



7.28.05

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA.

**EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN EN EL POST-
PARTO TEMPRANO DE GnRH, PGF2-alfa, hCG y
ESTRADIOL SOBRE LA FERTILIDAD DE VACAS
HOLANDO.**

Por

Gonzalo Rafael, ALONSO de SOUZA.

Horacio René, SILVA FAGÚNDEZ.

FACULTAD DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACIÓN Y
BIBLIOTECA

**Tesis presentada como requisito
para obtener el título de
Ingeniero Agrónomo.**

**Montevideo
URUGUAY
1999**

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.

AGRADECIMIENTOS.

I. INTRODUCCIÓN.	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	3
A. CICLO ESTRAL.	3
A1. Metaestro.	3
A2. Diestro.	3
A3. Proestro.	4
A4. Estro.	4
B. REGULACIÓN ENDÓCRINA.	4
B1. Secreción hipotalámica de GnRH.	7
B1a. Factores que afectan la secreción hipotalámica de GnRH.	7
B1b. Regulación de la respuesta hipofisaria a la GnRH.	8
B2. Secreción de LH y FSH.	9
C. FOLICULOGENESIS.	9
C1. Ondas foliculares.	12
D. OVULACIÓN.	15
E. FORMACIÓN DEL CUERPO LÚTEO.	15
E1. Luteolisis.	16
F. ANESTRO POST-PARTO.	16
F1. Factores endócrinos.	17
F1a. Progesterona.	18
F1b. Estrógeno.	18
F1c. GnRH.	18
F1d. Prolactina.	18
F1e. FSH.	18
F1f. LH.	19
F2. Reinicio de la actividad folicular.	19
F3. Síntesis.	20

G. SINCRONIZACIÓN DE CELO E INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN.	--20
G1. Sincronización del estro por luteolisis.	-----21
G1a. Fenómenos hormonales que siguen a la inyección de prostaglandina F2-alfa.	-----24
G1b. Tipos de tratamientos con PGF-2alfa.	-----24
G2. Sincronización del estro mediante progestágenos.	-----25
G3. Sincronización mediante métodos combinados.	-----26
G3a. Prostaglandina- GnRH.	-----26
G3b. Prostaglandina-hCG o eCG.	-----27
G3c. Prostaglandina-Estradiol.	-----27
G3d. Progesterona -Estrógeno.	-----27
G3e. Progesterona-Prostaglandina.	-----29
G3f. Progestágeno-Prostaglandina-PMSG.	-----29
G3g. Progestágeno-Prostaglandina-GnRH.	-----29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	-----31
A. LOCALIZACIÓN.	-----31
B. ANIMALES UTILIZADOS.	-----31
C. MANEJO PREVIO AL TRATAMIENTO.	-----31
D. MANEJO AL INICIO DEL TRATAMIENTO.	-----32
E. TRATAMIENTOS.	-----34
E. ANALISIS ESTADISTICO.	-----35
IV. RESULTADOS.	-----37
V. DISCUSIÓN.	-----50
VI. CONCLUSIONES.	-----57
VII. RESUMEN.	-----60

VIII. SUMMARY.-----61

IX. BIBLIOGRAFÍA.-----62

PÁGINA DE APROBACIÓN.

Tesis aprobada por:

Director: Ing. Agr. Daniel Fernandez Abella.

Ing. Agr. Alvaro Simeone.

Ing. Agr. Danilo Bartaburu.

Fecha: 13 de setiembre de 1999

Autores: Gonzalo Rafael Alonso de Souza.

Horacio René Silva Fagúndez.

AGRADECIMIENTOS.

Al Ing. Agr. Diego Vercellino sin cuyo apoyo y colaboración no hubiese sido posible la realización de este trabajo.

Al Ing. Agr. Daniel Fernandez Abella por darnos la posibilidad de participar en este trabajo, también por el constante apoyo y dedicación durante el transcurso del mismo.

Al señor Nelson Villegas por su importante participación en el trabajo de campo y por los valiosos aportes realizados para la realización del experimento.

A la señora Mercedes Marizcurrena, propietaria del establecimiento "Santa María", por haber tenido la gentileza de permitir la realización del trabajo experimental en su tambo y la colaboración prestada a esta investigación.

