



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

TÍTULO

**COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE
SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIONES CON Y
SIN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO
(IATF) EN VAQUILLONAS PARA CARNE**

Dr. CARLOS H. RUSIÑOL

TESIS DE MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

URUGUAY

Año 2008

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Programa de Posgrado

TÍTULO

**COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE
SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIONES CON Y
SIN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO
(IATF) EN VAQUILLONAS PARA CARNE**

Dr. CARLOS H. RUSIÑOL

Director de Tesis: Dr. Daniel Cavestany, MS, PhD

2008

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

Presidente

Dr. Luzbel R. De la Sota, MS, PhD

Profesor Titular de Reproducción Animal

Jefe del Servicio de Reproducción Animal

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata

República Argentina

Vocal

Dra. Carolina Viñoles, MS, PhD

INIA Tacuarembó

Facultad de Veterinaria

Uruguay

Vocal

Dr. Jorge Gil, MS, PhD

Departamento de Reproducción Animal

Facultad de Veterinaria

Uruguay

2008

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
ABREVIATURAS	
RESUMEN	1
SUMMARY	1
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	4
Ciclo estral, control endocrino y dinámica folicular de la hembra bovina	5
Comportamiento sexual relacionado con el medio ambiente	8
Sincronización de celos	9
Prostaglandina F _{2α} (PG)	9
Hormona Liberadora de Gonadotropinas Hipofisarias (GnRH)	11
Estradiol (E ₂)	12
Evolución de algunos protocolos IATF	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	18
Hipótesis	18
Objetivos	18
ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN	18
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Descripción de predios y protocolos	20
Definición de parámetros de eficiencia reproductiva	23
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
Diseño Experimental	24
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	27
ANÁLISIS DE COSTOS	31
CONCLUSIONES	33
BIBLIOGRAFÍA	34

AGRADECIMIENTOS

- A los productores que permitieron realizar las inseminaciones experimentales en sus establecimientos y siguieron los protocolos a la perfección sin cuya colaboración no hubiera sido posible llegar a un *número* tan importante de animales.
 - Agropecuaria Río Branco
 - Estancia Venado Encantado
 - Estancia La Gateada
- A mi esposa Silvia que con mucha paciencia durante siete años me acompañó con los cursos y la Tesis hasta su finalización.
- A los inseminadores Juan Muniz y Br. Andrés Rusiñol.
- A la firma Promega SRL (Ing Agr. Guillermo Pérez Aguirre) por la confianza depositada en nuestra persona para la realización de muchas de estas inseminaciones en predios de sus clientes y por habernos conectados con la firma Semex Canadá quien nos introdujo en el tema del tiempo fijo en el año 1999.
- Al Dr. K.L. Macmillan (NZ) quien nos convenció en su disertación del 11/08/99 de los beneficios de la aplicación de las inseminaciones a tiempo fijo.
- A la empresa Australian Wagyu Alliance por permitir hacer 2020 inseminaciones en ganado de sus clientes con semen de la raza Wagyu.
- Al Laboratorio Biotay Uruguay por las PG (Prosolvín) donadas para el ensayo experimental.
- Al Laboratorio OVER por la donación de un análogo de la GnRH (Gestar).
- Al Laboratorio Río de Janeiro por el aporte del Estradiol 10.
- A la entonces Br. Carolina Fiol, ahora colega, por la invaluable colaboración en el tedioso procesamiento y codificación de los datos obtenidos de las inseminaciones del trabajo final.
- Al Ing. MSc. Daniel Pagliano que actuó como revisor colaborador de esta tesis.
- Al Prof. Alvaro Fernández ex-docente del Depto. de Reproducción Animal de la Facultad de Veterinaria que actuó como revisor colaborador de esta tesis.
- Al Mayor (R) Carlos Paulino (TEC y Asoc.) por su colaboración en la información astronómica respecto a las horas luz.
- Al personal de la Biblioteca de Facultad de Veterinaria en la Sección Publicaciones por su ayuda en la revisión y control bibliográfico.
- Al Dr. Andrés Gil MSc., PhD Prof. Grado 5 del Departamento de Bioestadística de la Facultad de Veterinaria por las consultas sobre el diseño experimental.
- Por último, aunque debería estar en primer término, al Dr. Daniel Cavestany MSc, PhD, Prof. Grado 5 del Departamento de Reproducción Animal de la Facultad de Veterinaria, por su invaluable ayuda en la orientación, el seguimiento y el procesado estadístico de los datos.

ABREVIATURAS

BE	Benzoato de estradiol
CE	Cipionato de estradiol
CL	Cuerpo lúteo
CSY	Cosynch
DC	Detección de celos
DPG	Doble prostaglandina
E ₂	Estradiol
FD	Folículo dominante
FSH	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas
HSY	HeatSynch
HSYM	HeatSynch modificado
IA	Inseminación artificial
IATF	Inseminación a tiempo fijo
IACD	Inseminación a celo detectado
LH	Hormona luteinizante
MGA	Acetato de melengestrol
OSY	Ovynch
OSYM	Ovsynch modificado
OXT	Oxitocina
PC	Porcentaje de concepción
PDC	Porcentaje de detección de celos
PIATF	Porcentaje de IATF
PP	Porcentaje de preñez
PREP	Porcentaje de repaso
PPREP	Porcentaje de Preñez en el Repaso
P ₄	Progesterona
PG	Prostaglandina F _{2α}
RIA	Radioinmunoanálisis
SSY	SelectSynch
TF	Tiempo fijo
VE	Valerato de estradiol
[]	Concentración hormonal

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la eficiencia de la sincronización de celos y ovulaciones en vaquillonas para carne en condiciones de pastoreo extensivo en Uruguay, se realizó un ensayo con tres tratamientos en tres predios y en dos años consecutivos. Se utilizaron solamente vaquillonas presuntamente ciclando y con condición corporal igual o mayor a 4 (escala de 1 a 8). Los tratamientos fueron: Ovsynch Modificado (OSYM) (n=1426), Heatsynch Modificado (HSYM) (n=1229) y Doble Prostaglandina (DPG) (n=1451) administradas con 14 días de separación. En los protocolos con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), OSYM y HSYM se realizó detección de celos e inseminación artificial (IA) entre los días 5 y 7 de cada tratamiento y la IATF se realizó en los animales que no mostraron celo durante este período. En el tratamiento DPG, a las 36 horas de la segunda prostaglandina (PG) se inició la detección de celos e IA que continuó durante cinco días consecutivos. No hubo diferencias significativas en los porcentajes de preñez (PP) entre los protocolos IATF (OSYM 68,8%, HSYM 70,0) pero sí la hubo entre los protocolos IATF y el protocolo DPG (78,4%, $P < 0,0001$). El PP en los tratamientos fue del 68,9% (OSYM) del 70,0% (HSYM), y 49,4% (DPG), no existiendo diferencia significativa entre los protocolos IATF pero si la hubo entre éstos y el protocolo DPG ($P < 0,0001$). El Porcentaje de Concepción (PC) y el PP fueron significativamente diferentes entre años (PC 74,4% y 68,6%); PP 67,6% y 56,6% para años 1 y 2 respectivamente; $P < 0,0001$) y predios (PC predio A= 84,8; B= 73,2% y C= 65,1%; PP predio A= 71,4; B= 62,3% y C= 56,8%; $P < 0,0001$). No hubieron diferencias entre los predios B y C (62,3% y 56,8%; $P > 0,05$) pero si la hubo entre éstos y el predio A (71,4%, $P < 0,0001$). Los tres protocolos fueron eficientes pero los protocolos con IATF resultaron ser más eficaces al lograr un mayor porcentaje de preñez. Si bien existieron diferencias entre predios, el efecto año fue más importante debido a diferencias en clima, lluvia y consecuentemente oferta forrajera.

Palabras claves: Inseminación a tiempo fijo, Prostaglandinas, Sincronización de celos y ovulaciones, Ovsynch, Heatsynch

SUMMARY

In order to evaluate the efficiency of estrus and ovulations synchronization protocols in beef heifers under range conditions in Uruguay, one experiment including three treatments was conducted in three farms during two consecutive years. Only cycling heifers with body condition score equal or greater than 4 (scale 1 to 8) were used in the trial. The treatments were: Modified-Ovsynch (OSYM) (n=1426), Modified-Heatsynch (HSYM) (n=1229) and Double Prostaglandin (DPG) given at 14 days interval (n=1451). In the fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols (OSYM and HSYM), the heat detection was done twice a day from days 5 PM to 7 PM and the animals in heat were inseminated using the AM/PM rule; the fixed-time artificial insemination was done on the OSYM and HSYM protocols to the animals that did not show heat during the three days mentioned before. In the DPG treatment, heat detection and artificial insemination started 36 hours after the second PG, was and continued for five consecutive days. Although there were not significant differences in the pregnancy rates (PP) between the IATF protocols (OSYM 68,8%, HSYM 70,0%), there were statistical differences between the IATF protocols and the DPG protocol (78,4%, $P < 0,0001$). The PC and PP were 68,9%

(OSYM), 70,0% (HSYM), and 49,4% (DPG), there were not significant difference between the IATF protocols but there was between these and the DPG protocol ($P<0,0001$). The PC and PP showed significant differences between years (PC 74,4% and 68,6% to the years 1 and 2 respectively; PP 67,6% and 56,6% to the years 1 y 2 respectively; $P<0.0001$) and farms (PC farm A= 84,8; B= 73,2% and C= 65,1% ; PP farm A= 71,4; B= 62,3% and C= 56,8%; $P<0,0001$). There were no statistical differences between the farms B and C (62,3% and 56,8%; $P<0,05$) but both were different to farm A (71,4%, $P <0,0001$). The three protocols were efficient but the IATF protocols turned out to be more effective when achieving a bigger pregnancy rates. Although differences existed among farms, the year effect was more important due to differences in climate, rain and consequently, forage availability.

Keywords: Fixed time insemination, Prostaglandins, Estrus synchronization and ovulation, Ovsynch, Heatsynch.

INTRODUCCIÓN

El bajo porcentaje de inseminación (4,5%) del rodeo de carne nacional, sumado a factores que limitan la mejora productiva en las inseminaciones como los bajos índices de detección de celos y de concepción, son dos importantes razones que se suman para tener en cuenta el estudio en un sector de la ganadería de aproximadamente 5.859.000 de hembras pasibles de procrear y de las cuales el 12,7% son vaquillonas de más de 2 años sin servicio y el 20,5% son vaquillonas de 1 a 2 años (DIEA, 2007 Dirección de Estadísticas Agropecuarias, MGAP), que es la categoría que se involucró en este trabajo. Las tasas de preñez del rodeo de cría nacional en el último año censado fue del 76% de los hembras entoradas (DIEA, 2007) y la tasa de procreo fue de 62%. En estos datos no se discrimina el porcentaje de inseminados y los de monta natural.

Existe una multiplicidad de factores que inciden negativamente en un período de servicio como: edad (Da Silva et al., 1981), nutrición (Drion et al., 2000), amamantamiento, medidas de manejo, enfermedades reproductivas, desempeño reproductivo, factores sociales dentro del rodeo como la jerarquía (Galina et al., 1994, citado por Landaeta-Hernández et al., 2004). El mal uso de las nuevas herramientas tecnológicas o la negativa a usarlas, son la consecuencia de que los productores no usen con mayor incidencia la IA y que los porcentajes de preñez no sean los esperados. Trenkle y Wilham (1997) demostraron que desde el punto de vista económico el desempeño reproductivo de un rodeo es 5 veces más importante que el crecimiento ponderal y 10 veces más importante que la calidad de la carcasa de sus individuos.

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

En los últimos 10 años en nuestro país, el esquema de inseminación de vaquillonas de 24 meses ha sufrido modificaciones, donde en muchos rodeos esta categoría ha comenzado a tener servicio a los 16 – 18 meses (recordemos que en esta categoría hay 1.200.000 animales y un alto porcentaje corresponde a estas edades) por razones de mejoramiento productivo, adelantando así el primer parto. Esto significa que un porcentaje menor de estos animales aún no han alcanzado la pubertad y por lo tanto no estarán ciclando o estarán muy cerca de iniciar su actividad sexual. Por otro lado se encuentra la categoría de las vacas con cría, que se caracterizan por un anestro posparto y por lo tanto con ausencia de celos y ovulaciones. En ambos casos, la inducción a la ciclicidad, contribuye a reducir los períodos improductivos, consecuencia en el primer caso de animales jóvenes con bajo peso corporal (Dahlen et al., 2003) y en el otro de procesos de reposo sexual, mejorando la productividad general mediante la posibilidad del acortamiento significativo en los servicios, la optimización de los recursos económicos y además el incremento de la uniformidad del rodeo de terneros nacidos.

Dado los antecedentes expresados, se pensaron alternativas que sincronizaran los celos u ovulaciones, que indujeran los ciclos estrales cuando la pubertad esté por iniciarse o los anestros sean superficiales; además que sean fáciles de aplicar, económicos, que se puedan utilizar en períodos cortos de tiempo.

En vaquillonas tanto para producción de leche como para producción de carne, la limitante en la baja detección de celos y en la sincronización de éstos, originaron el desarrollo de diferentes estrategias para obtener la mayor cantidad de

animales inseminados en el menor tiempo posible (Silcox et al., 1995; Pursley et al., 1995; Geary et al., 2001). Existen excelentes publicaciones sobre métodos de control del momento de inseminación (Thatcher et al., 2001; Diskin et al., 2002; Rhodes et al., 2003).

Los primeros programas de sincronización de celos fueron desarrollados para controlar el ciclo estral por medio de productos hormonales. Las hormonas usadas para el control farmacológico del ciclo estral son idénticas a las hormonas reproductivas producidas en el hipotálamo (GnRH), ovario (estradiol y progesterona) y útero (PGF_{2α}) del ganado bovino.

Desde los años de la década del 70 hasta el año 1995, la sincronización de celos en los bovinos se realizó mediante la administración de prostaglandina F_{2α} (PG) (Inskeep, 1973; Lauderdale et al., 1974), con el uso de una fuente exógena de un progestágeno ya sea sintético en esponjas con acetato de medroxiprogesterona (Alberio et al., 1999), en la ración con el agregado de MGA (Brown et al., 1988; Martínez et al., 2002), con implantes auriculares de progesterona sintética (Bó et al., 2000) o implantes vaginales de progesterona natural (Macmillan et al., 1993; Penny et al., 2000; Xu et al., 2000; Moreno et al., 2001). Macmillan et al. (1991) y Thatcher et al. (1991) introdujeron un tratamiento de inducción de celos en vacas administrando PG siete días después de la inyección GnRH.

Al inicio de la década del 90 y a consecuencia del mayor conocimiento de la dinámica folicular (Savio et al., 1993), se desarrollaron diferentes métodos usando un agonista de la GnRH como generador de una nueva onda folicular y que, en combinación con otras hormonas, producen una sincronización de la ovulación (Pursley et al., 1995; Pursley et al., 1997).

Dado que estos métodos tienen baja fertilidad comparados con los que se basan en la detección de celos y no aseguran la sincronización de la ovulación en todos los animales ya que un porcentaje de éstos tienden a mostrar celos más tempranos respecto al momento de la IATF (Twagiramungu et al., 1992; Stevenson et al., 1999; Dejarnette et al., 2001; Cavestany 2002; Martinez et al., 2004; Dalton et al., 2005; Kasimanickan et al., 2005), se planteó el objetivo de comparar tres protocolos de inseminación entre sí, uno basado exclusivamente en la detección de celos y dos a tiempo fijo introduciendo algunas modificaciones y usando los siguientes fármacos según fuere el protocolo usado: PG, GnRH y BE.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

El principal factor limitante en el éxito de la inseminación artificial en bovinos es la falla en la detección de celos (Rowson et al., 1972; Lauderdale, 1972; Roche, 1974; Barr, 1974; Foote, 1975; De Kruif y Brand, 1978; Larson et al., 1992; Geary et al., 2001; Ill-Hwa Kim et al., 2003; Yamada, 2005). Algunas de las causas no relacionadas a la hembra son la pobre preparación o falta de entrenamiento que tienen algunos inseminadores o personal de campo y el desconocimiento en la interpretación del comportamiento sexual tanto individual como colectivo de las hembras bovinas, hecho que, en una inseminación puede determinar el éxito o el fracaso.

Cuando se utilizan solamente prostaglandinas para sincronizar celos en vaquillonas, hay un porcentaje de animales que quedan sin inseminar ya sea por no manifestarlos, por no haber sido detectados o por no haber respondido a la hormona

administrada (Baruselli et al., 2005) y si bien los índices de concepción logrados son aceptables, los porcentajes de preñez no lo son.

En invierno por ejemplo, el período de horas luz es muy corto (9 h 45 min en junio) y por lo tanto hay 14 h 15 min de oscuridad, lo que impide la observación de los animales en las horas de máxima ocurrencia de celos que son entre las 1:30 AM y 6:00 AM (Foote, 1975; Pinheiro et al., 1998; Barros et al., 2000; Membrive, 2000).

