podría explicarse por diversos factores que incidieron sobre el comportamiento animal al momento de realizado el ensayo. Dentro de éstos, el más implicado podría ser el manejo que recibieron los animales, dada la cantidad de veces que se encerraron las vacas para realizarles los tratamientos, las ecografías y la inseminación; lo que implicaría un cambio sustancial en su rutina provocándoles estrés. Esto concuerda con quienes describen que períodos de estrés en las vacas interfieren en la ovulación y el pico preovulatorio de la LH, influyendo en el patrón normal de comportamiento estral (Stoebel y Moberg, 1982). También hay otros estudios que demuestran que el aumento en los niveles de ACTH reducen indirectamente a través de la GnRH, la cantidad de LH liberada y como consecuencia alteran las funciones reproductivas (Hilary y Smith, 2000). Los corticoesteroides también podrían llegar a tener efectos negativos sobre la reproducción y éstos son liberados en respuesta a factores estresantes agudos en los animales. Se han realizado estudios que comprueban que la administración exógena de corticoesteroides retarda la ovulación y los picos de LH (Cook y col., 1987; Nanda y col., 1990). Otros sostienen que ambos, la ACTH y los corticoides, aumentan los niveles de progesterona (liberada por las glándulas adrenales), bloqueando así la liberación de la hormona luteinizante (Wagner y col., 1972). Por lo que asumimos que cualquier factor que produjo estrés o aumento de los niveles de ACTH o corticoesteroides en los animales durante el ensayo podría ser el responsable de la baja tasa de manifestación celos. Por otro lado pudimos observar que al estar privados de comida y agua durante el encierro, cuando los animales volvían a la pastura dedicaban mucho tiempo a comer en vez de demostrar

comportamiento de celo, influenciando también la tasa de detección de celo. Quizás observar los animales cuatro veces al día en vez de tres hubiera aumentado la tasa de detección de celo, pero dado las condiciones al momento del ensayo: poca cantidad de horas luz por día y lo lejos que se encontraban los animales no se pudo realizar. Y aunque hubiera aumentado la detección de animales en celo lo consideramos una situación poco práctica al momento de llevarla a la realidad.

Intervalo tratamiento-celo

El promedio del intervalo tratamiento-celo de cada uno de los 4 grupos es aceptable tomando en cuenta lo reportado en diferentes trabajos, donde se encontraron intervalos de 12 horas (Carbajal y col., 2005) y 18 a 24 horas (Lammoglia y col., 1998) desde el fin de los tratamientos al comienzo de los celos. Las vacas tratadas con la progesterona subcutánea demoraron más en demostrar celo que las vacas con dispositivos intravaginales. Esta diferencia estadísticamente significativa se le podría atribuir a los intervalos que presentaron dos vacas de los grupos tratados con MAD-4 que entraron en celo mucho más tarde que el resto de los animales (34 y 52 hs. después de finalizado el tratamiento) dando como resultado una media de los intervalos significativamente mayor para estos grupos. Estos datos atípicos podrían deberse a errores en la dosificación de las drogas, detección tardía de celo o individualidades propias de estas dos vacas (falta de respuesta al tratamiento).

Dado que 41,6 % del total de vacas que entraron en celo lo hicieron a las 22 hs de haber finalizado el tratamiento de sincronización se podría pensar en realizar la IATF un día más tarde (día 10) para lograr mejores resultados.

Un resultado negativo acerca de los dispositivos intravaginales fue que 11,4% de las vacas que presentaban los dispositivos intravaginales entraron en celo antes de su retiro (día 7), mientras que ninguna de las tratadas con progesterona inyectable manifestó celo antes de finalizada la sincronización, lo que podría indicar que por algún motivo la P4 no alcanzó niveles adecuados. Si se utiliza un sistema estricto de IATF, las vacas que entraron en celo antes de tiempo serían inseminadas muy tarde y no se lograrían preñar.