A todo el personal del establecimiento "Santa María", en especial a los señores Cantalicio Quintana y Carlos Lauchef, por la colaboración y la buena voluntad puesta de manifiesto durante el trabajo de campo, aún cuando este interfiriera con su ajustada rutina de trabajo.

A la Dra. Clara Laroca, a el Dr. Agustín Landeira y a el Dr. Jorge Amaro por la información facilitada para la realización de este informe.

A el Técnico Agropecuario Wilfredo Ibañez por el invaluable apoyo prestado durante el análisis estadístico y procesamiento de datos.

A la Licenciada en Bioquímica Rosario Alonso, por los aportes y sugerencias realizados durante la elaboración de este trabajo.

A el personal de biblioteca de Facultad de Agronomía, en especial de la EFAS., por la buena voluntad puesta de manifiesto durante la realización de la revisión bibliográfica.

A las funcionarias de biblioteca de la Facultad de Veterinaria, por la colaboración y buena disposición prestada durante la búsqueda de material bibliográfico.

En especial a nuestras familias por todo el apoyo y comprensión brindados.

I. INTRODUCCION

La producción lechera es un sector de gran relevancia en el contexto socio-económico nacional. El carácter dinámico de este rubro ha motivado su creciente expansión en los últimos años (DIEA, 1998, Encuesta Julio-Agosto, 1997). Del total del área dedicada a las explotaciones agropecuarias, el 6,6% es utilizado por la lechería (1.000.000 has.); el número de productores que se ocupan de esta actividad es de 6033 (El País Agropecuario, 1996).

La producción láctea mantiene un sostenido crecimiento en los últimos 20 años, el volumen de producción alcanzado en el ejercicio 96- 97 fue de 1150 millones de litros (DIEA, 1998). La remisión a planta se compone de 1000 millones de litros, de los cuales 25% es destinado al consumo interno como leche fluída y el 75% restante es industrializado. Se registra un aumento en la proporción de leche destinada a la industria y, por lo tanto, una disminución del porcentaje destinado al consumo fluído, esto es avalado por el hecho de que en 1992 el consumo de leche fresca correspondía al 30% del volumen remitido y sólo el 70% restante se lo destinaba a la industria (Conaprole, 1992). Esta tendencia a la industrialización, es debida al aumento de la producción y al casi nulo incremento de la demanda interna, la cual prácticamente permanece estática en los últimos años. La demanda interna es limitada también para los productos industrializados, razón por la cuál la industria láctea nacional tiene un claro sesgo exportador, llegando a exportar por valor de 150 millones de dólares en 1997 (DIEA, 1998). La tendencia exportadora ha sido creciente, pues en 1991 las exportaciones de productos lácteos sumaron 60 millones de dólares (Conaprole, 1992).

El aumento de la producción global a la cual ya se ha hecho referencia, se debe a dos razones fundamentales: en menor medida la incorporación de nuevas áreas dedicadas a este rubro y fundamentalmente a el aumento de la productividad por hectárea (litros/ha.), el cual ha sido motivado por la incorporación de nueva tecnología (DIEA, 1998). En cuanto a este último aspecto, el factor que más impacto ha tenido sobre el aumento de la productividad, es la alimentación y es en este terreno donde se han logrado los mayores avances en cuanto a calidad y cantidad de alimento por vaca (El País Agropecuario, 1996). Comparativa- mente se han desarrollado menos y, por lo tanto, han tenido menos impacto sobre el aumento de producción otros factores como la sanidad, genética y reproducción.

El aumento de la productividad por hectárea depende del ajuste de todos los factores involucrados en el proceso de producción animal, de manera de hacer eficiente el proceso productivo; uno de esos factores, como ya se ha mencionado, es la reproducción, la cual es determinante directa de la eficiencia productiva del rodeo lechero (Dominguez, 1993; Thatcher, 1994). Los periodos interparto óptimos, para lograr el mejor resultado productivo y económico, oscila entre los 12 y 13 meses, según lo indican diversos trabajos de investigación. A nivel nacional esta información es

avalada por datos de Conaprole, que indican que aquellos establecimientos de mayor ingreso neto por hectárea (más de 150 dólares/ha.), son los que consiguen en sus rodeos intervalos parto-concepción promedio de 113 días (12,7 meses). A medida que el ingreso neto disminuye en los establecimientos, el intervalo interparto de sus rodeos se alarga (Conaprole, 1998, muestreo julio-agosto de 1997). La duración del intervalo interparto depende básicamente de la fertilidad y de la detección de celos, este último aspecto cobra mayor importancia con el creciente uso de la técnica de inseminación artificial registrado en las cuencas lecheras, siendo el 80% de las vacas servidas mediante este método en los estratos de mayor productividad (DIEA, 1998).