El uso restringido en la utilización de los protocolos de IATF en nuestro país, en comparación con países vecinos como Argentina y Brasil, sumado a una escasa investigación en mejorar la eficiencia de los mismos, quizás formen parte actualmente de índices de procreo no tan satisfactorios.

Para la utilización de la inseminación artificial, existen una infinidad de protocolos que se han ido desarrollando de acuerdo a las necesidades que plantean las diferentes condiciones de los rodeos y a la investigación sobre la acción de nuevas drogas que facilitan su aplicación y mejoran los resultados de preñez.

Actualmente la mayoría de los trabajos de IA se hacen en base a sincronización de celos, pero a medida que se van conociendo nuevos protocolos y sus resultados, estas nuevas herramientas tecnológicas van sustituyendo a las anteriores. No obstante, algunos autores como Silcox et al., (1995), consideran que la categoría de las vaquillonas no responde fielmente a los protocolos IATF (probablemente por una duración menor de las ondas foliculares (recambio folicular más rápido) que las vacas en posparto (Schmitt et al., 1996; Stevenson et al., 1996; Pursley et al., 1997; Cavestany et al., 2002).

Ciclo estral, control endocrino y dinámica folicular de la hembra bovina

La hembra bovina es un animal poliéstrico continuo. La edad al primer estro, donde definitivamente comienza la pubertad, está afectada por la raza, la nutrición y por la estación al momento del nacimiento (Arthur et al., 1991). Según lo detalla Hafez (1989), la edad promedio de la pubertad varía entre los 10 y 12 meses en razas lecheras, y entre 11 y 15 meses en razas productoras de carne. En la especie bovina el inicio de la pubertad se asocia más al peso corporal que a la edad (McDonald, 1991). Una vez que la pubertad ha sido alcanzada, la actividad cíclica se mantendrá excepto durante la preñez y de 3 a 6 semanas luego del parto con altas producciones de leche, en condiciones patológicas (Arthur, 1991) o por balance energético negativo (Drion et al., 2000).

En las vaquillonas la duración promedio del ciclo estral es de 20 días y de 21 días en vacas, con rangos normales de 18 a 22 días y 18 a 24 días respectivamente. El promedio de duración del estro es de 15 horas; sin embargo hay un amplio rango que va de 2 a 20 horas. La ovulación es espontánea y ocurre generalmente 12 horas luego de finalizado el celo (Arthur et al., 1991).

El ciclo estral está dividido en 2 fases. Una fase luteal que se extiende desde el día 2-3 luego del celo hasta el día 16-19 y una fase folicular que va desde la regresión del CL hasta el día de la ovulación. Como fue descrito por Arthur et al. (1991), estas dos grandes fases del ciclo se clasifican fisiológicamente en proestro, estro (que corresponderían a la fase folicular), metaestro y diestro (que corresponderían a la fase luteal). Cada uno de estos estadios está coordinado principalmente por 4 órganos (hipotálamo, hipófisis, ovarios y útero). Todo el mecanismo está mediado por un sistema neuroendocrino muy complejo, donde cada uno de estos órganos secreta una o más hormonas que, perfectamente sincronizadas,

se unirán a los receptores específicos de los órganos reproductivos (blanco o diana) involucrados y donde éstos últimos segregarán sus propias hormonas y producirán los efectos correspondientes, muchos de ellos apreciables externamente en el animal.

El primer concepto clave es que ningún mediador químico (hormona en este caso) puede ejercer su efecto si su órgano efector no tiene adquiridos sus receptores específicos. Sin este concepto básico es imposible entender la fisiología reproductiva.

El ciclo estral de la vaca es una sucesión de eventos de origen endocrino que comienzan cuando se inicia la primera ovulación en la pubertad y se continúan durante toda su vida útil, excepto en condiciones de preñez, anestro posparto u otros tipos de anestros. Drion et al. (2000), proponen otra clasificación tomando como referente a la GnRH y entonces dividen el ciclo estral en una fase gonadotropa “independiente”, que coincidiría con la fase luteal anteriormente mencionada y una segunda fase gonadotropa “dependiente” que sería la fase folicular. No obstante, Webb et al. (1994) demuestran que en la vaca, la inhibición de la liberación de la FSH por administración a largo plazo de un agonista de la GnRH no impide la evolución de ciertos folículos hasta un diámetro de 3-7 mm. Esta observación confirma la ausencia del rol esencial de las hormonas gonodatrópicas durante las primeras etapas del desarrollo folicular. En este estadio, ellas actúan probablemente más sobre la regulación de las capacidades de síntesis y de maduración de las células de la granulosa que sobre el crecimiento folicular propiamente dicho (Driancourt et al., 1991). Esta fase de desarrollo folicular estaría de hecho esencialmente asegurada por factores de crecimiento producidos localmente por los folículos (Bendell y Dorrington, 1990) y actuando de manera paracrina. Entre éstos la activina de los folículos sería un candidato potencial. La activina está formada por la asociación de dos subunidades beta no glicosidadas de la inhibina, sintetizada por las células de la granulosa de las que asegura su diferenciación de manera autocrina. La activina sería responsable de la adquisición por esas células, de receptores de FSH según lo expresa Xiao et al. (1992) lo que es un elemento regulador esencial del pasaje de los folículos de un estadio gonadotropo independiente a un estadio gonadotropo dependiente.

Las principales hormonas involucradas en estas fases son: la GnRH o factor liberador de gonadotropinas hipofisarias, secretada por el hipotálamo; la FSH y la LH secretadas por la hipófisis; el E₂, Inhibina y P₄ producidas en el ovario y la PG secretada por el útero. La Oxitocina secretada en la hipófisis y en el ovario y los andrógenos, también juegan un papel importante en la regulación del ciclo estral.

Partiendo de la base que casi todos los eventos reproductivos están dentro del ciclo estral, se considera que, particularmente la fase folicular, es la más importante ya que en los últimos 15 años con la ayuda de la ultrasonografía y la medición de las concentraciones de las hormonas en sangre mediante RIA se ha podido detallar cada uno de los eslabones de esta secuencia.

El desarrollo folicular en los bovinos se produce de acuerdo a un patrón de ondas de crecimiento folicular. En el bovino se pudo determinar que el ciclo estral está caracterizado por la presencia de 2 ó 3 ondas de crecimiento folicular, no obstante existe una particularidad observada entre cebuínos y taurinos respecto al número de ondas por ciclo estral. Investigaciones realizadas en animales de la raza Holstein han demostrado la predominancia de 2 ó 3 ondas de crecimiento folicular por ciclo estral (Savio et al., 1988; Sirois y Fortune, 1988; Ginther et al., 1989; Wolfenson et al., 2004). En cebuínos se describe una mayor incidencia de 3 ondas, habiendo sido descrito también de 4 ondas de crecimiento folicular por ciclo estral

(Brahman-Rhodes et al., 1995; Figueiredo et al., 1997; Viana et al., 2000). En las hembras taurinas cada onda folicular ocurre cada 11 días (9-14) de acuerdo a un patrón (Wiltbank, 2002). Este desarrollo sincronizado, (*reclutamiento*) de folículos desde 3-4 mm en ambos ovarios está caracterizado por una baja concentración de E₂, P₄, aumento de [FSH] y ausencia de inhibina. Estos folículos son estimulados por acción de la FSH (Adams et al., 1992, Evans et al., 1997; Mihm et al., 1997; Senger, 2005), que se prolonga por 2-3 días hasta que uno de ellos es *seleccionado* por cambios en las concentraciones (dependencia) de FSH a LH (Ginther et al. 1999); esta fase se caracteriza por alta [E₂], baja [FSH], moderada [LH] y moderada frecuencias de pulsos, aumenta la amplitud de la LH y no hay inhibina y además hay presencia de factores de crecimiento insulino-dependientes (IGF-I) y activina-A (Evans et al., 1997, Mihm et al., 1997; Roche, 1996; Senger, 2005). Hacia el día 6 se establece la *dominancia* de ese folículo seleccionado sobre los otros llamados subordinados que terminan atresándose. Esta fase está caracterizada por baja [FSH], alta [LH], alta [inhibina] y se incrementa la [P₄] por secreción del CL. En esta fase además se incrementan los receptores de membrana de LH en el folículo dominante en crecimiento, lo que le permite responder a altas [LH] y a la amplitud de pulsos de la misma hormona (dado por la baja secreción de E₂) lo que lo induce a seguir creciendo. La secreción de FSH se mantiene baja y continúa una alta [andrógenos] (Evans et al., 1997). Bajo la influencia de altas [andrógenos] el folículo dominante entra en una fase estática de crecimiento aproximadamente en el día 8. Mientras continúa la fase estática, la [andrógenos] comienza a disminuir y la [FSH] comienza a aumentar. Esto estimula la emergencia de la segunda onda folicular alrededor del día 11 del ciclo. La amplitud del pulso de la LH se reduce así como la secreción de E₂ aumenta. En este momento, el incremento de E₂ asociado al incremento de andrógenos, deprime la secreción de LH circulante. Los cambios cíclicos en las concentraciones de esteroides y gonadotropinas continúan para mantener el patrón de ondas foliculares hasta que ocurre la luteólisis y se concreta la fase folicular. Según Evans et al. (1997), debe enfatizarse que la secreción de inhibina por los folículos, juegan un rol importante en la regulación de la secreción de FSH y la dinámica folicular.

Siguiendo con la descripción primaria, en una vaca con 2 ondas foliculares, el folículo dominante de la primera onda no ovulará y se atresiará porque está en medio de una fase luteal con alta concentración de P₄. Este primer folículo dominante puede ovular si es inducida la regresión del CL al inyectarle PG entre los 6 y 8 días pos celo (Savio et al., 1988; Kastelic et al., 1990). En caso de proseguir normalmente, un nuevo cohorte de folículos comienza a crecer hasta que un nuevo folículo es seleccionado y se transforma en dominante, el cual logrará ovular por acción de la LH en una fase previa estrogénica y coincidiendo con la luteólisis (Savio et al., 1988; Sirois y Fortune, 1988; Taylor y Rajamahendran, 1991), por lo cual el intervalo al celo será más corto. Si el folículo dominante está en una fase estática o de regresión o no ha sido seleccionado, deberá ocurrir el proceso de selección y la aparición del celo se retrasará. En las vacas con 3 ondas foliculares, que tienen un ciclo estral más largo (23-24 días) (Taylor y Rajamahendran, 1991), sucederá lo mismo con el FD en la segunda onda y el que ovulará será el FD de la tercera onda folicular. Este FD comenzará a producir cantidades mayores de E₂ e inhibina, lo que hará disminuir la cantidad de FSH. Esto trae como consecuencia que con menores concentraciones de FSH los folículos que estaban creciendo junto con el FD se atresien. Este momento o mecanismo se llama “desviación”. Las ondas foliculares no solo ocurren en el ganado que está ciclando sino que éstas están presentes en las terneras prepúberes

desde los 2 meses de edad (Evans et al., 1994), ocurren en vacas preñadas (Thatcher et al., 1991; Ginther et al., 1996), e incluso en vacas en anestro posparto (Savio et al., 1990).

Comportamiento sexual relacionado con el medio ambiente

El comportamiento sexual de la hembra bovina depende sobre todo, de una fina secuencia en la sintonía y balance de las hormonas ováricas e hipotálamo-hipofisarias que actúan en el tracto reproductivo antes, durante y después del celo.

Una de las principales fallas en lograr preñeces en una inseminación, es la falta o el defecto en la detección de celos con la consecuente falta de inseminación de hasta un 30% de los animales presentados a la misma.

Hay tiempos y signos importantes a tener en cuenta desde el proestro (prolegómenos del celo) hasta la inseminación. El proestro dura aproximadamente 1-2 días y 6 a 10 horas antes del celo la vaca comienza con manifestaciones externas como hiperactividad, vulva enrojecida, descarga de mucus claro y espeso, micciones frecuentes, intenta montar a otras vacas, muge como un toro (presencia de andrógenos en sangre) y en el caso de las vacas lecheras, la duración del celo está estrechamente relacionada con el nivel de producción láctea (López et al., 2004). Lo principal es que no se deja montar por otras vacas.

El celo tiene una duración variable entre razas desde 6-20 horas. Se destaca que la mayor actividad sexual en un rodeo ya sean vacas o vaquillonas, se manifiesta durante la noche. El inicio de los celos se producen en un 70% entre las 6:00 PM y las 6:00 AM del día siguiente y dentro de este periodo, el 60% entre las 0:00 AM y la 3:00 AM. Esto es importante a la hora de definir el momento de la IA y los momentos de observación (Barros, 2000). El tiempo más improductivo para detectar celos es la tarde (Clugston, 1990). El signo más exacto de celo es la inmovilidad de la vaca cuando la montan otras vacas (comportamiento homosexual). Es interesante hacer notar que una vaca en celo acepta casi siempre más a una compañera que a otras, existiendo una gran competencia por el liderazgo (Galina, 2004 comunicación personal).

Tiempos y signos que deben considerarse:

- a) Duración del celo: 6-20 horas.
- b) Duración de la monta: 3-5 segundos.
- c) Cantidad de montas durante el período: 35-50 promedio.
- d) Formación de grupos sexualmente activos.
- e) Peladuras sobre la cola e isquiones y cuando monta, el mucus espeso se transforma en filamentoso y pende de la comisura inferior de la vulva.
- f) Marcas en los flancos cuando el terreno está sucio.
- g) Cantidad de hembras juntas en celo donde se potencializan las manifestaciones de celo (De Luca, 2005).

Si una vaca se deja montar supuestamente entre 35-50 veces y la duración de monta es de 3-5 segundos/monta; se concluye que se dispone solamente de 2 a 4 minutos para detectar una vaca en celo durante el período de aceptación de monta.

Los animales tienen manifestaciones muy específicas en momentos muy precisos que se repiten y siguen un patrón; esto se debe a que hay una causa/efecto en la interrelación de las hormonas actuantes en cada uno de esos momentos; cuándo

comienza una, cuándo acaba su efecto o, por el contrario, como se solapan una con otra. En este proceso son esenciales los “priming” (estimulación y/o maduración) de las hormonas para que otras logren su efecto y los receptores, que puedan adquirir la capacidad de unirse específicamente a determinada hormona o fármaco y que, como consecuencia de tal unión se inicie una serie de procesos a nivel celular que, en última instancia, determinarán la respuesta fisiológica (Rodríguez Artalejo, 2005).

Sincronización de celos

En nuestro país y en el mundo se utilizan diferentes sistemas de sincronización-inducción de celos y/u ovulaciones para realizar IACD o IATF. Los protocolos IATF que se describen abajo y que fueron diseñados como controladores tanto de la función luteal como folicular, no sólo tienen una aplicación en este tipo de manejo reproductivo sino también en los programas de superovulación y brindan grandes posibilidades en la sincronización de receptoras de embriones sin la necesidad de detección de celos (Bó et al., 2002).

Existen cuatro drogas principales que se utilizan en la sincronización y/o inducción del celo en el ganado de carne: PG, GnRH, P₄ y BE, no obstante sólo desarrollaremos aquellas que utilizamos (PG, GnRH y BE).

Prostaglandina F_{2α}

Las prostaglandinas son sintetizadas en varios tejidos de los animales domésticos tanto de hembras como de machos y tienen una amplia variedad de funciones. El ácido araquidónico es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular de las unidades F_{2α} (Danet-Desnoyers et al., 1994) y E₂ (Shemesh et al., 1997b; Hafez, 1989), las cuales son producidas en el útero (McDonald, 1991). La PG actúa sobre los receptores de alta especificidad a nivel del CL provocando la liberación de OXT luteal (Macmillan y Niswender, 1992; Mc Cracken et al., 1999). La oxitocina luteal provoca mayor liberación de PG endógena, estimula sus receptores de baja afinidad y provoca la caída de P₄ y la liberación de más OXT luteal.

El control neuroendocrino de la cascada luteolítica estaría explicado entonces según Mc Cracken et al. (1999), de la siguiente forma:

- 1- Hacia el fin de la fase luteal baja la acción de la P₄ por retroalimentación negativa de la propia P₄ en el hipotálamo.
- 2- Aumenta la secreción de E₂ por el folículo dominante que:
 - estimula el hipotálamo para generar pulsos de OXT y
 - aumenta la concentración de los receptores endometriales de OXT.
- 3- Los niveles subluteolíticos de PG endometrial se liberan.
- 4- La PG actúa sobre los receptores de alta receptividad a nivel del CL provocando la liberación de OXT luteal.
- 5- La OXT luteal provoca mayor liberación de PG, estimula sus receptores de baja afinidad y provoca la caída de P₄ y la liberación de más OXT luteal.
- 6- El sistema continúa retroalimentándose.

El mecanismo de acción de la PG se hace a nivel local por transferencia o intercambio vascular a contracorriente, desde la vena útero-ovárica hacia la arteria

ovárica (McDonald, 1991; Senger 2005). El mecanismo de liberación de la PG (Kindahl et al., 1976) se realiza en forma pulsátil e interviene en la regulación neuroendocrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico (Knickerbocker et al., 1986), mientras que el E₂ interviene en el ablandamiento del cérvix durante el proestro y estro (Shemesh et al., 1997b).