Los resultados de los intervalos pudieron haber sido más exactos si se hubiera

detectado celo 4 veces por día en vez de tres veces, así hubiera quedado cubierto el lapso de 12 horas que quedó sin detectar entre la tarde y la mañana siguiente. Bajo las condiciones que realizamos el experimento no era posible detectar celo en la noche.

Diámetro folicular

La media de los diámetros de los folículos el día 8 (un día antes de la inseminación) fue de 13 mm, lo que nos indica que varios folículos no son preovulatorios aún. Esto concuerda con un estudio de Cooperative Regional Research Project realizado en 1996 donde encontraron que el promedio de los diámetros de los folículos preovulatorios era de 19,7 mm y con Townson y col., (2002), quienes obtuvieron folículos preovulatorios de 17,2 mm. La presencia de folículos pequeños en el presente ensayo podría deberse a un retraso en la actividad ovárica por los factores estresantes o por una deficiencia de energía en las vacas, ya que estudios demuestran que una deficiencia energética resulta en un pobre desarrollo folicular (Miyoshi y col., 2001; López, 2006). La deficiencia de energía es una posible causa en este ensayo debido al tiempo que se les privó de alimentarse.

No hubo correlación entre el tamaño del folículo y la puntuación del comportamiento de celo dato que concuerda con trabajos realizados por Van Eerdenburg (2002).

Preñez

El porcentaje de preñez obtenido (30% promedio) se encuentra dentro del rango encontrado en diversos ensayos donde utilizan los mismos o muy similares protocolos de sincronización. Callejas (2007) obtuvo un porcentaje de preñez de 27%, Karimi y col (2007) obtuvieron un rango de 10 a 30% de preñez, mientras que investigadores como Balla y col., (2006), Becaluba (2006), Cutaia y Bó (200-), reportaron porcentajes en el rango entre 30 a 55%.

En estudios realizados en nuestro país y en condiciones similares a nuestro ensayo se obtuvieron porcentajes de un 20% (Cavestany, 2004) y 30% de preñez (Cavestany, 2005).

CONCLUSION

Se puede concluir que al haber obtenido una eficiencia de sincronización de celos y fertilidad similares al variar la fuente de progesterona, la administración inyectable sería un buen reemplazo para el dispositivo intravaginal. Además de estos resultados obtenidos se aplica más fácil, no debe ser removida, y no produce contaminación ambiental al no tener que ser eliminada. Tanto el Benzoato de estradiol como el estradiol 17 beta serían una buena opción al momento de elegir el estrógeno a utilizar en un protocolo de sincronización de celos, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

BIBLIOGRAFIA

1. Adams, G.P, Matteri, R.L, Kastelic, J.P, Ko, J, Ginther,O. (1992). Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 94:177.
2. Ahmed, W.M. (2007). Overview on some factors negatively affecting ovarian activity in large farm animals. *Global Veterinaria* 1:53-66.
3. Alnimer, M. (2005). Comparison of an oestrus synchronization protocol with oestradiol benzoate and Pgf2alfa and insemination at detected oestrus to a timed insemination protocol (Ovsynch) on reproductive performance of lactating dairy cows. *Reproduction Nutrition Development* 45:699-708.
4. Amer, H.A. (2008). Oestrus synchronization in high lactating dairy cows. *Mljekarstvo* 58:33-46.
5. Arthur, G.H, Noakes, D.E, Pearson, H. (1991). *Reproducción y Obstetricia en Veterinaria*. 6ª ed. Madrid, Interamericana-Mc. Graw Hill. 702 p.
6. At-Taras, E.E, Sphar, S.L. (2001). Detection and characterization of estrus in dairy cattle with an electronic heat mount detector and an electronic activity. *Journal of Dairy Science* 84:792-798.
7. Balla, E, Filippi, L, Maraña, Peña, D, Pincinato, D, Peres, L.C, Cutaia, L, Veneranda, G, Martínez, M.F, Bó, G.A. (2006). Efectos de diferentes protocolos de sincronización de la ovulación con dispositivos intravaginales con progesterona sobre el desarrollo folicular y las tasas de preñez de vacas en lactancia. *Jornadas de actualización en biotecnologías de la reproducción en bovinos*. IRAC. Disponible en: www.geraembryo.com.br Fecha de consulta: 24/05/10.