Si bien no hay mucha información disponible a nivel nacional acerca del intervalo interparto promedio del rodeo lechero, pues sólo se cuenta con una encuesta de 1988 (la cual es de relativa validez por su antigüedad y por un marcado efecto año provocado por la fuerte sequía ocurrida) donde se señala que la duración del intervalo interparto es de 18 meses en promedio para el período analizado; informaciones parciales permiten afirmar que dicho intervalo si bien no es tan prolongado, se aleja mucho del óptimo recomendado (Encuesta Nacional Conaprole 1988, Conaprole 1998, muestreo de 62 productores).

El anestro post-parto es el evento fisiológico que posee mayor incidencia en los bajos índices de fertilidad obtenidos, especialmente en vacas con alta producción de leche; en este sentido, se han desarrollado diversas técnicas hormonales para tratar de incrementar la fertilidad y mejorar la detección de celos, reduciendo de este modo el anestro post-parto. Actualmente existen diferentes métodos de sincronización de celos y en nuestro país se han realizado numerosos ensayos que involucran la utilización de hormonas gonadotrópicas, luteolíticas y luteotrópicas (GnRH, eCG, PGF2 α , Estradiol), llevados a cabo por diversas instituciones como Facultad de Agronomía, INIA y Facultad de Veterinaria.

En este trabajo se evalúan diferentes combinaciones de hormonas gonadotrópicas, luteolíticas y luteotrópicas, con el objetivo de levantar las principales restricciones que se presentan durante el post-parto temprano (anestro, celos cortos, fallas en la detección de celos) y conseguir significativas mejoras en los índices de fertilidad.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

La siguiente revisión bibliográfica contiene un breve resumen de los principios de fisiología reproductiva y de los principales métodos hormonales utilizados para el control de los procesos de la reproducción en bovinos. La misma se realizó con el fin de mejorar la comprensión e interpretación de los resultados obtenidos en el experimento.

A. CICLO ESTRAL

El ciclo estral es el período de tiempo comprendido entre dos celos consecutivos. Este período dura promedialmente 21 ± 4 días en vacas adultas y en vaquillonas puede durar 1 o 2 días menos.

El estro es la manifestación sexual de la actividad cíclica del ovario, y sólo durante este período ocurre la búsqueda y aceptación del macho por parte de la hembra. La duración del estro es 18 a 20 horas en vacas adultas (con un rango de 13 a 27 horas), en vaquillonas de 2 días dura 14 horas; la ovulación se produce 24 a 30 horas luego de comenzado el celo.

Todo el ciclo está regulado por mecanismos endócrinos y neuroendócrinos que determinan cambios morfológicos y de comportamiento (Hannsel y Convey, 1983). El ciclo estral está compuesto por 4 etapas denominadas: Metaestro, Diestro, Proestro y Estro. Dos de ellas corresponden a la fase Folicular (proestro y estro) y dos a la fase Luteal (metaestro y diestro).

1. Metaestro

Transcurre durante los primeros 3 a 5 días del ciclo y es el período subsiguiente a la ovulación. Es en esta fase donde se comienza a formar el Cuerpo Lúteo a partir del folículo colapsado en la ovulación. Durante esta fase el útero se prepara para recibir al embrión.

2. Diestro

Se produce cuando la vaca no está gestando y se extiende desde el día 5 al 17 del ciclo estral. Durante esta etapa el Cuerpo Lúteo (CL) funciona produciendo progesterona y el nivel de estrógeno se reduce (Fields *et al.*, 1992).

3. Proestro

Es la fase preparadora del estro, tiene una duración de 2 a 3 días (día 18 al 20 del ciclo). En este periodo los folículos preovulatorios aumentan de tamaño y comienzan a producir estrógeno (Zelevnik y Hillier, 1984). Se produce también una creciente vascularización y crecimiento celular de los genitales (Zemjanis, 1985).