La PG induce la regresión del CL (Niswender et al., 1976; Hafez, 1989), por un efecto de vasoconstricción que podría inducir hipoxia a nivel ovárico, lo que a su vez conduciría a la luteólisis. Otra hipótesis del efecto luteolítico (pérdida del tejido luteal) por acción de la PG, estaría dado en parte por el aumento de la concentración del Ca⁺⁺ libre intracelular que estimularían las endonucleasas que fragmentan el DNA (Niswender et al., 1994), mecanismo común en los procesos de apoptosis e importante en la regresión del cuerpo lúteo en la vaca.

Desde que se demostró que las prostaglandinas tenían propiedades luteolíticas (Gutknecht et al., 1969; Rowson et al., 1972; Inskeep, 1973; Lauderdale, et al., 1974), las PG sintéticas han sido ampliamente usadas en la sincronización de celos en bovinos. Si bien la PG es el tratamiento más utilizado para la sincronización de celos, tiene algunas limitantes importantes (Odde, 1990) como por ejemplo la baja sincronización en los celos inducidos (Tanabe et al., 1984) y los porcentajes de preñez han resultado inaceptables respecto a los de las IATF (Martínez et al., 2004).

La capacidad de la PG para inducir luteólisis ha sido explotada extensivamente como una herramienta para manipular el ciclo estral en los animales domésticos (Morrow, 1986). Las hembras deben estar ciclando y en un estadio específico de su ciclo estral.

Si bien esta hormona en su forma sintética puede ser usada efectivamente para regresar el CL en bovinos entre los días 6 y 14, es inefectiva en diestro tardío (porque la luteólisis ya haya comenzado por acción de la PG endógena (Seguin, 1997), en el proestro (días 16 a 21) y en el estro, metaestro y diestro temprano (día 0 a 5) del ciclo estral como lo demostraron los trabajos realizados en vaquillonas y vacas lecheras por Momont y Seguin (1983) y Wiltbank et al. (1995). Tampoco es efectiva en el período de reposo sexual en vacas en anestro fisiológico por amamantamiento debido a la ausencia de un cuerpo lúteo y en aquellos animales en anestro por subnutrición (balance energético negativo, Drion et al., 2000; Lucy et al., 2004). Su combinación con progestágenos en protocolos de inseminación a tiempo fijo (Beal et al., 1984; Geary et al., 1998b; Higgins et al., 1985; Kerr et al., 1991) ha sido un instrumento aplicado en las últimas décadas.

Estudios preliminares en los cuales se realizó detección de celos (Macmillan et al., 1984) y seguidos por estudios de ultrasonografía de los patrones de las ondas foliculares (Kastelic et al., 1990), han demostrado que el intervalo desde la administración de la PG hasta el celo y la ovulación dependen del estado de desarrollo del folículo dominante al momento de la aplicación de la misma. Cuando la administración de la PG se hace de 6-8 días luego de la ovulación, ovula el FD de la primera onda folicular en dos a tres días, mientras que si la PG es aplicada 12 días luego de la ovulación, el resultado es una ovulación del FD de la segunda onda folicular en cinco días. Estos datos explican la variabilidad en los intervalos desde el tratamiento con PG al estro y ovulación en animales tratados aleatoriamente dentro del ciclo estral.

Algunos de los protocolos más usados con PG sintéticas con la finalidad de sincronizar celos son:

1. Detección de celos e IA durante 5 días; al sexto día se inyecta una dosis de PG y se continúa detectando celos e inseminando por 5 a 10 días más. Este

sistema se utiliza por dos razones: para bajar el costo de la droga y el semen utilizados y por otra parte para ir evaluando la ciclicidad del rodeo.

2. Realizar palpación rectal e inyección de PG en aquellas vacas que presentan CL y luego hacer detección de celos e IA por 5 a 6 días.
3. Inyección de 2 dosis de PG a todos los animales con un intervalo de 11-14 días entre dosis seguido por un período de 5 días de detección de celos e inseminación a partir de las 36 horas de la segunda dosis de PG. Teóricamente, todos los animales deberían tener un CL que respondiera a la PG en el segundo tratamiento (Cooper, 1974; Seguin, 1997).

Folman et al. (1990), observaron una tasa de concepción más elevada con un intervalo de 14 días porque es más probable encontrar un folículo dominante que a los 11 días. Además existe evidencia que los bovinos inyectados con PG en un diestro avanzado tienen una respuesta de celo mayor y tasas de concepción más altas que los animales inyectados durante el diestro temprano o medio (Diskin et al., 2002). Alberio (2003), recomienda para vaquillonas tratamientos de dos dosis con diferencia de 11 días. La respuesta a este tratamiento realizado a campo fue de un 85% de celos. En vacas en producción los cambios metabólicos y hormonales asociados con la lactación alteran el desarrollo folicular del ovario con reducción de los niveles de estrógenos y alteración del patrón de desarrollo folicular (De la Sota et al., 1993), por lo que entran en celo más tarde que las vaquillonas y las vacas secas.

Debido a esto un intervalo de 14 días entre inyecciones en vacas en producción resultan en un mayor porcentaje de preñez y disminución de días abiertos (Ferguson y Galligan, 1993).

GnRH

La hormona que juega uno de los roles más importante en la fase folicular del ciclo estral es la GnRH. Ésta, a través de su acción directa en la liberación de LH y FSH, tiene la habilidad de ovular los folículos maduros para formar un CL en el primer caso e inducir el reclutamiento y estimular el crecimiento folicular en el segundo. Schally et al. (1971) y Amoss et al. (1971), describieron por primera vez la identidad y estructura del decapeptido GnRH. La síntesis y secreción de la GnRH establece la interfase crítica entre los sistemas endocrino y nervioso que controlan la reproducción. Esta interrelación entre los dos sistemas se hace por medio de mediadores hormonales como ya fue descrito en Ciclo estral y Control endocrino.

Uno de estos sistemas es el sistema Hipotálamo-Hipofisario-Gonadal que se encuentra regulado por la GnRH, sintetizada por las neuronas hipotalámicas, transportada por el sistema porta-hipotálamo-hipofisario y estimulando la hipófisis a segregar dos hormonas gonadotróficas, la LH y FSH que serán volcadas a la circulación para actuar sobre el ovario y estimularlo a producir esteroides gonadales. Estos esteroides regulan a su vez tanto la función hipotalámica como la hipofisaria completando el circuito de este eje. Knobil (1980) colabora con el descubrimiento de los pulsos de GnRH en la circulación portal y demuestra que esta pulsatilidad es esencial para mantener la síntesis y la secreción de la gonadotropina. La acción dependería de la concentración y frecuencia de los pulsos que llegan a los receptores.

Así, se ha observado que la respuesta secretora es mayor ante la secreción de un segundo impulso de GnRH que ante el primero si los pulsos están separados por un tiempo definido. A este efecto se le llama self-priming o autopotenciación. A cantidades fisiológicas del péptido, se observa inicialmente una caída en el número

de receptores (downregulation), con menor respuesta del gonadotropo. Esta primera fase es seguida por una segunda con aumento en el número de receptores (upregulation), pero que no implica una mayor sensibilidad al gonadotropo. Esto se debería a que los gonadotropos responden cerca del máximo secretor con un mínimo del 20% de los receptores ocupados. Concentraciones fisiológicas pequeñas del decapeptido, estimulan la síntesis del receptor y lo mantiene a niveles fisiológicos, en cambio, concentraciones altas y constantes provocan “downregulation” de los receptores y desensibilización a los gonadotropos por mecanismos complejos como la internalización del complejo receptor-GnRH y modificaciones en los segundos mensajeros. La importancia de estos eventos es que explicarían la base del uso farmacológico de la GnRH y sus agonistas, ya que su administración masiva y continua lleva, luego de una descarga masiva de FSH y LH, a la supresión de la secreción gonadotrófica (Libertun, 2004).

Desde el punto de vista práctico se puede inferir que a partir de la síntesis de agonistas de esta hormona, es que se han desarrollado diferentes aplicaciones para este fármaco, como por ejemplo tratamientos de quistes ováricos, estimulación de la ovulación, manejo de las ondas foliculares, desarrollo de sistemas de sincronización de ovulaciones para las inseminaciones artificiales y transferencia de embriones, etc.

Existen trabajos nacionales usando esta hormona como inductora de celos para IATF en ganado de carne (De Nava et al., 2000; Fernández et al., 2001; Cavestany et al., 2002) así como en ganado lechero (Cavestany et al., 2003). La literatura internacional demuestra la habilidad de un agonista de la GnRH de inhibir el celo por varios días y provocar la ovulación y esto ha sido utilizado en asociación con las PG tanto en ganado de carne como lechero para desarrollar estos nuevos métodos de sincronización de celos y/u ovulaciones (Macmillan et al., 1991, Twagiramungu et al., 1991, 1992, 1995; Pursley et al., 1994b, 1995; Wiltbank et al., 1996, 2002; Stevenson et al., 1996, 2000; Barros et al., 1999; Thatcher et al., 1994, 2000, 2002). Ha sido ampliamente demostrado que la GnRH aumenta los niveles plasmáticos de LH y FSH dentro de las siguientes 2 a 4 horas de administrada. Esta hormona induce la ovulación del folículo maduro o regresa los folículos grandes presentes en el momento del tratamiento dependiendo del estado del mismo (Silcox et al., 1993; Twagiramungu et al., 1995), causa la ovulación o atresia del FD e induce la emergencia de una nueva onda folicular y el reclutamiento de un nuevo FD dentro de los 2 a 4 días luego del tratamiento (Macmillan y Thatcher, 1991). La capacidad de un agonista de la GnRH de inducir la ovulación, ha sido aplicada en el desarrollo de nuevos protocolos para el control de la detección de celos en combinación con las prostaglandinas. Esto es precisamente, controlar el tiempo de la ovulación en todas las hembras que van a ser inseminadas a tiempo fijo, lo cual teóricamente equivale al 100% de detección de celos.

E₂

Los E₂ naturales son esteroides con 18 átomos de carbono y un anillo fenólico A (anillo aromático con un grupo hidrófilo en el carbono 3) y un grupo hidrófilo β cetónico en el carbono 17 del anillo D. El anillo fenólico A es la estructura responsable de la alta afinidad ligada a receptores de estrógeno (Mapletoft et al., 1999). Los E₂ se producen en la teca interna y las células de la granulosa del folículo ovárico con el control sinérgico de la FSH y la LH. Están distribuidos en todo el organismo y se acumulan en las células del tejido adiposo (Mapletoft et al., 1999). El estradiol 17β es el más potente de los principales E₂ que se encuentran tanto en

humanos como en animales. Es segregado por el ovario y se oxida fácilmente transformándose en estrona en el hígado y está ligado en más del 50% a proteínas plasmáticas. Este esteroide es el de acción más corta debido a que el grupo hidroxilo 17 β no está esterificado, al contrario de lo que pasa con esteroides sintéticos como el cipionato de estradiol que sí está esterificado y le brinda protección contra el ataque metabólico, por lo tanto lo hace de acción más prolongada que el primero. Los otros dos estrógenos sintéticos son el valerato y el BE, todos de alguna forma esterificados del esteroide matriz (Mapletoft et al., 2003). El BE se produce por la esterificación del carbono 3 y tiene un período de acción más corto que el cipionato y más largo que el 17 β -estradiol (Mapletoft et al., 2003).

La acción farmacológica de los E₂ depende si son administrados durante la fase de niveles elevados de P₄, donde inducen la regresión folicular y la emergencia de una onda folicular sincrónica, o si son administrados en la fase de bajos niveles de P₄, induciendo la liberación de LH y la ovulación por el mecanismo de retroalimentación positiva (Mapletoft et al., 2003). El aumento de LH en conjunto con la secreción sostenida de FSH promueve la maduración folicular. Por lo tanto el aumento de la secreción de estradiol como resultado de la maduración folicular, promueve el pico preovulatorio de LH provocando la ovulación (Wiltbank, 2002). Por el contrario si se administra una dosis de 5 mg de estradiol, las concentraciones de FSH en plasma se suprimen y como consecuencia se suprimen los folículos antrales. Bó et al. (1994, 1995) encontraron que el E₂ suprime el desarrollo del folículo antral.

Una de las ventajas de usar el E₂ en vez de la GnRH en los protocolos IATF, es que aumenta el tono uterino facilitando la inseminación y las manifestaciones del celo no se suprimen y pueden ser visualizadas (Thatcher et al., 2001).

Otro aspecto relevante en la respuesta a la administración de BE (no así del 17 β estradiol) en vacas y vaquillonas estaría dada por la mayor masa corporal y la mayor capacidad de metabolizar las hormonas en las primeras, lo cual minimizaría la luteólisis prematura inducida por el BE (Martínez et al., 2004). Por otra parte, hay estudios que han reportado que las concentraciones de 17 β Estradiol encontradas en plasma en vacas intactas y ovariectomizadas una vez que alcanzan el pico máximo, comienzan a declinar hasta 36 horas luego de la administración (Bo et al., 2000; Martínez et al., 2003), sugiriendo que este hecho es menos probable que cause luteólisis prematura que cuando se administra BE que alcanza la línea basal de concentración aproximadamente a las 96 horas. Esto reafirma el concepto de la acción más prolongada del BE frente al E17 β (Mapletoft et al., 2003).

Evolución de algunos protocolos IATF

Para solucionar el problema de la falla en la detección de celos en las inseminaciones donde coexistían grandes poblaciones de vacas principalmente en los tambos grandes de EE.UU., se desarrollaron algunos protocolos de sincronización de ovulación con inseminación artificial sin que fuera necesaria la detección de celos.

Los primeros trabajos que evaluaron la combinación de una GnRH seguido de una PG luego de 7 días y comenzando con la detección de celos e inseminación un día antes de la PG y durante 7 días fueron realizados por Macmillan y Thatcher (1991). Stevenson et al. (1996), denominaron a este método SSY o GP (GnRH + PG). Twagyrampungu et al. (1992), demostraron que la aplicación de una segunda dosis de GnRH 48 horas después de la PG, lograba sincronizar la ovulación en un

porcentaje elevado de los animales tratados. La primera publicación con un protocolo GPG (GnRH + PG + GnRH) completo fue hecho por Schmitt et al. (1994), en el cual administraban la PG a los 7 días y la GnRH a las 24 horas de la PG, lo cual fue demasiado temprano para lograr la completa maduración del folículo dominante.

Pursley et al. (1994), denominaron este protocolo Ovsynch del cual parten la mayoría de las modificaciones actuales. En éste, la administración de la PG se efectúa 7 días después de la GnRH seguida de una segunda dosis de GnRH 48 horas (modificación del protocolo de Schmitt et al., 1994) después de la PG e inseminándose los animales a tiempo fijo entre 14 y 17 horas posteriores a la administración de la última GnRH. Según Martínez et al. (1999), este protocolo demostró menor eficiencia en las vaquillonas que en las vacas. Pursley et al. (1995) hacen un exhaustivo trabajo en el cual toman como premisa el comportamiento folicular, la presencia y tamaño de CL y la ovulación. Twagiramungu et al. (1995) y Roy y Twagiramungu (1996) introdujeron una diferencia a ser usada en vaquillonas de carne, donde la PG fue administrada el día 6 en lugar del día 7 de la primera GnRH, encontrando que los índices de concepción eran mejores que con el protocolo original y además acortaba un día el esquema de trabajo. Asimismo, Stevenson y Thompson (2000) publicaron sus primeros trabajos en ganado de carne con el uso de este protocolo. De la Sota et al. (2000), presentaron un trabajo de sincronización de la ovulación e inseminación programada en vacas Brahman y Bradford comerciales con más de dos pariciones, donde se usó resincronización y los resultados de la IACD vs IATF, no difirieron. Geary y Whittier (1998), en una variación del protocolo Ovsynch, hicieron un destete temporario de 12 horas previo a la IATF y administraron la segunda dosis de GnRH en el momento de la IATF denominando a este protocolo CSY. En estos sistemas de control de las ovulaciones, se prioriza la IATF desaprovechando la oportunidad de los celos espontáneos en la mitad del protocolo y además la aplicación de la segunda dosis de GnRH inhibe el mayor porcentaje de estos celos al final del mismo. Para disminuir los costos de estos programas, Barros et al. (2000), introdujeron otra variante en el OSY original, en el cual sustituyeron la segunda dosis de GnRH por 1mg de BE 24 horas después de la PG, seguida de IATF 36 a 48 horas después. A este protocolo lo denominaron HSY o GPE (GnRH + PG + BE). El uso del BE y el 17β fue utilizado (Martinez et al., 2000, 2004) no sólo para inducir la ovulación, sino que también se utilizó para sincronizar la emergencia de las ondas foliculares.

Con la aplicación de BE para inducir la ovulación no sólo se consiguió el propósito deseado sino que además lograron mantener las manifestaciones de los celos espontáneos durante el último tercio del protocolo.

Thatcher et al. (2000) plantean 3 diferentes situaciones o escenarios para describir qué sucede cuando se comienza un protocolo OSY en diferentes estadios del ciclo estral de la vaca.