8. Becaluba, F. (2006). Métodos de sincronización de celos en Bovinos. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 15/02/10.
9. Becaluba, F, Becaluba, H. (2006). Nuevas tecnologías para el manejo de la detección de celo. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta: 26/01/10.
10. Bicalho, R, Cheong, S, Warnick, L, Guard, C. (2007). Evaluation of Progesterone Supplementation in a ProstaglandinF2 α - Based Presynchronization Protocol Before Timed Insemination. Journal of Dairy Science 90:1193–1200.
11. Blanc, E, Moraes, J , Ferraris, A. (1994). Respuesta a la sincronización de celos con un análogo sintético de la prostaglandina F2 alfa (Delprostenate) en vacas en ordeño. XXII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, c.c 2.1-c.c 2.5.
12. Blanco Saleme, D.C. (2007). Programas de sincronización de celos y ovulación. Disponible en: www.grupos.emagister.com. Fecha de consulta: 19/01/10.
13. Bó, G, Adams, G, Pierson, R, Mapletoft, R. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology 43:31-40.
14. Bó, G, Bergfelt, D, Brogliatti, G, Pierson, R, Dams, G, Mapletoft, R. (2000). Local versus systemic effects of exogenous estradiol 17-beta on ovarian follicular dynamics in heifers with progesterone implants. Animal Reproduction Science. 59:141-157.
15. Bó, G, Cutaia, L.E, Souza, A.H, Baruselli, E.S. (2009). Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 19/01/10.

16. 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, 13 p.
17. Britt, J.H, Scott, R.G, Armstrong, J.D, Whitacre, M.D. (1986). Determinants of estrous behavior in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 69:2195-2202.
18. Burke, C, Boland, M, Macmillan, K. (1999). Ovarian responses to progesterone oestradiol benzoate administered intravaginally during diestrus in cattle. *Animal Reproduction Science* 55:23-33.
19. Burke, C.R, Day, M.L, Bunt, C.R, Macmillan, K.L. (2000). Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *Journal of Animal Science* 78:145-151.
20. Callejas, S. (2004). Control farmacológico del ciclo estral bovino: Bases fisiológicas, protocolos y resultados. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 19/01/10.
21. Carbajal, B, de Castro, T, Rubianes, E. (2005). Uso de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona y benzoato de estradiol en animales en anestro y ciclando en rodeos lecheros de parición estacionada. *Taurus* 7:20-34.
22. Cavestany, D. (2000a). Eficiencia reproductiva. Manejo reproductivo en vacas lecheras. Serie Técnica 115. INIA La Estanzuela, Uruguay, p. 1-11.
23. Cavestany D. (2000b). 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.
24. 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.
25. Cavestany, D. (2004). Manejo reproductivo y sincronización de celos en vacas de leche ciclando y en anestro. Resultados experimentales en lechería. Actividades de difusión 361. INIA, La Estanzuela, Uruguay, p. 1-21.
26. Cavestany, D. (2005). Manejo Reproductivo en vacas de leche. Producir o no producir? Revista del INIA N° 4, p. 2-5.
27. Cavestany, D, Blanc, E, Ferraris, A, Fernández, M, Pérez, M, Sánchez, A. (2007). Determinación de la duración, intensidad y conducta de celo en vacas en ordeño y vaquillonas Holando sincronizadas con prostaglandina F2alfa. XXXV Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 308-310.
28. Cavestany, D, Fernández, D, Salazar, E, Sánchez, A, Leyton, L, Crespi, D. (2008). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 218-219.
29. Cavestany, D, Meikle, A, Hermann, J, Forsberg, M. (2002). Substitution of GnRH by Estradiol Benzoate (EB) in an Estrus Synchronizartion Protocol in Dairy cows: Ovarian and Endocrine Response. Annual Meeting of the SFT and ACTH. Colorado, USA
30. Cavestany, D, Méndez, J. (1993). El celo y su detección. Manual de inseminación artificial en bovinos. Boletín de Divulgación No. 39. INIA La Estanzuela, Uruguay, p. 27-37.