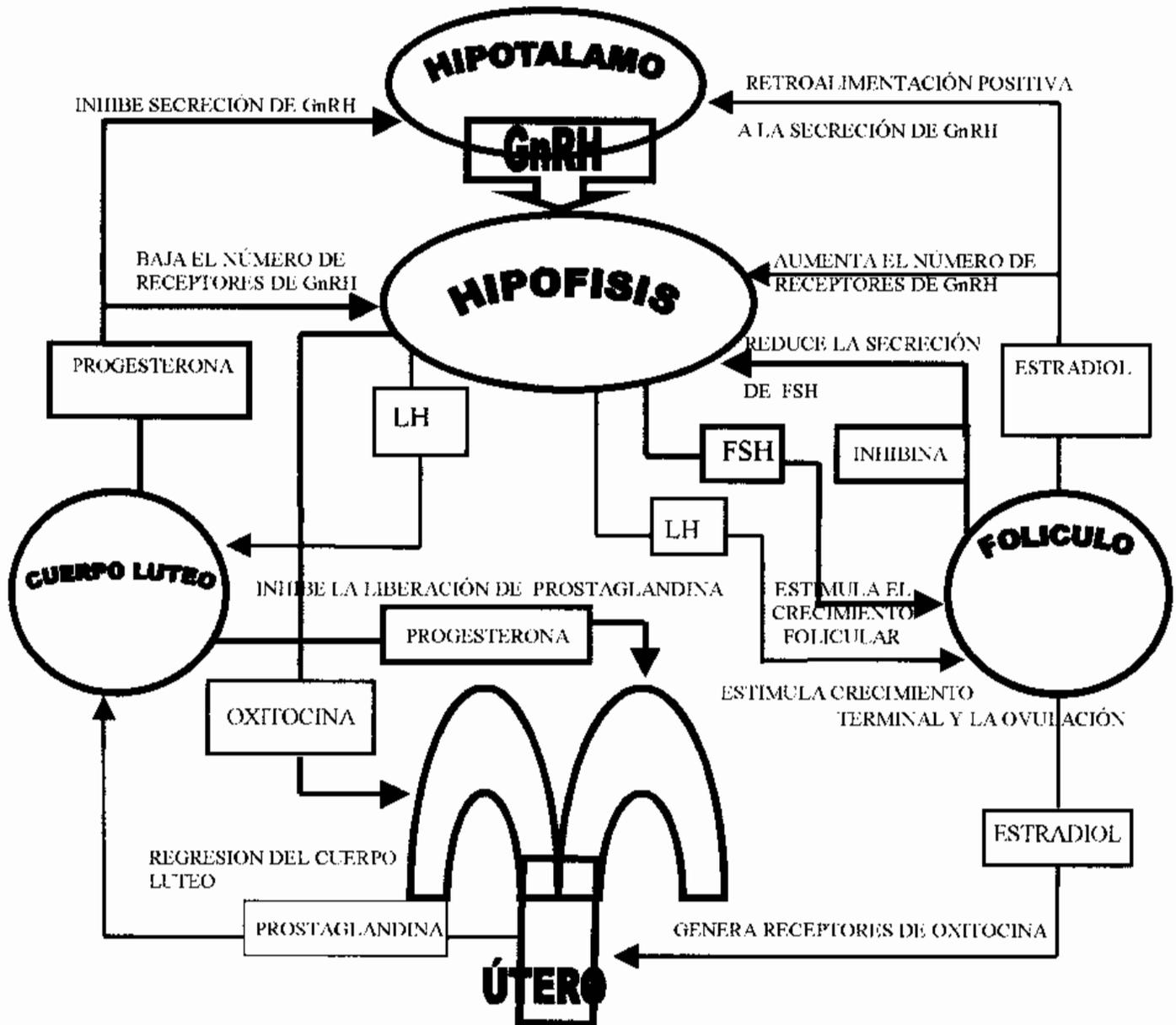
4. Estro

El estro es el período durante el cual la hembra acepta la cópula y dura 18 horas aproximadamente (Salisbury, Van Demark y Lodge, 1978; Castle y Watkins, 1988). Durante este período la vaca en celo presenta comportamiento y signos característicos que permiten su identificación, como por ejemplo: intranquilidad, permite ser montada y monta a otras vacas, la vulva aparece hinchada y no se visualizan las estrías (edema vulvar), hay hipertermia de la mucosa vestibular, dilatación del cuello uterino y se produce un cambio en la consistencia del mucus cervical que toma un aspecto parecido a la clara de huevo y cae por la vulva (Fernández Abella, 1995).