Cuando se va a iniciar un protocolo OSY o cualquier protocolo con sincronización de ovulación y se proyectan los resultados de acuerdo a una situación ideal, debe tenerse presente que las vacas están distribuidas al azar en todos los estadios del ciclo estral. Asumiendo un ciclo estral de 20-21 días en ganado de carne, habrá un 4,5 a 5% de vacas en cada día del ciclo estral. Esta distribución la podríamos representar como se presenta en el Cuadro I según Thatcher et al. (2000).

Cuadro I. Distribución del rodeo, porcentaje de preñez esperado y preñeces en un rodeo de 100 vacas ciclando cuando se inicia un protocolo Ovsynch en estadios del ciclo estral al azar.

Día del ciclo	Distribución del rodeo	Porcentaje de preñez Esperado	Preñez en un rodeo de 100 vacas
0 a 4	20%	20%	4
5 a 12	40%	50%	20
13 a 17	25%	20%	5
18 a 20	15%	50%	7
Total	100%		36%

Fuente: Thatcher et al. (2000)

De acuerdo a lo expuesto y teniendo en cuenta el Cuadro I, para una mejor comprensión de lo que pasa en un rodeo comercial de vaquillonas para carne vírgenes y sin tratamientos previos, se escogieron de esta situación general tres escenarios diferentes según Thatcher et al. (2000).

En el Escenario 1, (Figura 1) el tratamiento con GnRH se inicia el día 5 del ciclo estral, ya que coincide con la presencia de un FD que ovulará y formará un CL en respuesta a la liberación de LH inducida por la administración de GnRH. La GnRH además, incrementa la liberación de FSH que induce el reclutamiento de un nuevo cohorte de folículos en aproximadamente 2 a 3 días (día 7 del ciclo) y uno de esos folículos será *seleccionado* para transformarse en el FD (Moreira et al., 2000). En el día 12 del ciclo (7 días después de la administración de GnRH), se inyecta una dosis de PG para regresar el CL original existente al día 5 del ciclo y un nuevo CL se formará como producto de la ovulación inducida por la GnRH administrada el día 5 del ciclo. El descenso de los niveles de P₄ asociado con la regresión del CL, acelera el crecimiento del nuevo folículo y la segunda inyección de GnRH que se aplica 48 horas después de la PG (día 9 del protocolo) induce su ovulación entre 24 y 32 horas más tarde (Pursley et al., 1995). Esto posibilita la IATF, que se realiza a las 16 horas aproximadamente de la segunda GnRH. La sincronización de la ovulación (ovulación dentro de las 48 horas posteriores a la segunda inyección de la GnRH) depende del estadio del ciclo estral en que se administró la primera inyección de GnRH (Wiltbank y Haughian, 2003). De acuerdo con los trabajos publicados por Macmillan et al. (1985a) y Thatcher et al. (1989), la administración de un agonista de la GnRH, resulta en la completa inhibición de todas las manifestaciones de celo entre los días 0 a 5 y 9 a 14 del protocolo Ovsynch. Esta condición estaría dada por la alteración de la función de los folículos grandes. Thatcher et al. (1989) y Guilbault et al. (1990) demostraron que luego de la administración de Acetato de Buserelina, los folículos grandes desaparecían por atresia y/o luteinización. La Buserelina no es efectiva en la inhibición del estro si éste fue inminente al momento de la iniciación del tratamiento (Peters y Ball, 1987 citado por Twagiramungu et al., 1992). De acuerdo a lo encontrado por Twagiramungu et al. (1995), probablemente la inhibición de los celos es el resultado de la remoción de los folículos grandes ya sea porque se produce una ovulación y la consecuente formación de un nuevo CL o por la regresión y atresia del FD presente en el momento del tratamiento con GnRH.

En los bovinos la única acción conocida de la Buserelina es sobre las gonadotropinas hipofisarias (Macmillan et al., 1985; Clarke, 1989, Chenault et al., 1990). Como fue descrito por Twagiramungu et al. (1992), la administración de un agonista de la GnRH, prolonga además la vida media del CL y/o lo protege parcialmente de una luteólisis espontánea.

En el Escenario 1 se presenta la situación ideal y los tiempos de las aplicaciones de las hormonas son considerados críticos para el buen desempeño del protocolo.

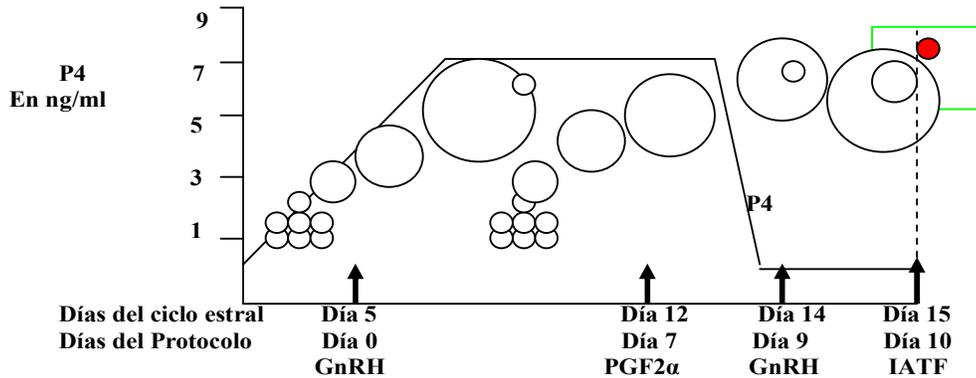


Figura 1. Dinámica folicular y progesterona plasmática durante un protocolo Ovsynch comenzado el día 5 del ciclo en una vaca con 2 ondas foliculares

En ésta y las siguientes figuras se muestra que las concentraciones de P₄ en plasma en una vaca con 2 ondas foliculares han sido monitoreadas por Thatcher et al. (2000) para asegurarse la presencia de un CL y se ha diagramado el desarrollo folicular.

En el Escenario 2, cuando se inicia el protocolo en un diestro tardío, a los 13 días de comenzado un ciclo estral, una segunda onda folicular está desarrollándose. Este folículo puede o no ovular dependiendo de su estado de madurez. En algunas ocasiones, esta segunda onda folicular es muy pequeña como para ovular y no se desarrolla un nuevo CL. Entre los 2 a 4 días después de la inyección de GnRH, la vaca espontáneamente induce la regresión del CL por liberación de PG endógena. Al momento de la inyección de la PG, 7 días después de la GnRH, esta vaca estará regresando el CL de su ciclo anterior y podría estar en celo (Moreira et al., 2000).

Algunas vacas pueden no estar sincronizadas y ovularán prematuramente (Figura 2) y si se prosigue con el protocolo, la inseminación será asincrónica (hecha tarde) y la vaca no concebirá.

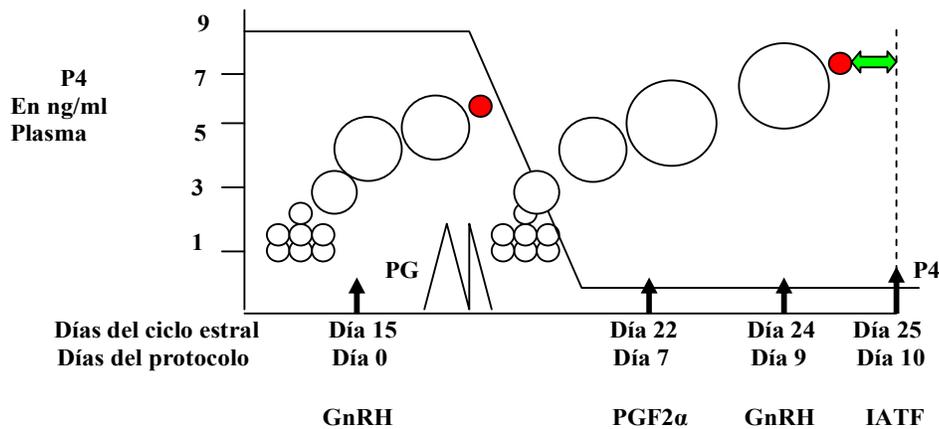


Figura 2. Dinámica folicular y progesterona plasmática durante un protocolo Ovsynch comenzado el día 15 del ciclo en una vaca con 2 ondas foliculares

En el Escenario 3 (Figura 3) se presenta cuando se comienza un protocolo IATF en metaestro (Día 2 del ciclo). En este caso, la vaca ya ha estado en celo, ovuló y se están reclutando nuevos folículos. En estos folículos pequeños de 3-4 mm la inyección de GnRH en el día 2 no tiene efecto (Tisdall et al., 1995; Xu et al., 1995; Moreira et al., 2000). En esta etapa en la cual los folículos tienen 4 mm de diámetro aproximadamente, la presencia de concentraciones importantes de FSH son necesarias para el crecimiento de los mismos (Wiltbank, 2002). Como fue descrito por Jolly et al. (1994), los aumentos recurrentes de FSH son los que estimulan el crecimiento de la onda folicular y la LH no podrá actuar hasta que el folículo sea sensible a esta hormona, momento en que ésta se hace indispensable para la supervivencia de esta estructura. Por lo tanto, hasta que el folículo no alcanza los 8,5 mm (Ireland y Roche, 1982; Ginther et al., 1996) o 10 mm de diámetro (Xu et al., 1995), la LH presente por la inducción de la aplicación de GnRH no será efectiva en la estimulación de la ovulación y hasta que esto no suceda, este folículo dominante no será LH dependiente (Xu et al., 1995). La consecuencia de administrar la segunda dosis de GnRH en este momento (día 9 del protocolo), es que el folículo dominante (que se desarrolló después de la primera dosis de GnRH) puede considerarse “viejo” por haber expresado su dominancia por 5 días o más y haberse vuelto funcionalmente no dominante (atrésico) (Austin et al., 1999) y comienza a regresar no produciéndose la ovulación.

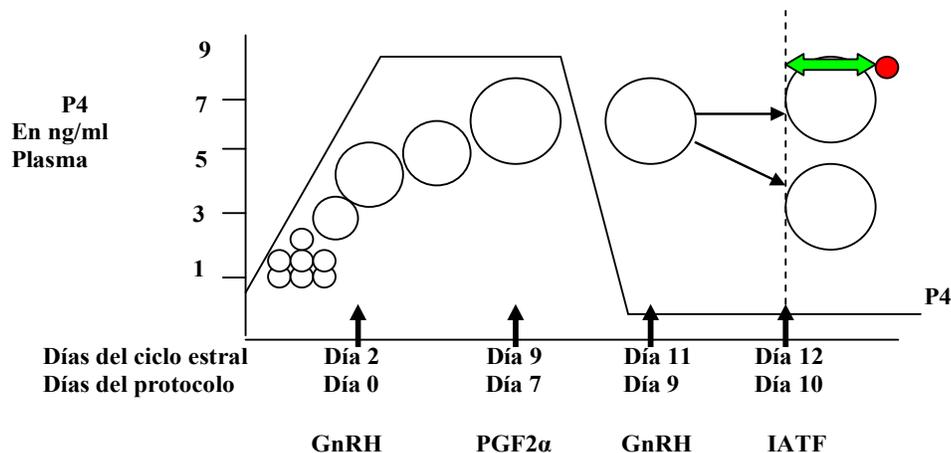


Figura 3. Dinámica folicular y progesterona plasmática durante un protocolo Ovsynch comenzado el día 2 del ciclo en una vaca con 2 ondas foliculares

De acuerdo a lo expresado, cuando se inicia una IATF en etapas tempranas del ciclo estral, resulta en una menor respuesta ovulatoria de los animales y las vacas son menos fértiles (Moreira et al., 2000; Vasconcelos et al., 1999). Cuando el protocolo de Ovsynch es iniciado en este momento, los animales tratados con GnRH, producen menos P₄ antes de la aplicación de la PG, tienen una concentración muy alta de E₂ en el celo y un intervalo corto desde la administración de la PG al celo (Stevenson et al., 1999). Los folículos pueden ovular pero al encontrarse en un ambiente muy bajo de P₄ durante el tratamiento no pueden responder a la administración de la segunda dosis de GnRH. Los animales que comienzan un OSY o HSY en el diestro o metaestro tendrán mucho menos oportunidad de concebir ya que serán inseminados en asincronía con su ovulación (Figuras 2 y 3).

Teniendo presente estos trabajos, este estudio intenta minimizar el efecto de la distribución aleatoria de los ciclos estrales de los animales, haciendo una

observación de celos e inseminando las vacas que van presentando celos desde el día 5 PM del protocolo hasta el día 7 PM, de acuerdo a lo sugerido por Laverdière et al. (1997).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

Hipótesis

Los protocolos de sincronización de celos y ovulaciones (IATF) tienen mayor porcentaje de preñez cuando se usan con detección de celos entre los días 5 PM y 7 PM a partir del comienzo de los mismos comparables a los obtenidos con DPG.

Objetivos

- 1- Evaluar en un período de servicios, programas de manejo reproductivo en vaquillonas para carne, utilizando IA con una combinación de IATF y detección de celos.
- 2- Comparar los porcentajes de concepción y de preñez con protocolos de sincronización de celos y ovulaciones con IATF modificados utilizando detección estratégica de celos, contra otro que implica solamente detección de celos.
- 3-Evaluar el costo de preñez con protocolos IATF modificados y compararlo con otro método de sincronización en base al uso de PG.
- 4- Evaluar la eficiencia de estos protocolos en sistemas productivos uruguayos.

ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación fue planteada para realizarse durante los períodos de servicio ganado para carne en tres establecimientos comerciales, en diferentes zonas y departamentos del país: Artigas, Cerro Largo y Florida desde el 14/01/05 al 30/04/06. La estrategia consistió en la selección de los animales y su asignación al azar a tres protocolos de sincronización de celos. En los dos protocolos IATF se usó una combinación de DC e IATF seguido de un repaso con IA de 5 días a partir de los 18 días de la primera IA con DC y un segundo repaso a los 45 días con toros por 30 días. En el protocolo DPG se utilizó DCIA por 5 días seguido de un repaso igual que en los protocolos IATF. A los efectos del trabajo experimental se evaluaron los resultados obtenidos luego de los tratamientos y el primer repaso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo que consistió en comparar tres protocolos de sincronización de celos, dos con IATF (OSYM y HSYM) y otro con detección de celos e IA (DPG). Este ensayo se repitió en tres predios (A, B y C), en dos años, 2005 (año 1) y 2006 (año 2) e involucró 4106 vaquillonas para carne de razas Hereford, Aberdeen Angus, y sus cruzas de un total de 5680 que iniciaron el experimento; de 18 a 24 meses de edad, 250 ± 15 Kg peso corporal y 4.00 ± 0.05 de

condición corporal de promedio en una escala de 1 a 8. Los tres establecimientos fueron seleccionados en diferentes departamentos; el Establecimiento “A” (DICOSE N° 071420248) ubicado en el Departamento de Florida, el Establecimiento “B” (DICOSE N° 030304454) ubicado en el Departamento de Cerro Largo y el Establecimiento “C” (DICOSE N° 010912318) ubicado en el Departamento de Artigas.

El trabajo siguió un esquema que involucró los siguientes componentes:

- a) **Predio:** se eligieron establecimientos con antecedentes de control de enfermedades reproductivas y con manejos sanitarios aceptables al momento de comenzar los programas de IA (ensayo).
- b) **Vaquillonas:** Se utilizaron vaquillonas de más de 18 meses, a las cuales se les realizó en forma individual un examen ginecológico preservicio por palpación rectal para determinar presencia de cuerpo lúteo y/o folículos mayores a 10 mm, descartar los animales preñados y en anestro. Se utilizaron animales presuntamente ciclando.
- c) **Raza y Estado Corporal:** Todas las hembras sin excepción, se clasificaron por raza, peso ($250 \pm 15\text{kg}$) y su condición corporal en una escala del 1 al 8, siendo aceptadas aquellas que estaban por encima del 4 de la escala adoptada (Condición por Apreciación Visual C.A.V.-Ellibank) en un estudio de Vizcarra et al. (1986).
- d) **Semen:** En todas las inseminaciones se utilizó semen importado con garantía sanitaria y de fertilidad.
- e) **Hormonas:** Las hormonas utilizadas fueron:
 - Acetato de Buserelina (Receptal®) 2mL (8,4 µg) i/m, Universal Lab, Montevideo-Uruguay.
 - Acetato de Buserelina (Gestar®) 2mL (8,4 µg) i/m, Laboratorio OVER-Santa Fe-Argentina.
 - Cloprostenol sódico (Bioprost®) 2mL (500 µg) i/m, Biotay Uruguay, Montevideo-Uruguay.
 - D(+) Cloprostenol (Prostal®) 2mL (150 µg) i/m, Laboratorio Over, Santa Fe-Argentina.
 - Estradiol-3- Benzoato en vehículo oleoso (Estradiol 10®) 1mL (1 mg) i/m, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe-Argentina.
- f) **Detección de celos:** para todos los protocolos, las observaciones se hicieron dos veces por día, en la mañana temprano, y por la tarde, por un lapso de no menos de 45 minutos en cada observación. Antes de comenzar a juntar el ganado, se hacía una observación general del comportamiento de los animales de cada grupo, teniendo en cuenta cuantos grupos sexualmente activos se presentaban y cuantos integrantes tenía cada uno. Esto resultó de mucha utilidad para predecir el porcentaje de hembras que iban a mostrar celo. Estos porcentajes se utilizaron para predecir el comportamiento de las vaquillonas en los siguientes trabajos programados de esta tesis. El procedimiento de retiro de los animales en celo fue el siguiente: cada grupo se juntaba siempre en el mismo lugar contra la esquina de un potrero. Dos personas a caballo cuidaban el grupo por fuera mientras que uno lentamente apartaba el animal marcado y lo retiraba, formándose aparte uno o varios grupos sexualmente activos que no interfería con el trabajo de separación. Cuando coexistían dos o más grupos en rodeos grandes, se necesitó más personal de lo normal ya que se debió observar celos en todos a la vez, con la consecuencia que la inseminación total requirió menos días.