31. Cesaroni, G, Butler, H.M, Durand, M.J. (2007). Evaluación del uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 19/01/10.
32. Chebel, R, Al-Hassan, M, Fricke, P, Santos, E, Lima, J, Martel, C, Stevenson, J, García, R. (2010). Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93:922-931.
33. Chenault, J.R, Boucher, J.F, Dame, J.K, Meyer, J.A, Wood-Follis, S.L. (2003). Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86:2039-2049.
34. Colazo, M.G, Mapletoft, R.J, Martínez, M.F, Kastelic, J.P. (2007). El uso de tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. Disponible en: www.biblioteca.unlpam.edu.ar Fecha de consulta: 19/01/10.
35. Cook, D.L, Winters, T.A, Horstman, L.A, Allrich, R.D. (1987). Influence of cortisol and dexametasone on estrous behavior of estradiol treated ovariectomized cows and heifers. *Journal of Dairy Science* 70:181-185.
36. Cooperative Regional Research Project (1996). Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. *Journal of Animal Science* 74:1943-1952.
37. Cutaia, L, Bó, G. (200-). Uso de la tecnología de IATF en rodeos lecheros. Disponible en www.produccion-animal.com.ar Fecha de consulta: 19/01/10.
38. Day, M.L, Burke, C.R, Taufa, V.K, Day, A.M, MacMillan, K.L. (2000). The

strategic use of oestradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in lactating dairy herds. *Journal of Animal Science* 78:523-529.

39. De Silva, A.W, Anderson, G.W, Gwazdauskas, F.C, McGilliard, M.L, Lineweaver, J.A. (1981). Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 64:2409-2418.
40. Diskin, M, Austin, E, Roche, J. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 23:211-228.
41. Edmonson, A.J, Lean, L.J, Weaver, L.D, Farver, T, Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cow. *Journal of Dairy Science* 72:68-78.
42. 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.
43. Fernández, M, Pérez, M, Sánchez A. (2006). Determinación de la duración, intensidad y conducta de celo en vacas en ordeño y vaquillonas Holando. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, 48 p.
44. Fogwell, R.L, Kanyima, B.M, Villa-Godoy, A, Enright, W.J, Ireland, J.J. (1986). Enhanced Precision of Estrus and Luteinizing Hormone After Progesterone and Prostaglandine in Heifers. *Journal of Dairy Science* 69:2171-2185.
45. Foote, R.H. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *Journal of Dairy Science* 58:248-252.
46. Glauber, C. (2007). Manejo reproductivo en el rodeo bovino lechero:

propuestas y reflexiones. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta: 26/01/10.