B. REGULACION ENDOCRINA

El ciclo estral está regulado por interacciones precisas que involucran distintos órganos y glándulas (Arthur *et al.*, 1991). Los constituyentes de este sistema de regulación son el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el útero. En la figura 1 se representan los principales órganos y procesos involucrados en los ciclos reproductivos.

Figura 1: Principales interacciones entre órganos, tejidos y hormonas involucradas en el control del ciclo estral en bovinos (Adaptado de Britt, 1992).



Todo el proceso está mediado por estímulos endócrinos y neuroendócrinos. Las principales hormonas, su origen y función se detallan en el cuadro 1.

Tabla 1: Descripción de las principales hormonas reproductivas (Adaptado del Compendium de reproducción animal de Intervet, 1996)

Nombre	Origen	Función principal	Estructura Química
GnRH	Hipotálamo	Estimula la liberación de LH y FSH por la hipófisis	Péptido 10 aminoácidos
FSH	Hipófisis anterior	Estimula el desarrollo y maduración de los folículos	Glicoproteína (más de 200 aminoácidos)
LH	Hipófisis anterior	Estimula la maduración de los folículos, induce la ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo en el ovario	Glicoproteína (más de 200 aminoácidos)
Estrógeno	Ovario (teca interna y granulosa del folículo)	Induce el comportamiento de celo. Estimula la descarga preovulatoria de LH	Eesteroide
Inhibina	Ovario (granulosa)	Inhibe la descarga hipofisaria de FSH (efecto de retroalimentación)	Péptido
Progesterona	Ovario (cuerpo lúteo)	Prepara el endometrio para la nidación de un embrión. Mantiene la gestación. Disminuye la liberación de GnRH impidiendo nuevas ovulaciones	Eesteroide
PGF2α	Útero	Regresión del cuerpo lúteo	Acido liposoluble

1. Secreción hipotalámica de GnRH

Es generalmente aceptado que existe un solo factor liberado por el hipotálamo (GnRH) para controlar la liberación de FSH y LH (Schmidt - Nielsen, 1990).

Esta hormona proteica se libera en pulsos, desde el hipotálamo hacia el sistema porta-hipofisario, teniendo variaciones en cuanto a la frecuencia de los pulsos que están determinadas por el momento del ciclo estral. La frecuencia de los pulsos de GnRH afectan el comienzo del ciclo estral en vacas de post-parto. Así, la frecuencia aumenta de 1 pulso cada 4 a 6 horas, enseguida de la parición, a un pulso por hora justo antes de la primera ovulación. Una vez producida la primera ovulación la frecuencia decrece nuevamente a un pulso cada 4 a 6 horas y se vuelve a incrementar ante la cercanía del próximo estro. No sólo los cambios en la frecuencia son necesarios para la ovulación, sino que también se requiere un aumento en la intensidad de liberación de GnRH. Es necesario, entonces, un gran pulso de GnRH que promoverá a su vez la liberación del pico preovulatorio de LH determinante de la ovulación (Cavestany, 1984; Britt, 1992).

a. Factores que afectan la secreción hipotalámica de GnRH

La secreción de GnRH está afectada por diferentes factores, entre ellos se encuentran: la concentración de estrógeno y progesterona, el efecto del amamantamiento, el nivel energético.

Estrógeno

Existen en el hipotálamo dos regiones bien definidas que responden liberando GnRH de manera diferente ante el estímulo producido por la concentración de estrógeno.

La primera región conocida como Centro Tónico, muestra mecanismos de retroalimentación negativa a los niveles de estrógeno (Schmidt - Nielsen, 1990). Es responsable de los niveles tónicos o basales de LH y FSH, por lo tanto, también de GnRH.

La otra región es conocida como Centro Preovulatorio y responde a niveles altos de estrógenos; es a estas concentraciones elevadas que presenta mecanismos de retroalimentación positiva. Este centro es responsable de una elevación súbita de GnRH, que a su vez provocará el pico preovulatorio de LH y FSH.