- *Inseminación propiamente dicha*: el inseminador principal fue el autor del trabajo con la colaboración de otro inseminador igualmente experimentado, inseminando 50 animales alternadamente.
 - *Protocolización de los trabajos*. Una buena planificación, presencia y comunicación, incluyendo protocolos escritos además de consultas frecuentes entre productor y profesional, fueron fundamentales para el buen desempeño de los protocolos.
- g) **Inseminación**: Con el fin de uniformizar los intervalos entre el tratamiento y la IA, los animales se inseminaron en grupos (espaciados dentro del mismo día o en días consecutivos). Se sincronizó tantos animales como era posible inseminar en un período de 2 horas. Por esta razón, las inseminaciones se realizaron en grupos de aproximadamente 150 animales. En los tres establecimientos se uniformizó la alimentación, manejo e inseminación. La comida de las vaquillonas fue siempre sobre pasturas naturales mejoradas. El manejo está referido a que se respetaron las condiciones preestablecidas para cada sistema de sincronización elegido en cada predio durante los dos años de trabajo.

Descripción de predios y protocolos

Predio “A”

En este predio los tres protocolos comparados se distribuyeron de la siguiente forma:

OSYM $n = 424$ divididos en $n = 256$ el año 1 y $n = 168$ el año 2.

HSYM $n = 295$ divididos en $n = 140$ el año 1 y $n = 155$ el año 2.

DPG $n = 533$ divididos en $n = 231$ el año 1 y $n = 302$ el año 2.

Predio “B”

En este predio los tres protocolos comparados se distribuyeron de la siguiente forma:

OSYM $n = 453$ divididos en $n = 270$ el año 1 y $n = 183$ el año 2.

HSYM $n = 515$ divididos en $n = 241$ el año 1 y $n = 274$ el año 2.

DPG $n = 455$ divididos en $n = 236$ el año 1 y $n = 219$ el año 2.

Predio “C”

En este predio los tres protocolos comparados se distribuyeron de la siguiente forma:

OSYM $n = 549$ divididos en $n = 314$ el año 1 y $n = 235$ el año 2.

HSYM $n = 419$ divididos en $n = 195$ el año 1 y $n = 224$ el año 2.

DPG $n = 463$ divididos en $n = 211$ el año 1 y $n = 252$ el año 2.

En el Cuadro II se resume la distribución de animales por tratamiento y por año y en el Cuadro III la distribución de animales por protocolo y por predio

Cuadro II. Distribución de animales por protocolo, por predio y por año

Protocolo	Año 1			Subtotal	Año 2			Subtotal	Total
	Predio				Predio				
	A	B	C		A	B	C		
OSYM	256	270	314	840	168	183	235	586	1426

HSYM	140	241	195	576	155	274	224	653	1229
DPG	231	236	211	678	302	219	252	773	1451
Total	627	747	720	2094	625	676	711	2012	4106

Cuadro III. Distribución de animales por protocolo y por predio

Protocolo	Predio			Total
	A	B	C	
OSYM	424	453	549	1426
HSYM	295	515	419	1229
DPG	533	455	463	1451
Total	1252	1423	1431	4106

Protocolo OSYM

Día 0 AM, aplicación de 2mL i/m de un agonista de GnRH (8,4 µg), días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM se efectuó DC e IA, día 6 AM aplicación de 2mL i/m de PG (Twagiramungu et al., 1992). Los animales que mostraron celo antes, fueron inseminados y no siguieron en el grupo. El día 8 AM aplicación de la 2ª dosis de GnRH 2 mL (8,4 µg) i/m. El día 8 PM (entre las 19 y 21 hs) se efectuó la IATF dentro de las 14 – 17 horas de administrada la 2ª GnRH. A los 19 días del primer animal inseminado se realizó el primer repaso con IA por 5 días. El segundo repaso fue realizado con toros calificados inicialmente, para asegurarle al productor la máxima cantidad de crías posibles.

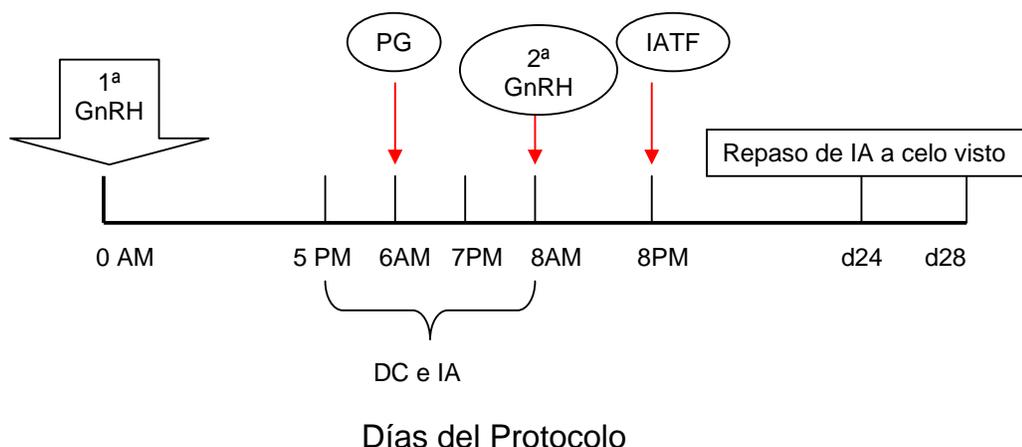


Figura 4. Esquema del protocolo Ovsynch Modificado utilizado

Protocolo HSYM

Día 0 AM aplicación de 2 mL del agonista de GnRH (8,4 µg) i/m, días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM DC e IA, día 6 AM aplicación de 2 mL de PG i/m. Los animales que mostraron celo antes, fueron inseminados y no siguieron en el grupo. El día 7 AM aplicación de BE 1mg i/m (mismas consideraciones en cuanto a los animales ya inseminados), día 8 PM a las 36 horas de la aplicación del BE se realizó la IATF. A los 19 días del primer animal inseminado se realizó el primer repaso con IA por 5 días. El segundo repaso fue realizado con los toros calificados inicialmente, para asegurarle al productor la máxima cantidad de crías posibles.

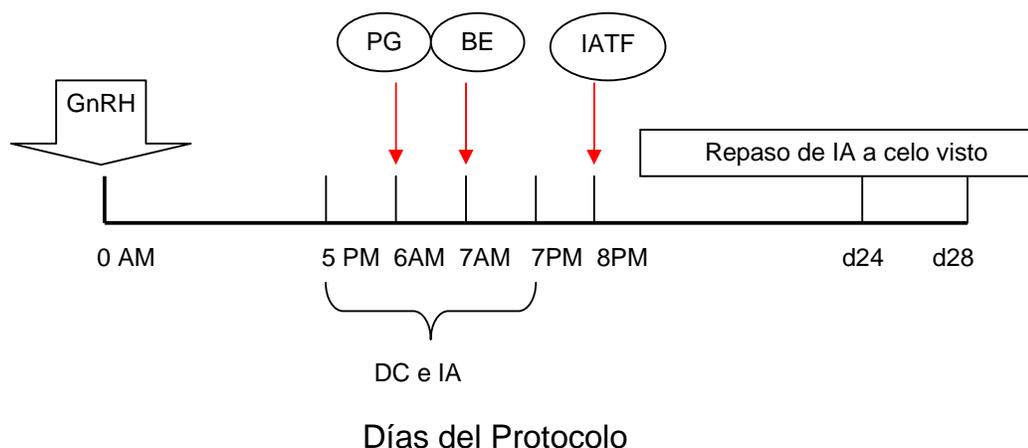


Figura 5. Esquema del protocolo Heatsynch Modificado utilizado

Figura 6. Diagrama de la secuencia de tratamientos Heatsynch Modificado utilizado a efectos de distribuir las IATF y entregado al productor.

GRUPO 1	Día 0	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
GnRH		DC e IA PM	DC e IA AM y PM + PG AM	DC e IA AM y PM + BE AM	IA AM IATF PM
GRUPO 2	Día 0	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
GnRH		DC e IA PM	DC e IA AM y PM + PG AM	DC e IA AM y PM + BE AM	IA AM IATF PM
GRUPO 3	Día 0	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
GnRH		DC e IA AM y PM	DC e IA AM y PM + PG AM	DC e IA AM y PM + BE AM	IA AM IATF PM

Nomenclatura: DC e IA= Detección Celos e Inseminación Artificial.

BE= Benzoato de Estradiol.

AM= de mañana; PM= de tarde.

Protocolo DPG

Se inyectaron dos dosis de PG con un intervalo de 14 días entre ellas. La primera dosis de 1 mL y la segunda de 2 mL. De acuerdo a lo observado en la revisión bibliográfica en que se expresa que las vaquillonas tienen un ciclo estral más corto (19-21 días) respecto a las vacas adultas (21-23 días) y por lo tanto, la etapa del diestro, momento en que los animales son receptivos a un agente luteolítico se presentará en días diferentes en las dos categorías, en este ensayo se decidió utilizar el intervalo de 14 días de acuerdo a lo expresado por Folman et al. (1990) y Diskin et al. (2002). Existen opiniones contrarias como lo afirmado por Ferguson y Galligan (1993). A los 18 días del primer animal inseminado se realizó el primer repaso con IA a celo visto por 5 días. El segundo repaso fue realizado con los toros calificados inicialmente, para asegurarle al productor la máxima cantidad de crías posibles.

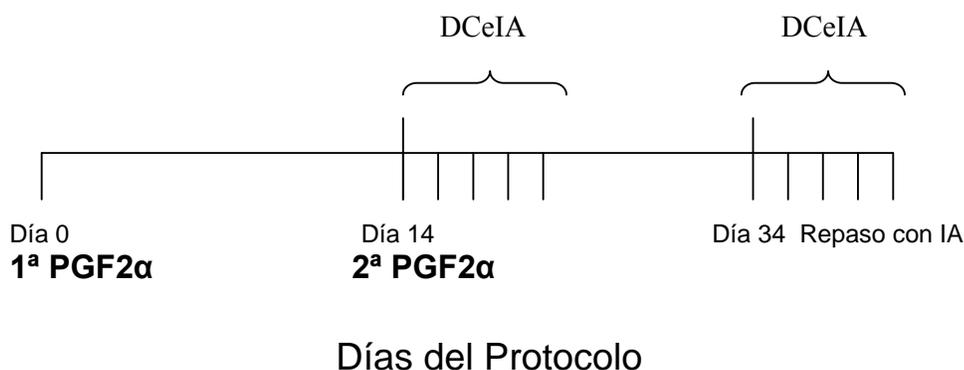


Figura 7. Esquema del protocolo Doble prostaglandina utilizado

Definición de parámetros de eficiencia reproductiva

- El porcentaje de detección de celos (PDC), se definió como:

$$\frac{\text{Animales detectados en celo} \times 100}{\text{Total de animales ofrecidos}}$$

En los protocolos IATF la detección de celos es igual a 100% ya que en este tipo de protocolos se inseminan el 100% de los animales. Para el Protocolo DPG, las vaquillonas en celo que se consideraron fueron aquellas que durante la aceptación de monta se quedaron paradas, quietas y aceptaron por lo menos 3 montas. Se tuvo en cuenta aquellos animales que manifestaron celo en alguno de los 5 días consecutivos a partir de las 36 horas de la segunda aplicación de PG.

- El Porcentaje de Concepción (PC), se definió como:

$$\frac{\text{Vacas preñadas}}{\text{Vacas inseminadas}} \times 100$$

- El Porcentaje de IATF (PIATF) es el producto de los animales inseminados que no presentaron celo a las 16 horas de la última GnRH en el OSYM o a las 36-48 horas del BE en el HSYM sobre el total de animales ofrecidos a la inseminación multiplicado por 100.

- El Porcentaje de preñez (PP) se definió como:

$$\frac{\text{Cantidad de preñeces obtenidas}}{\text{Total de animales ofrecidos}} \times 100$$

- El Porcentaje de Repaso (PREP), son los animales que retornaron en celo a los 18 y 20 días post inseminación y que fueron nuevamente inseminados.

$$\frac{\text{Cantidad de vacas reinseminadas}}{\text{Cantidad de vacas inseminadas por primera vez}} \times 100$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue de Bloques al azar.

El análisis se hizo por regresión logística con el procedimiento PROC LOGISTIC de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA; v. 9.1.3). El procedimiento de las frecuencias se realizó por PROC FREQ de SAS. No se realizó la conversión de las variables discretas porque se utilizó el procedimiento de frecuencias y no el de GLM para analizar estas variables.

Las variables analizadas fueron PCED, PC, PP, PIATF, PREP (incluyendo el primer repaso con IA). Se tuvo en cuenta el efecto tratamiento, año y el efecto predio. Se estableció un alfa para el nivel de significancia de 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

El Cuadro IV presenta el porcentaje de animales inseminados a tiempo fijo en los protocolos OSYM y HSYM. Se observa que en el protocolo OSYM hubo mayor cantidad de IATF que en el HSYM y como consecuencia sólo un 22,7 % de los animales mostraron celo antes del momento asignado para realizar la IATF y fueron inseminados luego de la detección de ese celo. Este porcentaje, al igual que en el HSYM (60,3 %), se consideró entonces como inseminados luego de un celo detectado (CD).

Cuadro IV. Porcentaje de vaquillonas IATF y Odds Ratio en los protocolos OSYM y HSYM

Protocolo	Porcentaje de IATF y OR			
	n	IATF ³	OR ⁴	IC ⁵
OSYM ¹	1102	77,3 ^a	5,165	4,364-6,113
HSYM ²	488	39,7 ^b	1,000	Referente

¹: Ovsynch modificado; ²: Heatsynch modificado; ³: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; ⁴: Odds Ratio; ⁵: Intervalo de Confianza de 95%; ^{a, b}: $P < 0,0001$

El Cuadro V compara el porcentaje de celos espontáneos y prematuros del protocolo HSYM realizados antes de la IATF y los celos espontáneos detectados en el protocolo DPG, donde se observa que no hay diferencias significativas.

Cuadro V. Porcentaje de celos detectados espontáneos y prematuros en los protocolos HSYM (entre los días 5 PM y 7 PM) y DPG (36 horas a partir de la segunda inyección de PG)

Protocolo	Porcentaje de celos detectados, OR e IC			
	n	PCED ³	OR ⁴	IC ⁵
HSYM ¹	741	60,3 ^a	0,895	0,765-1,046
DPG ²	913	63,0 ^a	1,000	Referente

¹: Heatsynch modificado; ²: Doble Prostaglandina; ³: Porcentaje de Celos Detectados; ⁴: Odds Ratio; ⁵: Intervalo de confianza de 95%; ^a: NS

Los porcentajes de concepción de los tres protocolos evaluados (Cuadro VI) fueron de 68,9 %, 70 % y 78,4 % respectivamente. El porcentaje de concepción fue diferente entre los protocolos IATF y el DPG donde además este último protocolo presenta un mayor PC que los protocolos IATF. Los animales de los protocolos OSYM y HSYM tuvieron 1,663 y 1,519 veces menos probabilidad de concebir que los inseminados con el DPG. En el mismo Cuadro se observa que la concepción en el año 1 fue mayor que en el año 2, así como entre los tres predios utilizados (A, B y C) donde el predio A tuvo mayor PC que los predios B y C.

Cuadro VI. Porcentaje de Concepción general en vaquillonas para carne bajo pastoreo extensivo en los tratamientos OSYM, HSYM y DPG por Año y Predio

Variable	Porcentaje de concepción			
Protocolo	n	PC ¹	OR ²	IC ³
OSYM	1426	68,9 ^a	1,663	1,367-2,020
HSYM	1229	70,0 ^a	1,519	1,245-1,858
DPG	913	78,4 ^b	1,0	Referente
Año				
1	1907	74,4 ^c	1,327	1,137-1,548
2	1661	68,6 ^d	1,0	Referente
Predio				
A	976	84,8 ^c	1,208	1,037-1,505
B	1335	73,2 ^f	1,217	1,001-1,457
C	1257	65,1 ^g	1,0	Referente
Total	3568 ⁴			

¹: Porcentaje de Concepción; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ⁴: 538 animales no se inseminaron por no presentar o no detectarse celo; ^{a,b}: P<0,0001; ^{c,d,e,f,g} P<0,0001

En el Cuadro VII, el PP muestra diferencias significativas a favor de los dos protocolos con IATF (OSYM y HSYM) respecto al DPG. La diferencia se debe a que en los dos protocolos IATF se inseminaron el 100% de los animales y en el protocolo DPG el porcentaje de animales inseminados fue menor que el total general (63%) debido a que 538 vaquillonas no presentaron celo o éstos no fueron detectados. Los animales inseminados a tiempo fijo tuvieron entre 2,2 y 2,3 veces más posibilidades de quedar preñados que los que se inseminaron a celo detectado con la DPG.