47. Gwazdauskas, F.C, Lineweaver, J.A, McGilliard, M.L. (1983). Environmental and management factors affecting estrous activity in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 66:1510-1514.
48. Hafez, E. (2002). *Reproducción e Inseminación Artificial*. 7ª ed. México. Mc. Graw- Hill, 519 p.
49. Hilary, D, Smith, R.F. (2000). What is stress, and how does it affect reproduction?. *Animal Reproduction Science* 60:743- 752.
50. Huanca, W. (2001). Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Vacas Lecheras. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 12:161-163.
51. Karimi, A, Karami, H, Moini, M.M, Ahmadi Sefat, A.A, Haghvirdilu, E. (2007). Comparison between different protocols of synchronization and their efficiency on pregnancy rate on dairy cattle. *Pakistan Journal of Biological Science* 10:3557-3563.
52. Kasimanickam, R, Cornwell, J.M, Nebel, R.L.(2005). Fertility following fixed time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology* 63:2550-2559.
53. Lammoglia, M, Short, R, Bellows, S, Bellows, R, MacNeil, M, Hafs, H. (1998). Induced and Synchronized Estrus in Cattle: Dose Tritation of Estradiol Benzoate in Peripubertal Heifers and Postpartum Cows After Treatment with an Intravaginal Progesteron-Releasing Insert and Prostaglandin F2alfa. *Journal of Animal Science* 76:1662-1670.
54. Larson, L, Ball, P. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review.

Theriogenology 38:255-267.

55. López, F.J. (2006). Relación entre condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas Holstein. Disponible: www.unicauca.edu.co Fecha de consulta: 19/01/10.
56. Lopez, H, Satter, L, Wiltbank, C. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* 81:209-223.
57. Lucy, M. (2008). Fuentes de infertilidad y soluciones para corregir la infertilidad en las vacas de tambo al postparto. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 70-74.
58. Lucy, M. (2008). Tratamientos para sincronización de celo en vacas de tambo en lactación en sistemas de pastoreo o de feedlot. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 30-34.
59. Lucy, M, Billings, M, Butler, W, Ehnis, L, Fields, M, Kesler, D, Kinder, J, Mattos, R, Short, R, Thatcher, W, Wettemann, R, Yelich, J , Hafs, H.D. (2001). Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2 alfa for synchronization estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *Journal of Animal Science* 72:982-995.
60. Lyimo, Z.C, Nielen, M, Ouweltjes, W, Kruip, T.A.M, Van Eerdenburg, F.J.C.M. (2000). Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology* 53:1783-1795.
61. Mac Millan, K, Peterson, J. (1993). A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction*

Science 33:1-25.

62. Marcantonio, S. (1998). ¿Como y porqué una vaca entra en celo? Disponible en: www.produccionbovina.com Fecha de consulta: 19/01/10.
63. Martinez, J.C, Gutierrez, J.F, Rosillo, P, Lucero, F.A, Gutierrez, E. (2007). Use of intravaginal progesterone releasing devises + eCG- PMSG in a protocol for synchronization of dairy cows. Disponible en: www.produccion-animal.com Fecha de consulta: 19/01/10.
64. Mc. Donald, L .E. (1991). Endocrinología Veterinaria y Reproducción. 4ª ed. México. Interamericana, 551 p.
65. Miyoshi, S, Pate, J.L, Palmquist, D.L. (2001). Propylene Glycol Improves Reproductive Performance in Early Postpartum. Disponible en: www.ohaioline.osu.edu. Fecha de consulta: 23/2/10.
66. Moreira, F, Orlandi, C, Risco, C.A, Mattos, R, Lopes, F, Tatcher, W.W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 84:1646-1659.
67. Murugavel, K. (2003). Reproductive performance of dairy cows following differents éstrous synchronization protocols. Disponible en: www.tesisenxarxa.net Fecha de consulta: 26/02/10.
68. Nanda, A.S, Dobson, H, Ward, W.R. (1990). Relationship between an increase in plasma cortisol during transport-induced stress and failure of oestradiol to induce a luteinising hormone surge in dairy cows. Research in Veterinary Science 49:25-28.
69. Nakao, T. (1998). El uso de GnRH y PGF2alfa para mejorar la eficiencia

reproductiva en los bovinos. XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 30-32.

70. Peters, R.A, Ball, P.J.H. (1991). Reproducción del ganado vacuno. Zaragoza. Acribia, 222 p.

71. Roberts, S.J. (1979). Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción. Buenos Aires. Hemisferio Sur, 1021 p.