A niveles bajos de estrógeno permanece activo el centro tónico, pero si la concentración estrogénica aumenta hasta cierto umbral, se inhibe el centro tónico y se activa el centro preovulatorio, produciéndose mayores descargas de GnRH y, como

consecuencia, el pico preovulatorio de gonadotropinas (Reeves, 1988). Al aumentar los niveles de estrógeno circulante hasta un punto máximo crítico, se activa el centro cíclico hipotalámico, generando la liberación de un gran pico de GnRH (Cavestany, 1982).

No obstante, existe una refractariedad a los niveles altos de estrógenos durante los primeros 6 días post-parto. La receptividad normal al estrógeno no se restablece por lo menos hasta los 10 a 20 días post-parto. Es por esto, que los altos niveles de estrógeno liberados al parto suprimen la secreción hipotalámica (Cavestany, 1982).

Progesterona

La progesterona tiene un efecto depresor sobre la frecuencia de liberación de GnRH. Esto se hace evidente desde la ovulación hasta el fin de la fase de cuerpo lúteo, cuando los niveles de progesterona son altos, provocando que los pulsos de GnRH decaigan a 1 cada 4 a 6 horas (Britt, 1992).

Amamantamiento

Si bien la cantidad de GnRH a nivel hipotalámico no es afectada, el amamantamiento disminuye la frecuencia y amplitud de los pulsos liberados, produciendo un retardo en la iniciación de la actividad cíclica del ovario (Cavestany, 1982).

Nivel energético

El nivel energético negativo enlentece la tasa de liberación de GnRH (Gauthier *et al.*, 1984; Adams, 1992); en concordancia con esto Monget y Martin (1997), han reportado un descenso en la frecuencia de pulsos de GnRH en condiciones similares. La insulina y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) parecen ser los encargados de mediar entre el estatus metabólico y la neurosecreción de GnRH, actuando a nivel de la eminencia media.

b. Regulación de la respuesta hipofisaria a la GnRH

La hipófisis no siempre tiene la misma respuesta a la GnRH. Esta respuesta diferencial depende del número de receptores y de la sensibilidad de las células secretoras de gonadotropinas.

Número de receptores

Los receptores se encuentran en la membrana de las células de la pituitaria y son quienes ligan la GnRH. El número de estos receptores está regulado por el estrógeno

y la progesterona. El estrógeno aumenta la cantidad y la progesterona la disminuye (Britt, 1992).

Sensibilidad de las células secretoras

Independientemente del número de receptores, las células que segregan gonadotropinas muestran sensibilidad diferencial a la GnRH, posiblemente debido a cambios en la membrana de las células, donde el calcio juega un papel importante (Britt, 1992). De este modo, a igual cantidad y frecuencia de GnRH recibida por la hipófisis, la respuesta en liberación de gonadotropinas puede ser diferente, según el grado de sensibilidad de las células.

2. Secreción de LH y FSH

Tanto la liberación de LH como de FSH están reguladas por la GnRH. Sin embargo, los patrones de liberación de FSH y LH, por lo general, son diferentes.

La liberación de los pulsos de LH guarda una relación estrecha con los pulsos de GnRH, siendo cada pulso de LH precedido por un pulso de GnRH (Britt, 1992).

La cantidad de LH liberada, en respuesta a la GnRH, está influenciada por los niveles de estrógeno y progesterona (Clarke, 1987, citado por Cook, 1991). El aumento de estrógeno proveniente de los folículos preovulatorios sensibiliza la hipófisis a la acción de la GnRH, lo que resulta en una descarga de LH que producirá la ovulación (Cook *et al.*, 1991).

La respuesta en la liberación de FSH ante el estímulo de GnRH es afectada por una familia de hormonas proteicas: las inhibinas y las activinas; las primeras disminuyen la respuesta segregando menos FSH, mientras que las activinas estimulan la respuesta provocando mayor secreción de FSH (Hafez, 1996; Kaneko *et al.*, 1993 citado por Burke *et al.*, 1996).

C. FOLICULOGENESIS

Los folículos se forman en el ovario durante la etapa fetal, encontrándose su número potencial máximo sobre la gestación media (Adams, 1992).