Cuadro VII. Porcentaje de Preñez en vaquillonas para carne bajo pastoreo extensivo en los tratamientos OSYM, HSYM y DPG, por año y por predio

Protocolo	Porcentaje de preñez			
	n	PP ¹	OR ²	IC ³
OSYM	1426	68,9 ^a	2,186	1,873-2,551
HSYM	1229	70,0 ^a	2,344	1,994-2,755
DPG	1451	49,4 ^b	1,000	Referente
AÑO				
1	2094	67,6 ^c	1,467	1,282-1,679
2	2012	56,6 ^d	1,000	Referente
Predio				
A	1252	71,4 ^c	1,009	0,860-1,184
B	1423	62,3 ^d	1,341	1,144-1,572
C	1431	56,8 ^d	1,000	Referente

¹: Porcentaje de Preñez; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%;
^a: NS; ^{a,b}: P<0,0001; ^{c, d}: P<0,0001; ^d: NS

Cuadro VIII. Porcentaje de Preñez de los tratamientos OSYM y HSYM en los animales con IACD e IATF

Tipo de IA ¹	N	Porcentaje de preñez		
		PP ⁴	OR ⁵	IC ⁶
IACD ²	1065	79 ^a	2,276	1,775-2,918
IATF ³	1590	63 ^b	1,0	Referente

¹: Inseminación Artificial; ²: Celos Espontáneos y Prematuros Detectados; ³: Inseminación a Tiempo Fijo; ⁴: Porcentaje de Preñez; ⁵: Odds Ratio; ⁶: Intervalo de Confianza de 95%; ^{a, b}: P<0,0001

En el Cuadro VIII se presenta el porcentaje de preñez obtenido en las inseminaciones a CD y con TF en los dos protocolos IATF donde se puede apreciar por sus OR, que los animales inseminados con CD tuvieron 2,3 veces más probabilidades de quedar preñados que los inseminados a TF.

En el Cuadro IX se presenta el porcentaje de preñez al repaso de la inseminación, efectuado a partir de los 18 días de la primera inseminación. Éste fue similar en los tres protocolos.

Cuadro IX. Porcentaje de Preñez en el Repaso (segunda inseminación) de las inseminaciones en los tres tratamientos

Protocolo	N	PP ¹	OR ²	IC ³
OSYM	116	80 ^a	2,038	1,024-4,058
HSYM	326	82 ^a	2,938	1,678-5,143
DPG	106	72 ^a	1,000	Referente

¹: Porcentaje de Preñez en el Repaso; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ^a: NS

Tanto el PC como PP se tuvieron en cuenta para el análisis económico, donde por definición adoptada, el PC es el resultado de la cantidad de animales preñados sobre la cantidad de animales inseminados y el PP es la cantidad de preñeces obtenidas frente al total de animales presentados a la inseminación

DISCUSIÓN

La hipótesis planteada se confirma: los protocolos de sincronización de celos y ovulaciones (IATF) permiten lograr un mayor porcentaje de preñez cuando se usan con detección de celos entre los días 5 PM y 7 PM a partir del comienzo de los mismos y son superiores a los obtenidos con DPG.

Seleccionar los parámetros adecuados para evaluar la eficiencia reproductiva de un rodeo, significa considerar las variables que logren dicho objetivo y escoger aquellas más adecuadas para cada situación. Ferguson y Galligan (1993), consideran que el mejor parámetro a utilizar en un programa de inseminación artificial es el porcentaje de preñez, que mide el total de preñeces logradas en 21 días (un ciclo estral). De acuerdo a esto, en este ensayo se optó por seguir estas consideraciones debido a que con esta metodología se pudo ir monitoreando en cortos períodos de tiempo la evolución del programa de inseminación y la evaluación de la misma se hizo en una forma más dinámica, periódica y haciendo posible la corrección de errores.

En los dos tratamientos con IATF utilizados, la administración de PG se realizó al sexto día de iniciado cada protocolo. Diferentes investigadores realizaron la administración de la PG en el día 7 de cada protocolo para producir una lutéolisis y lisar el cuerpo lúteo del ciclo anterior (Purseley et al., 1995; Schmitt et al., 1996; Geary y Whittier, 1998; Stevenson et al., 1999; Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000; De la Sota et al., 2000; Cavestany et al., 2000; Kasimanickan et al., 2005; Dalton et al., 2005). No obstante, Twagiramungu et al. (1992) y Dahlen et al. (2002) encontraron que en vaquillonas de carne no había diferencias significativas respecto a la respuesta de la administración de esta hormona el día 6 ó 7 de iniciado los protocolos y por lo tanto para este trabajo se tomó esta variante con la finalidad de acortar un día los protocolos IATF utilizados. La respuesta a la administración de la PG el día 6 en los protocolos con IATF de este trabajo, fue similar a la reportada por Twagiramungu et al. (1992), que realizaron observaciones de celos de 0 a 10 días desde la primera GnRH en adelante, o como lo describen Dahlen et al. (2002) donde no se detectaron celos. En este trabajo, si bien la observación de celos se hizo solamente por 2 días (día 5 PM al 7 PM en los dos protocolos IATF), los porcentajes de celos espontáneos fueron mayores a los encontrados por estos autores.

La detección de celos comenzó al quinto día por la tarde de iniciados los tratamientos OSYM y HSYM (12 horas antes de la administración de la PG) y se detectaron los celos espontáneos que de otra manera se habrían perdido y además hubieran disminuido el porcentaje de preñez de la IATF al inseminar animales que se encontrarán en metaestro temprano o diestro tardío (Thatcher et al., 2000; Rivera et al., 2004; Yamada, 2005; Dalton et al., 2005).

El porcentaje de celos detectados en el protocolo DPG no mostró diferencias significativas cuando se comparó con el HSYM pero la cantidad de animales inseminados en el protocolo DPG fue menor que en el HSYM ya que en este último se inseminó el 100% de los animales y en el DPG se inseminaron sólo 913 vaquillonas de las 1451 presentadas.

Kasimanickam et al. (2005) describen en su trabajo, resultados que coinciden con el nuestro; en primer lugar la presentación de celos espontáneos en ambos protocolos utilizados (Ovsynch y Heatsynch) y en segunda instancia los porcentajes de concepción en ambos protocolos.

La preñez fue mayor en los animales IACD que en los IATF (Cuadro VIII). Estos resultados apoyarían la hipótesis general que los celos espontáneos o

prematuros detectados son más fértiles que los de la IATF, lo que coincide con Cavestany et al. (2007). Martínez et al. (2004) afirman que los celos inducidos por aplicación de PG y los espontáneos o naturales, tienen la misma fertilidad. En nuestro trabajo, el protocolo DPG fue donde se presentó el mayor porcentaje de celos detectados a la vez que fue el que obtuvo el mayor PC en comparación a los protocolos con IATF. Esto es debido a que este tipo de protocolo actúa sobre la fase luteal del ciclo estral y por lo tanto lo que sincroniza es el diestro. Los protocolos IATF en cambio, actúan en su inicio sobre la fase folicular sincronizando las ondas foliculares y en su parte final recién actúan sobre la fase luteal produciendo luteólisis e induciendo la ovulación. Esta mayor oferta proporcional de animales en el protocolo DPG con celos espontáneos en la primera inseminación determina un mayor porcentaje de concepción en comparación con los celos espontáneos y prematuros de los protocolos OSYM y HSYM, lo que concuerda con Dalton et al. (2005). No obstante en el protocolo DPG se inseminaron menos vaquillonas debido a que sólo se inseminaron aquellas que se detectaron en celo en comparación al OSYM y HSYM en los que se inseminó el 100% de los animales. En este trabajo se consideraron todos los animales preñados como respuesta a los protocolos (los IATF y los IACD) debido que consideramos que están involucradas dentro del total de cada protocolo. Martínez et al. (2004) no consideran preñadas por IATF las vaquillonas que muestran celos espontáneos y resultan preñadas, lo cual resulta en porcentajes diferentes y consideramos que se excluyen animales que estaban dentro de un mismo experimento. En el protocolo HSYM se detectaron más celos espontáneos que en el OSYM, y uno de las causas fue la sustitución de la GnRH por BE al final del protocolo para inducir la ovulación. El BE no inhibe las manifestaciones de celo, como sí lo hace la GnRH y esto hace evidente que en el HSYM se observen más celos hasta el momento del tiempo fijo. Martínez et al. (2004), realizaron un trabajo con vaquillonas para carne usando BE para sincronizar la emergencia de las ondas foliculares y también encontraron que se producía un alto porcentaje de celos espontáneos (28%) antes de la IATF, quizás más bajo que los hallados en nuestro trabajo debido a que el protocolo usado no fue igual al utilizado por nosotros. Según estos autores, la aplicación de BE, 24 horas luego de la PG (administrada el día 6 de comenzada la sincronización de la emergencia de las ondas foliculares), da como resultado en las vaquillonas una expresión de celos muy baja (10,4%) que sumado al corto intervalo entre la PG y la aplicación del BE, produciría luteólisis prematura, hecho que aparentemente no se observó en nuestro trabajo corroborado por los resultados obtenidos. Estos investigadores expresan claramente que no se usó GnRH sino BE para sincronizar la emergencia de las ondas foliculares y posiblemente ésta sea la diferencia entre sus resultados y los nuestros donde se logró un alto porcentaje de celos en el HSYM.

De la misma forma, se puede afirmar de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, que la administración de la PG el día 6 de cada uno de los protocolos IATF, no afectó los PC ni los PP según describen diferentes autores (Pursley et al., 1995; Roy y Twagiramungu, 1999; Barros et al., 2000; Cavestany et al., 2002; Martínez et al., 2004; Kasimanickam et al., 2005) en la administración de la PG el día 7 de cada protocolo.

Con respecto al PC que tuvieron el OSYM y el HSYM en este trabajo, la diferencia significativa entre ambos estaría explicada principalmente por la combinación GnRH-PG-BE (HSYM) en un protocolo IATF. Esta aseveración se apoya en el hecho que en el trabajo de Martínez et al. (2004) se utilizó E₂ y P₄ parenteral basado en una presincronización con doble PG 14 días aparte para iniciar

el protocolo IATF. Es evidente que la presencia de celos prematuros en el OSYM y HSYM es notoria y significativa entre ambos (22,7% y 60,3% respectivamente). Esta diferencia se repite en el primer repaso (segunda inseminación), no obstante el PP final no mostró diferencias significativas. Estos guarismos altos concuerdan con lo expresado por Busch et al. (2008), que afirman que los PP son más altos en aquellos animales inseminados que mostraron celo respecto a los otros que no lo hicieron y fueron inseminados con IATF. No obstante el efecto año se esperaba, ya que en el año 2005 los animales no sufrieron la sequía del 2006 en el momento de las inseminaciones y esto lo demuestra la diferencia en concepción en los dos años. Este valor se tuvo en cuenta para el análisis económico, donde por definición adoptada, la concepción es el resultado de la cantidad de animales preñados sobre la cantidad de animales inseminados.

La fertilidad de los celos espontáneos fue superior en comparación con las inseminaciones a tiempo fijo (Cuadro VIII) demostrado por los OD obtenidos, como también lo reportaron Stevenson et al. (2000), Lean et al. (2003), Cavestany et al. (2005), y al haberse realizado la detección de celos en los tratamientos OSYM y HSYM, entre los días 5 PM y 7 PM, se observaron más celos espontáneos respecto a lo reportado por Stevenson et al. (1999) y además hace suponer una mejoría del 12% de preñez respecto a trabajos presentados en ganado de carne cruzas índicas como el de Fernández et al. (1999).

La presencia de ciclos interestruales cortos en vaquillonas en los protocolos IATF, reduce la preñez y los índices de concepción (Schmitt et al., 1996). Esto no sucede en vacas adultas, donde Pursley et al. (1994a) y Twagiramungu et al. (1995) reportaron la no ocurrencia de intervalos interestruales cortos en esa categoría. El hecho que los intervalos interestruales cortos sólo ocurran en aquellas vaquillonas que recibieron la segunda dosis de GnRH en un protocolo Ovsynch (por lo tanto se inseminaron a tiempo fijo), parece reafirmar lo expresado por Schmitt et al. (1996) que la primera parte de la sincronización de estos protocolos (desde la aplicación de la primera GnRH hasta la aplicación de la PG), no causa directamente los ciclos interestruales cortos y esto apoya la opción del uso de BE en lugar de la GnRH para inducir la liberación de LH y reducir la variabilidad en el tiempo de la liberación de esta hormona en concomitancia con la aparición del celo. Otro factor considerado es que en los protocolos OSYM y HSYM se logró sincronizar la emergencia de una parte importante de las ondas foliculares de los animales, por lo tanto la luteólisis y la ovulación se produjeron con más sincronía en todo el rodeo, donde un número mayor de vaquillonas que retornaron en celo fueron reinseminadas en el repaso. Los resultados obtenidos en este trabajo son diferentes a otros resultados encontrados. La literatura de IATF sobre vaquillonas vírgenes para carne en condiciones de pastoreo extensivo y con detección parcial de celos (Twagiramungu et al. 1992 y 1995, Cavestany, 2002, Martínez et al 2004) y en los trabajos realizados en ganado lechero por Dejarnette et al. (2001), Dalton et al. (2005) y Kasimanickan et al. (2005), son más consistentes con los resultados obtenidos en este ensayo y sobre todo concuerdan con lo establecido respecto a la presentación de celos prematuros. Sin embargo los resultados de la utilización de los protocolos Ovsynch o Heatsynch en combinación con la detección de celos (OSYM y HSYM), no concuerdan totalmente con otros resultados reportados (Stevenson et al. 1999), básicamente con la presentación de celos entre los días 0 y 7 en el que se menciona la presencia de aproximadamente un 10% de celos antes de la IATF o el 78.5% encontrado por Schmitt et al. 1996.

Cavestany et al. (2002), realizó un trabajo en vaquillonas de raza para carne en el cual en uno de los grupos se utilizó Ovsynch con observación de celos desde el día 0 al día 25 y cuyos resultados de preñez (41,0%) difieren con los obtenidos en el OSYM de nuestro trabajo (69,0%); en otro grupo en el cual se utilizó el mismo protocolo pero sin detección de celos, los resultados de preñez (62,3%) fueron similares a los obtenidos en el OSYM.

En nuestro trabajo los resultados logrados con el OSYM son diferentes a los obtenidos por Schmitt et al. (1996), en el cual sus resultados con el OSY son muy diferentes a los nuestros 69% vs. 38% respectivamente. En ese trabajo se presenta un alto índice de DC (78.5%) con una baja fertilidad que se refleja en el PP obtenido de 47%. Si se comparan estos resultados con los nuestros, consideramos que los factores que diferencian los mismos pueden ser la raza y la categoría de animales, así como las condiciones de manejo. Nuestros resultados son similares a Twagiramungu et al. (1992) y (1995), pero debe notarse que en uno de los protocolos realizados por este autor, se hace detección de celos prematuros. Cavestany et al. (2002), publicó un trabajo con ganado de leche, que si bien no efectúan detección de celos, lograron resultados similares en porcentajes de concepción y de preñez comparado con el OSYM usado en el presente trabajo, coincidiendo que en vaquillonas es mucho más efectivo utilizar este tipo de protocolos debido a veces a la débil expresión de los celos y a su corta duración (Stevenson et al. 1996). Según Bó et al. (2006), un factor importante que puede influir negativamente a que el protocolo Ovsynch no sea del todo efectivo en vaquillonas es debido a la menor duración de las ondas foliculares (con un recambio folicular más rápido y más ciclos de tres ondas) en vaquillonas, siendo menores que en las vacas en lactancia (con recambio folicular más lento y más ciclos de dos ondas). Esto difiere con los resultados de este trabajo y de otros como los de Twagiramungu et al. (1992 y 1995), Cavestany et al., (2002), Schmitt et al. (1996). Cavestany et al. (2002) evaluaron la precisión de los celos referido a los porcentajes de aparición y en qué momento del protocolo se sucedían efectuando detección de celos todos los días del mismo. Esto es importante porque concuerda con los resultados obtenidos en nuestro trabajo. Otro aspecto importante de analizar en este artículo, es la referencia de días respecto a la supresión de celos post aplicación de la GnRH. Si bien Cavestany et al. (2002) no especifican exactamente cuantos celos se detectaron por día, en nuestro trabajo encontramos que en el día 5 del protocolo, sólo se visualizó entre el 0,2 y 0,5% (datos extraídos del análisis primario a campo) del total de los celos detectados en ese periodo no justificándose adelantar la detección de celos en los protocolos IATF.