72. Roche, J.F, Diskin, M.G. (2005). Introducción hormonal de la ovulación y sincronización del celo en bovinos. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 27-29.

73. Roelofs, J.B, Van Eerdenburg, F.J.C.M, Soede, N.M, Kemp, B. (2005). Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology 63:1366-1377.

74. Ryan, D.P, Snijders, S, Yaakub, H, O' Farrel, K.J. (1995). An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. Journal of Animal Science 73:1904-1910.

75. Sanders, D. (2005). Troubleshooting Poor Reproductive Performance in Large Herds. Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice 21:289-304.

76. Schmitt, E.J, Drost, M, Díaz ,T, Roomes, Thatcher, W.W. (1996). Effect of gonadotropin-releasing hormone agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. Journal of Animal Science 74:154-161.

77. Senger, P.L (2003). Pathways to Pregnancy and Parturition. 2^a ed. Washington. Current Conceptions, 373 p.

78. Sepúlveda, N, Rodero, E. (2003). Comportamiento sexual durante el estro en

vacas lecheras. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta: 26/01/10.

79. Souza, H, Cunha, A, Caraviello, D, Wiltbank, M. (2005). Profiles of circulating estradiol-17B after different estrogen treatments in lactating dairy cows. *Animal Reproduction* 2: 224-232.
80. Stevenson, J.S. (2005). Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice* 21(2):349-365.
81. Stevenson, J, Tiffany, S, Lucy, M. (2004). Use of Estradiol Cypionate as a Substitute for GnRH in protocols for Synchronization Ovulation in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 87:3298-3305.
82. Stoebel, D, Mober, G. (1982). Repeated Acute Stress During the Follicular Phase and Luteinizing Hormone Surge of Dairy Heifers. *Journal of Dairy Science* 65:92-96.
83. Townson, H.D, Tsang, P.C, Butler, W.R, Frajblat, M, Griel, L.C, Johnson, C.J, Milvae, R.A, Niksic, G.M, Pate, J.L. (2002). Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *Journal of Animal Science* 80:1053-1058.
84. Ungerfeld, R. (2002). *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo. Melibea. Tomo 1, 289 p.
85. Van Eerdenburg, F.J.C.M, Loeffler, H.S.H, Van Vliet, J.H. (1996). Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *The Veterinary Quarterly* 18:52-54.
86. Van Eerdenburg, F.J.C.M. (2009). Detección de celo en vacas lecheras: como

vencer al toro. XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 44-54.

87. Van Eenderburg, F.J.C.M, Karthaus, D, Taverne, M.A, Merics, I, Szenci, O. (2002). The Relationship between Estrous Behavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 85:1150-1156.
88. 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.
89. Wagner, W.C, Strohbehn, R.E, Harris, P.A. (1972). ACTH, corticoids and luteal function in heifers. *Journal of Animal Science* 35:789-793.
90. White, F.J, Wettemann, R.P, Looper, M.L, Prado, T.M, Morgan, G.L . (2002). Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. *Journal of Animal Science* 80:3053-3059.
91. Xu, Z.Z, Burton, L.J, McDougall, S, Jolly, P.D. (2000). Treatment of Noncyclic Lactating Dairy Cows with Progesterone and Estradiol or with Progesterone, GnRH, Prostaglandin F₂ α and Estradiol. *Journal of Dairy Science* 83:464–470.
92. Yániz, J.L, Murugavel, K, López-Gatius, F. (2004). Recent Developments in Oestrous Synchronization of Postpartum Dairy Cows with and without Ovarian Disorders. *Reproduction in Domestic Animals* 39:86-93.
93. Youngquist, R, Threlfall, W. (2007). *Current Therapy of Large Animal Theriogenology*. 2^a ed. St. Louis Mo. Saunders, 1061 p.
94. Zarco, L.A. (1990). Factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en el bovino lechero. *Veterinaria México* 3:235-240.