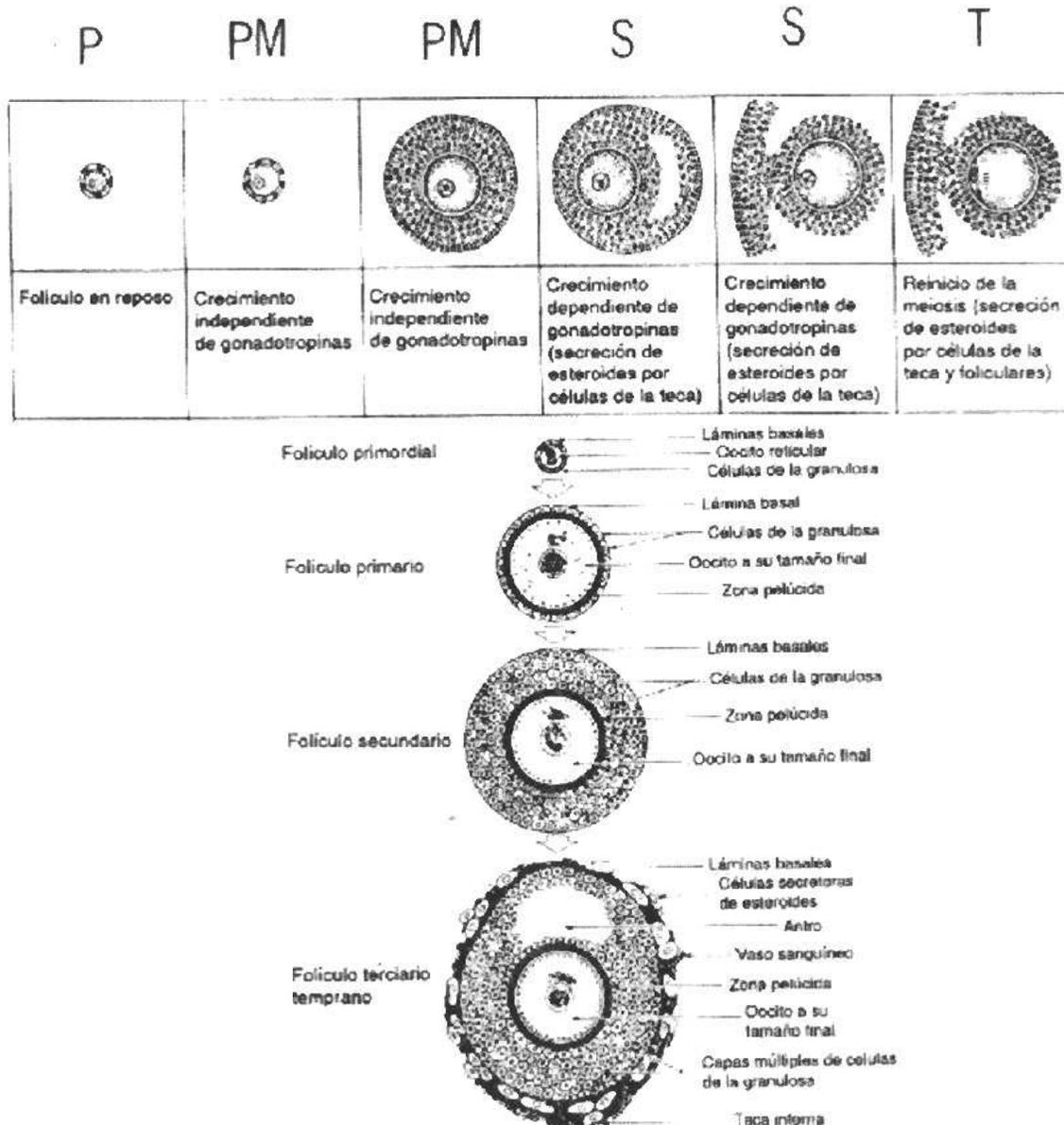
Los folículos se clasifican según su grado de desarrollo en: Primordiales (o inactivos), Primarios, Preantrales, Antrales y folículos de Graaf (ver figura 3).

El desarrollo folicular es un proceso dinámico y continuo, en el cual se da una estimulación de folículos primordiales que pasan a ser activos y una atresia continua,

tanto de folículos primordiales como activos (Britt, 1992; Hafez, 1996; Saumonde, 1991). La activación de los folículos no está aún debidamente esclarecida, no obstante, se sabe que está regulada por factores intraováricos (Hafez, 1996).