El PDC espontáneos o prematuros entre el OSYM y el HSYM tuvo diferencias significativas (22,7% y 60,3% respectivamente) y esto plantea la hipótesis que la sincronización de la ovulación puede haber sido más efectiva en el OSYM que en el HSYM por acción de la GnRH del primero frente al BE del segundo tratamiento. Sin embargo en el Cuadro V se presentan resultados de los protocolos HSYM y DPG que se pueden comparar entre sí ya que en el HSYM los celos se van a presentar hasta último momento.

Apoyando esta hipótesis, Cavestany (2002) y Martinez et al (2004) aconsejan que con el uso de BE se realice detección de celos. En el tratamiento HSYM la administración de BE no inhibió las manifestaciones de celos, lo que concuerda con otros trabajos publicados (Barros et al., 2000; Martínez et al., 2004) y el resultado final de preñez fue superior con diferencia significativa respecto a la metodología original de los protocolos IATF en los cuales se jerarquizó la IATF desinteresándose por la presencia o ausencia de celos.

El mayor porcentaje de celos en el protocolo HSYM se explica porque el BE se aplicó 24 horas después de la PG y 36 horas antes de la IATF y no suprimió las manifestaciones de celo. En cambio en el OVSM la GnRH administrada 48 horas después de la PG y 14 a 17 horas antes de la IATF bloqueó los celos que no eran inminentes hasta la IATF inclusive.

La comparación del método doble prostaglandina se realizó al igual que con los otros dos, para demostrar la diferencia en su efectividad y su relación costo/beneficio.

El efecto año se esperaba. Esto se debió a que el régimen pluviométrico fue mayor en el año 1 que en el 2. Ello repercutió en una mayor oferta, disponibilidad y calidad de forraje en el primer año mientras en el segundo año se presentó una sequía importante en el momento de las inseminaciones.

Este efecto de subnutrición en el año 2 causado por la falta de agua en las pasturas y su consecuente disminución en cantidad y calidad tuvo un efecto negativo en el PC y PP donde fue menor en el año 2 que en el año 1.

Los efectos de un BEN (balance energético negativo) en la reproducción se manifiestan primeramente a nivel hipotálamo-hipofisario en el control reproductivo y está caracterizado por hipoglucemia, hipoinsulinemia, supresión de IGF-1 en plasma y elevación de hormona de crecimiento (GH) en plasma. Estos cambios están asociados con la inhibición de la pulsatilidad de la GnRH, anovulación y anestro en la hembra (Scaramuzzi et al. 2006). Existen fuerte evidencias que en vacas lecheras esta situación de BEN, tiene acción directa sobre los ovarios, inhibiendo la foliculogénesis y la calidad de los ovocitos (Wathes et al. 2003).

Esto concuerda con un estudio de Sosa et al. (2006) en ovejas adultas, donde se encontró en el útero de las mismas, un efecto negativo en la expresión génica, en la capacidad de unión y distribución en los tejidos de los receptores de P₄ (PR) y E₂ (ER) en los patrones circulantes de las hormonas metabólicas y reproductivas. Esta situación de “supuesta” subnutrición, provocaría una significativa disminución en los requerimientos mínimos de mantenimiento y afectaría la capacidad de unión de los PR y ER aproximadamente en el día cinco postestro, lo que haría suponer una disminución en la preñez temprana.

Scaramuzzi et al. (2006) describe como relevante, la acción de la glucosa en los días 3 a 5 postestro, la cual influye en la foliculogénesis mediante el incremento del número de los grandes folículos sin actuar sobre los folículos pequeños y medianos.

Esto reafirma la importancia de la nutrición en cuanto se refiere a la incidencia de las hormonas metabólicas en el desarrollo folicular y el reconocimiento materno de la preñez.

ANÁLISIS DE COSTOS

El PP pone de manifiesto una diferencia significativa en la cantidad de preñeces obtenidas en cada protocolo y entre el Año1 y Año 2 (basándonos en unidades de tiempo). Esto redundó en el valor económico final de la preñez a favor de los protocolos IATF (OSYM y HSYM) frente al de DPG.

En el Cuadro X se puede apreciar como se presentaron las dosificaciones de hormonas; en el OSYM se ve cuántos animales no recibieron la PG o la segunda dosis de GnRH, en HSYM como no recibieron la PG o el BE, mientras que en el

DPG todos los animales recibieron las dos dosis de PG. En el mismo cuadro se observa la cantidad de repasos que hubo por protocolo.

En el Año 1 las condiciones de las pasturas fueron aceptables al ser un año normal (sin sequía) y los porcentajes en general de concepción y de preñez en los tres protocolos fueron superiores a los del Año 2 en que sí se manifestó una sequía importante sobre todo al final de la primavera y todo el verano.

Esto pone de manifiesto que este tipo de protocolos IATF tienen un mejor desempeño ante condiciones adversas (dígase clima, disponibilidad de forraje, disminución de la CC, etc) que los tratamientos en base a sincronización de celos con Prostaglandina.

Cuadro X. Distribución de animales por protocolo, administración de hormonas, total de inseminaciones

Protocolo	N	S/PG ₁	S/GnRH ₂	S/BE ₃	S/IA	1a IA	2a IA	Total IA
OSYM	1426	115	305			1426	56	1482
HSYM	1229	79		280		1229	165	1394
DPG	1451				538	913	53	966

¹: animales que no recibieron PG; ²: animales que no recibieron GnRH; ³: animales que no recibieron benzoato de estradiol

⁴: Vaquillonas que no respondieron al tratamiento o no se detectaron en celo.

En el Cuadro XI se presenta el análisis económico general consolidado con los valores de los años correspondientes y se presenta unificado en base al costo de cada preñez manteniendo el principio que, el costo de la misma será el total de lo erogado (hormonas, semen, honorarios y repaso de la IA) de todos los animales presentados en cada protocolo a la inseminación, dividido las preñeces obtenidas en cada uno de ellos.

Cuadro XI. Costos y eficiencia de cada protocolo y valor promedio de la preñez de los años 1 y 2 consolidados; valores monetarios totales y porcentajes de preñez.

PROTOCOLO	Costo de protocolo ¹	Costo del ensayo	Costo de IA/vaca ²	Valor/preñez ³	Eficiencia ⁴
OSYM	\$ 2,13	\$ 1,96	\$ 9,61		
Repaso OSYM		\$ 8,00		\$ 14,9	69%
HSYM	\$ 1,68	\$ 1,52	\$ 9,86		
Repaso HSYM		\$ 8,00		\$ 14,1	70%
DPG	\$ 1,90	\$ 1,90	\$ 10,96		
Repaso DPG		\$ 8,00		\$ 26,9	49,4%

¹: Costo comercial; ²: Costo inicial menos los animales que no recibieron PG y/o GnRH; ³: Valor de la primera + segunda IA; ⁴: % de preñez del protocolo; Todos los valores monetarios están en dólares americanos.

Tal como lo expresara Stevenson (2000), cualquier sistema programado de IATF se paga por sí mismo porque hay más vacas preñadas por unidad de tiempo. Además, en el caso de los protocolos IATF que presentamos en este trabajo el retorno sobre la inversión fue mayor.

CONCLUSIONES

La utilización de la detección de celos en los protocolos con IATF entre los días 5 PM y 7 PM, mejoró el porcentaje de preñez respecto a los resultados presentados para el Ovsynch y Heatsynch clásicos y aumentó en 20,6 % el PP respecto a lo obtenido con el uso del protocolo DPG. La DC en los días prefijados, disminuye los costos de los protocolos IATF aproximadamente un 9%. En nuestro país se justifica la implementación de la DC con personal entrenado por períodos cortos.

La administración de la PG el día 6 en los protocolos IATF en vaquillonas de carne en condiciones de pastoreo extensivo no modificó los índices de concepción y de preñez presentados por otros autores en los trabajos realizados con la administración de la PG en el día 7; por el contrario, se acorta en un día ambos protocolos. El trabajo profesional en los tratamientos IATF fue de tres días y en el tratamiento DPG, de seis días.

Basados en los cálculos de costos, a medida que la DC y/o los PP disminuyen por diferentes causas como por ejemplo en este caso factores climáticos, se impone el uso de los protocolos IATF combinados con detección estratégica de celos.

Aún existiendo una diferencia significativa mayor en el PDC, en el PC y un PREP menor en el protocolo DPG, el PP final fue menor que en los protocolos OSYM y HSYM así como también en el valor económico de la preñez. La preñez con OSYM o HSYM costó 59,4% menos que con DPG.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams GP, Matteri RL, Ginther RJ. (1992). Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J Reprod Fertil*; 95:627-640.
2. Amoss M, Burgus R, Blackwell R, Vale W, Fellows R, Guillemin R. (1971). Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. *Biochem Biophys Res Commun*; 44: 205-210.
3. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1991). *Reproducción y Obstetricia Veterinaria*. 6ª ed. Ed. Interamericana Madrid, España. 626 pp.
4. Austin EJ, Mihm M, Ryan MP, Williams DH, Roche JF. (1999). Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J Anim Sci* 77:2219-2226.
5. Baruselli PS, Bó G, Reis EL, Marques MO, Sa MF Filho. (2005). Introdução da IATF no manejo reproductivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal- Córdoba. P. 151-176.
6. Barr HL. (1974). Influence of estrus detection on days open in dairy herds. *J Dairy Sci*. 58:246-248.
7. Barros CM, Moreira MBP, Figueredo RA, Teixeira AB, Trinca LA. (2000). Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and Estradiol Benzoate. *Theriogenology*; 53:1121-1134.
8. Bazer FW, First NL. (1983). Pregnancy and parturition. *J Anim Sci* 57:425-460.
9. Beal WE, Good, GA, Peterson, LA. (1984). Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Syncro-Mate B or norgestomet and alfaprostol. *Theriogenology*; 22:59-66.
10. Beal WE. (1998). Current estrus synchronization and artificial insemination programs for cattle. *J Anim Sci*; 76:30-38.
11. Bendell JJ, Dorrington JH. (1990). Epidermal growth factor influences growth and differentiation of rat granulose cells. *Endocrinology*, 127:533-540.
12. Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Tríbulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. (1994). Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology*; 41:1555-1569.
13. Bó GA, Adams GP, Caccia M, Martínez M, Pierson RA, Mapletoft RJ. (1995a). Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim Reprod. Sci*; 39:193-204.
14. Bó GA, Bergfelt GP, Pierson RA, Tríbulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. (2000). Local versus system effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. *Anim Reprod Sci*; 59:141-157.
15. Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Mapletoft RJ. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. *Therigenology*; 57:53-72.
16. Brown JL, Reeves JJ. (1983). Absence of specific luteinizing hormone releasing hormone receptors in ovine, bovine and porcine ovaries. *Biol Reprod*; 29:1179-1182.
17. Busch DC, Schafer DJ, Wilson DJ, Mallory DA, Leitman NR, Haden JK, Ellersieck MR, Smith LF, Patterson DJ. (2008). Timming of artificial

- insemination in postpartum beef cows following administration of the Co-Synch controlled internal drug-release protocol. *J Anim Sci*; 86:1519-1525.
18. Burke IM, de la Sota RL, Risco CA, Staples CR, Schmitt EJP, Thatcher WW. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 79:1385-1393.
 19. Cavestany D, de Nava G, Galina CS. (2000). Sincronización de celos con inseminación a tiempo fijo como alternativa para incrementar la eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo. XXI World Buiatrics Congress. 10201 abs: p037.
 20. Cavestany D, Negrin N, Negrin, Groth JF. (2002). Response of beef heifers and non-suckling beef cows to different oestrus synchronization protocols. *Anim. Sci*; 74:547-552.
 21. Cavestany D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos del Uruguay. Costos y variaciones en las respuestas. Primera parte: Fundamentos Teóricos. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
 22. Cavestany D, Cibils J, Freire A, Sastre A, Stevenson JS. (2003). Evaluation of two different oestrus-synchronization methods with timed artificial insemination and resynchronization of returns to oestrus in lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci*; 77:141-155.
 23. Cavestany D, Bentancour H, Blanc JE, Lemaire C, Slavica J, Moreira F, Risco C. (2007). Reproductive efficiency in grazing lactating dairy cows under a programmed reproductive management system. *Aust Vet J*; 85:141-147.
 24. Clarke IJ. (1989). The GnRH/gonadotropin axis in the ewe, cow and sow. *Domest Anim Endocrinol*; 6: 1-14.
 25. Clugston HW. (1989). Bovine Artificial Insemination. Technical Manual. Canadian Association of Animal Breeders. Ed. 1990 25-30.
 26. Cooper MJ. (1974). Control of oestrus cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. *Vet Rec*; 95:200-203.
 27. Crow MA, Goulding D, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. (1993). Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *J Reprod Fertil*; 99:551-555.
 28. Chenault JR, Kratzer DD, Rzepkowski RA, Goodwin MC. (1990). LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology*; 34:81-98.
 29. Dahlen CR, Lamb GC, Zehnder CM, Miller LR, DiConstanzo A. (2002). Fixed-time insemination in prepuberal, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*; 59:1827-1837.
 30. Dalton JC, Manzo R, Ahmadzadeh A, Shafii B, Price WJ., DeJarnette JM. (2005). Short communication: Conception rates following detection of estrus and timed artificial insemination in dairy cows synchronized using GnRH and PGF2alpha. *J Dary Sci*; 88: 4313-4316.
 31. Danet-Desnoyerds G, Wetzels C, Thatcher WW. (1994). Natural and recombinant interferon τ regulate basal and oxytocin-induced secretion of prostaglandin F2 α and E2 by epithelial cells and stromal cells in the endometrium. *Reprod Fert Develop*; 6:193-202.
 32. Day ML. (1998). Practical manipulation of the estrous cycle in beef cattle. Proceedings of the 31st American Association of Bovine Practicioners. Spokane (WA): Frontier Printers, Inc.; p.51-61.

33. DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE. (2001). Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF (2alpha). *Anim Reprod Sci*; 67:27-35.
34. De Kruif A, Brand A. (1978). Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. *New Zealand Vet J*; 26:183-189.
35. De la Sota RL, Crudeli GA, Torres-Giménez G. (2000). Sincronización repetida de la ovulación e inseminación programada en vacas Brahman y Bradford comerciales. V Congreso Argentino de Reproducción Animal.
36. De la Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. (1993). Effect of recombinant bovine somatotropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and non lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:1002-1013.
37. De Luca, LJ, Casagrande J. (1988). *Revista Brasileira de Reproducción. Recife Pernambuco UNP. Recife Brasil. N° 10; 121-144.*
38. De Nava G, Romero D, Rodríguez M, Gil A. (2000). Performance reproductiva de vaquillonas Holando sometidas a dos programas de inseminación a tiempo fijo con o sin resincronización de retornos. XXI World Buiatrics Congress; 9:10201 abs: p045.
39. Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol*; 23(1-2):211-228.
40. Driancourt MA, Thatcher WW, Terqui M, Andrieu D. (1991). Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. *Dom Anim Endocrinol*; 8:209-221.
41. Drion PV, Beckers JF, Derkenne F, Hanzen Ch. (2000). Le développement folliculaire chez la vache. Mécanismes hormonaux au cours du cycle et du post-partum. *Ann. Méd. Vét* ; 144:385-402.
42. Evans ACO, Adams GP, Rawlings NC. (1994). Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J Reprod Fert*; 102:463-470.
43. Evans ACO, Good TEM, Ireland JLH, Ireland JJ, Knight PG , Roche JF. (1997). Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitud are associated with the recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of bovine estrous cycle. (1997). *Biology Reproduction* 57: 394-401.
44. Ferguson SD, Galligan DT. (1993). Reproductive programs in dairy herds. *Proc. Central Veterinary Conference: pp161-178, Kansas City, MO.*
45. Fernandes P, Teixeira AB, Crocci AJ, Barros CM. (2001). Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF²alfa and Estradiol Benzoate (EB). *Theriogenology*; 55:1521-1532.
46. Figueiredo RA, Barros CM, Pinheiro O., Sole JMP. (1997). Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*; 47:1489-1505.
47. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. Effects of progesteron and parity on conception. *J Dairy Sci*; 73:2817-2825.
48. Fonseca FA, Britt JH, Kosugiyama M, Ritchie HD, Dillard EU. (1980). Ovulation, ovarian function, and reproductive performance after treatments with gonadotropin releasing hormone in postpartum suckled cows. *Theriogenology*; 13:171-182.
49. Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J Dairy Sci*; 58, 248-256.

50. Fricke PM, Guenther JN, Wiltbank MC. (1998). Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 50:1275-1284.
51. Geary TM, Whittier JC. (1997). Modifications of Ovsynch estrous synchronization protocol for use in beef cows. *J Anim Sci*; 75:236 abs.
52. Geary TW, Whittier JC, Downing ER, LeFever DG. (1988a). Effect of calf removal on pregnancy rates of cows with the Ovsynch or Cosynch protocol. *J Animal Sci*; 76:278 abst.
53. Geary TW, Whittier JC, Downing ER, LeFever DG, Silcox RW, Holland MD, Nett TM, Niswender GD. (1998b). Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B or Ovsynch protocol. *J Anim Sci*; 76:1523-1527.
54. Geary TW, Whittier JC, Hallford DM, MacNeil MD. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J Anim Sci*; 79:1-4.
55. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*; 55:1187-1194.
56. Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K.(1998). Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular wave development in cattle. (1998). *Theriogenology* 50: 507-519.
57. Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K.(1999). Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology* 52: 1079-1093.
58. Guilbault LA, Lussier JG, Grasso F, Matton P. (1990). Influence of a GnRH analogue on follicular dynamics in cows pretreated or not with FSH-P. *Theriogenology*; 33:240 Abstr.
59. Hafez HES. (1989). *Reproducción e inseminación artificial en Animales*. 5^o Ed. Interamericana MC Graw-Hill. México D.F. México. 677 pp.
60. Higgins CK, Berardinelli JG, Han DK, Ansotegui RP, Moody EL. (1985). Oestrus synchronization system involving Prostaglandin F₂ α and Progesterone pre-treatment in beef heifers. *Theriogenology*; 25:249-261.
61. Quintans G, Paiva N, Viñoles C, Gari C. (2000). *Actividades de difusión INIA Treinta y Tres N° 255- Capítulo 8*.
62. Inskoop EK. (1973). Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. *J Anim Sci*; 36:1149-1157.
63. Ireland and Roche. (1982). Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormones steroids in follicular fluid and gonadotropin receptors. *Endocrinology* 111, 2077-2086.
64. Kasimanickam R, Cornwell JM, Nebel RL. (2005). Fertility following fixed-time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 63:2550-2559.
65. Kastelic JP, Knopf L, Ginther OJ. (1990). Effect of day of prostaglandin F₂ α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci*; 23:169-180.
66. Kerr DR, McGowan MR, Carrol CL, Baldock FC. (1991). Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in northern Australia. *Theriogenology*; 36:129-141.

67. Knickerbocker JJ, Thatcher WW, Foster DB, Wolfenson D, Bartol FF, Caton D. (1986). Uterine prostaglandin and blood flow responses to estradiol 17 β in cyclic cattle. *Prostaglandins*; 31:757-776.
68. Knobil E. (1980). The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Rec Progr Horm Res*; 36:53-88.
69. Kristula M, Bartolomew R, Galligan D. (1992). Effects of a prostaglandin F2 α synchronization program in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 75:2713-2718.
70. Larson LL, Ball PJH. (1992). Regulation of estrus cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology*; 38:255-267.
71. Larson JE, Lamb GC, Stevenson JS, Johnson SK, Day ML, Geary TW, Kesler DJ, DeJarnette JM, Schrick FN, DiConstanzo A, Arsenau JD. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 α and progesterone. *J Anim Sci*; 84:332-342.
72. Lauderdale JW, (1972). Effects of PGF2 α on pregnancy and estrus cycle of cattle. *J Anim Sci*; 35:246 (abst).
73. Lauderdale JW, Seguin BE, Sterflung NJ, Chenault JR, Thatcher WW, Vicent KJ, Loyancano AF. (1974). Fertility of cattle following PGF2 α injection- *J Anim Sci*; 38:964-967.
74. Laverdière G, Guilbault LA, Roy GL, Twagiramungu H, Dufour JJ. (1997). Simplifier la gestion des accouplements avec une seule insemination artificielle à temps fixe, un succès bœuf. *Congrès du Bœuf, CPAQ, Tois-Rivières*, pages 69-82.
75. Lean IJ, Porter JA, Rabiee AR, Morgan WF, Tranter WP, Moss N, Rheinberg RJ. (2003). Comparison of effects of GnRH and prostaglandin on conception rates and time to conception in dairy cows. *Aust Vet J*; 81:488-493.
76. Libertun C. (2004). Fisiología del GnRH, mecanismos de acción de agonistas y antagonistas. *Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva N°3 Argentina*.
77. Lucy MC, McDougall S, Nation DP. (2004). The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture management systems. *Anim Rep Sci*; 82-83:495-512.
78. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 81:209-223.
79. Macmillan KL, Henderson HV. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2 α to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1984; 6:245-254.
80. Macmillan KL, Day AM, Taufa VK, Gibb M, Pearce MG. (1985a). Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentration and oestrus cycle length. *Anim Reprod Sci*; 8:203-212.
81. Macmillan KL, Day AM, Taufa VK, Peterson AJ, Pearce MG. (1985b). Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. II. Interactions with injected prostaglandin F2 α and unilateral ovariectomy. *Anim Reprod Sci*; 8:213-223.
82. Macmillan KL, Thatcher WW. (1991). Effect of an agonist of GnRH on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*; 45:883-889.

83. Mapletoft RJ, Martínez MF, Adams GP, Kastelic JP, Burnley CA. 1999. The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet implanted cattle. *Theriogenology*; 51:411 abstr.
84. Mapletoft RJ, Colazo MG, Martínez MF, Kastelic JP. (2003). Esteres de estrógeno para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con dispositivos con Progesterona. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba. Argentina, 55-67.
85. Mapletoft RJ, Colazo M, Martínez M, Kastelic JP. (2005). Aplicación de IA a tiempo fijo en Programas de Bovinos de carne de Canadá. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 81-94.
86. Martínez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (1999). Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim Reprod Sci*; 57:23-33.
87. Martínez MF, Adams GP, Kastelic JP, Bergfel DR, Mapletoft RJ. (2000). Induction of follicular wave for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*; 54:757-769.
88. Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. (2002). The use progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed time AI in beef heifers. *J Anim Sci*; 80:1746-1751.
89. Martínez MF, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (2003) Effects of estradiol and progesterone on plasma steroid and gonadotropin concentration in CIDR-treated ovariectomized cows. *Theriogenology*; 59: 224 (abstr).
90. Martínez MF, Kastelic JP, Mapletoft RJ. (2004). The use of Estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. *Theriogenology*; 62: 363-372.
91. Mc Cracken JA, Edward EC, Justin CL. (1999). A neuroendocrine mediated events. *Physiol Rev*; 79:263-323.
92. Mihm M, Good TEM, Ireland JLH, Ireland JJ, Knight PG, Roche JF. (1997). Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations after key intrafollicular growth factors involved in selection of the dominant follicle in heifers. *Biology of Reproduction* 57, 1328-1337.
93. Moreira F, de la Sota RL, Díaz T, Thatcher WW. (2000). Effect of key of the estrus cycle at the initiation of timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim Sci*; 78:1568-1576.
94. Morrow DA. (1986). *Current Therapy in Theriogenology*. 2° Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. USA. 1104 pp.
95. Murphy MG, Boland MP, Roche JF. (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovary activity in postpartum beef suckler cows. *J Reprod Fertil*; 90:523-533.
96. Mussard ML, Burke CR, Behlke EJ, Gasser CL, Day ML. (2007). Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. *J Anim Sci.*; 85:937-943.
97. Niswender GD, Reimers TJ, Diezman MA, Nett TM. (1976). Blood flow: a mediator of ovarian function. *Biol Reprod*; 14:64-81.
98. Niswender GD, Juengel JL, McGuire WJ, Belfiore CJ, Wiltbank MC. (1994). Luteal function: The estrus cycle and early pregnancy. *Biol Reprod*; 50:239-247.

99. Odde KG. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci*; 68:817-830.
100. Peters AA, Ball PJH. (1987). *Reproduction in cattle*. Butterworths, London.
101. Pinheiro OL, Barros CM, Figueredo RA, Do Valle ER, Encarnaçao RO, Padovani CR. (1998). Estrous behavior and the estrus-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*; 49:667-681.
102. Patterson DJ, Kiracofe GH, Stevenson JS, Corah LR. (1989). Control of the bovine estrous cycle with melengestrol acetate (MGA): A review. *J Anim Sci*; 67:1895-1906.
103. Purseley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. (1994). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci*; 77: suppl.1.
104. Pursley JR, Mee MO, Brown MD, Wiltbank MC. (1994b). Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF2 α . *J Anim Sci*; 72(Suppl. 1):230 (Abstr.).
105. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 alfa and GnRH. *Theriogenology*; 44:915-923.
106. Pursley JR, Kosork MR, Wiltbank MC. (1997). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci*; 80:301-306.
107. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. (1997). Pregnancy rates per AI for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci*; 80:295-300.
108. Rivera H, Lopez H, Fricke PM. (2004). Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed artificial insemination or artificial after removed tail chalk. *J Dairy Sci*; 87:2051-2061.
109. Roche JF. (1974). Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F2 α . *J Reprod Fertil*; 37:135-138.
110. Rodríguez Artalejo A. (2005). La maquinaria molecular de la exositosis en las células cromafines de la médula adrenal. *Revisión* 71:127-151.
111. Rovira J. *Reproducción y Manejo de los Rodeos de Cría*. Montevideo. Hemisferio Sur. 293 pp.
112. Rowson L, Tervit R, Brand A. (1972). The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. *J Reprod. Fertil*; 29:145-148.
113. Roy GL, Twagiramungu H. (1999). Time interval between GnRH and prostaglandin injections influences the precision of estrus in synchronized cattle. *Theriogenology*; 51:413.
114. Savio JD, Keenan L, Boland M, Roche JF. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil*; 83:663-671.
115. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. (1990). Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J Reprod Fertil*; 88:569-579.
116. Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Intwistle K, Drostand M, Mattiacci MR. (1993). Effect of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil*; 98:77-84.

117. Scaramuzzi RJ, Campbell BK, Downing JA, Kendall NR, Kahlid M, Muñoz-Gutiérrez M, Somchit A. (2006). A review of the effects of the supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of the reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate the folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev* 46: 336-354.
118. Schally AV, Arimura A, Kastin AJ, Matuso H, Baba Y, Reeding TW, Nair RM, Debuljuk L, White WF. (1971). Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *J Anim Sci*; 173:1036-1038.
119. Senger PL. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. 2nd ed. Current Conceptions, Inc., Pulman, WA 99163-5606, USA. 368 pp.
120. Shemesh M, Dombrowski L, Gurevich M, Shore LS, Fuchs AR, Fields MJ. (1997). Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. *Reprod Fert Develop*; 9:525-530.
121. Schmitt EJP, Díaz T, Drost M, Thatcher WW. (1996). Use of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim.Sci.* 74:1084-1091.
122. Short RE, Adams DC. (1988). Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Can J Anim Sci*; 68:29-39.
123. Seguin B. (1997). Ovsynch: a method for breeding dairy cows without doing heat detection. *Bovine Practitioner*; 31:11-14.
124. Silcox RW, Powell KL, Kiser TE. (1993). Ability of dominant follicle (DF) to response exogenous GnRH administration is dependent on the stage of development. *J Anim Sci*; 71:219 (abstr).
125. Silcox RW, Powell KLPursley JL, Wiltbank MC. (1995). Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers with GnRH and prostaglandin. *Proc. Annual Conference of IETS. Theriogenology*; 43:325.
126. Sirois J, Fortune JE. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*; 39:308-317.
127. Sosa C, Albecia J.A, Forcada F, Viñoles C, Tasende C, Valares J.A, Palacín I, Martin G.B, and Meikle A. (2006). Effect of undernutrition on uterine progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during ovine oestrus cycle. *Reproduction, Fertility, Development* 18,447-458.
128. Stevenson JS, Kobayashi Y, Shipka MP, Rauchholz KC. (1996). Altering conception of dairy cattle by Gonadotropin-Releasing Hormone preceding luteolysis induced by Prostaglandin α F2. *J Dairy Sci*; 79:402-410.
129. Stevenson JS, Smith MW, Jaeger JR, Corah LR, Lefever DG. (1996). Detection of estrus by visual observation and radiotelemetry in peripubertal, estrus-synchronized beef heifers. *J Anim Sci*; 74:729-735.
130. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE. (1999). Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci*; 82:506-515.
131. Stevenson JS, Thompson KE, Forbes WL, Lamb GC, Grieger DM, Corah LR. (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet and prostaglandin with or without timed inseminations. *J Anim Sci*; 78:1747-1758.

132. Stevenson JS. (2000). Sincronización de celos y de ovulaciones en ganado de carne y bovinos de leche. V Congreso Argentino de Reproducción Animal. Córdoba-Argentina.
133. Taylor C, Rajamahendran R. (1991). Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can J Anim Sci*; 71: 61-68.
134. Tanabe TY, Hann RC. (1984). Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F₂ α and influence of stage of the cycle at treatment. *J Anim Sci*; 58:80-85.
135. Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. (1989). Concepts for the Regulation of Corpus Luteum Function by the conceptus and Ovarian Follicles to Improve Fertility. *Theriogenology*; 31: 149-164.
136. Thatcher WW, Driancourt MA, Terqui M, Badinga L. (1991). Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy during early pregnancy. *Domest Anim Endocrinol*; 8:223-234.
137. Thatcher WW, Patterson MS, Moreira F, Pancarci M, Jordan ER, Risco CA. (2001). Current Concepts for Estrus Synchronization Timed Insemination. *AABP Proc. 34th Annual Convention*. pp 95 -105.
138. Thatcher WW, Moreira F, Pancarci SM, Bartolome JA, Santos JEP. (2002). Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Dom Anim Endocrinol*; 23:243-254.
139. Thatcher WW, Santos JEP, Moreira F. (2000). Strategies to increase pregnancy rates in cattle. *Proc. 19th annual convention of the American Embryo Transfer Association*. P.17-46.
140. Thompson KE, Stevenson JS, Lamb GC, Grieger DM, Loest CA. (1999). Follicular, hormonal and pregnancy rates responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet and PGF₂ α . *J Anim Sci*; 77:1823-1832.
141. Tisdall DJ, Watanabe K, Hudson N., Smith P, McNatty KP. (1995). FSH receptor gene expression during ovarian follicle development in sheep. *J Mol Endocrinol*; 15:273-281.
142. Twagiramungu H, Guilbault LA, Dufour JJ. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a GnRH agonist to increase the precision of estrus in cattle. A review *J Anim Sci*; 73:3141-3151.
143. Twagiramungu H, Guilbault LA, Proulx J, Dufour JJ. (1992). Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*; 38:1131-1144.
144. Twagiramungu H, Guilbault LA, Proulx J, Villeneuve P, Dufour JJ. (1992). Influence of an agonist of Gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J Anim Sci*; 70:1904-1910.
145. Twagiramungu H, Roy GL, Laverdiere G, Dufour JJ. (1995). Fixed-time insemination in cattle after synchronization of estrus and ovulation with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology*; 43:341.
146. Van Cleeff JK, Drost M, Thatcher WW. (1991). Effects of post-insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology*; 36:795-807.
147. Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrus cycle. *Theriogenology*; 52:1067-1078.

148. Vizcarra JA, Ibañez W, Orcasberro R. (1986). Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas*, 7:45-47.
149. Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z, Mann JE. (2003). Follicle growth, corpus luteum functions and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction Suppl.* 61: 219-237.
150. Weeb R, Gong JG, Bamley TA. (1994). Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. *Theriogenology*; 41:25-30.
151. Wiltbank MC. (2002). Hormonal Regulation of Follicles and the Corpus Luteum during the Bovine Estrus Cycle. *Proc. Annual Convention American Embryo Transfer Association.* 14-38.
152. Wiltbank MC, Pursley JR, Fricke PM, Vasconcelos J, Guenther JN, Ginther OJ. (1996). Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. *Proc. 19th Annual Convention American Embryo Transfer Association*; 15:23-44.
153. Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. (2002). Clasificación fisiológica de condiciones anovulatorias en bovinos- V Simposio de Reproducción Animal- IRAC 2003. Traducido de una revisión de *Theriogenology*; 57:21-53.
154. Wiltbank MC, Haughian JM. (2003). GnRH: de la fisiología a la “Sincología”. V Simposio de Reproducción Animal. IRAC. Córdoba, Argentina.
155. Wiltbank MC, Niswender GD. (1992). Functional aspects of differentiation and degeneration of the Steroidogenic cells of corpus luteum in domestic ruminants. *Anim Reprod Sci*; 28:103-110.
156. Wiltbank MC, Shiao TF, Gergfelt DR, Ginther OJ. (1995). Prostaglandin F_{2α} receptors in the early bovine corpus luteum. *Biol Reprod*; 52:74-78.
157. Wolfenson D, Inbara G, Rotha Z, Kaimb M, Blocha A, Raw-Tal R. (2004). Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology*; 62:1042-1055.
158. Xiao S, Robertson DM, Findlay JK. (1992). Effects of activin and follicle-stimulating hormones (FSH)-suppressing protein/follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*; 131:1009-1016.
159. Xu Z, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Youngquist RS. (1995). Expression of FSH and LH receptor mRNA in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol Reprod*; 53:951-957.
160. Yamada K. (2005). Development of ovulation synchronization and Fixed Time Artificial Insemination in dairy cows. *J Reprod Dev*; 51: 177-186.