El pasaje de folículo primordial a folículo de Graaf, se realiza en un período de 80 a 100 días, de los cuales 40 días son necesarios para pasar de folículo antral a folículo de Graaf (Britt, 1992).

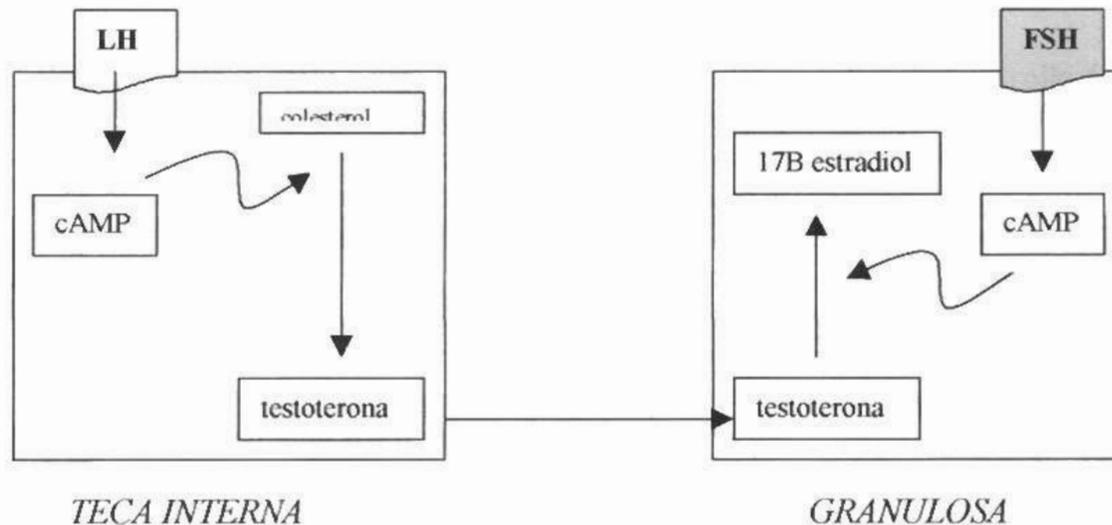
Figura 2: Clasificación de los folículos según su grado de desarrollo (Hafez, 1996)



A partir del estado antral los folículos desarrollan el máximo potencial para producir hormonas (estrógeno e inhibina). Es también en esta etapa cuando el folículo es más sensible a las gonadotropinas (Driancourt *et al.*, 1987; Scaramuzzi *et al.*, 1993).

El folículo antral tiene dos tipos diferentes de células que participan en la producción de estrógeno, una capa externa de células (células de la teca), que genera andrógenos a partir del colesterol y un grupo de células internas (células de la granulosa) que toman el andrógeno y lo transforman en estradiol. En la figura 4 se ilustra este proceso.

Figura 3: Representación esquemática del proceso bicelular de producción de estradiol en el folículo antral (Adaptado de Hafez, 1996).



Las células de la granulosa son también fuente de inhibina y, por lo tanto, generan retroalimentación negativa a nivel de la pituitaria, disminuyendo la secreción de FSH. Las células de la granulosa son estimuladas por la FSH (Mehmet Kuran, 1996), la cual estimula la capacidad de aromatización de estas células (pasaje de andrógeno a estrógeno). La LH estimula la formación de esteroides favoreciendo la ruptura de la cadena de colesterol, en ambos tipos de células (Fernández Abella, 1993).

Hay hormonas metabólicas que afectan el desarrollo folicular, como la Somatotropina (ST) y la Insulina. La somatotropina provoca en el folículo secreción de factor de crecimiento tipo insulínico, o somatomedina C (IGF-1) (Sunderland, 1992); también se ha visto que vacas melliceras tienen niveles altos de insulina en el fluido folicular y en la sangre, lo que ha asociado la insulina a altas tasas de ovulación (Britt, 1992).

La insulina se une a las células de la granulosa y aumentan los efectos de la FSH sobre estas (Britt, 1992). Esto es reafirmado por Monget y Martin (1997), quienes señalan que la insulina, los factores de crecimiento (IGF) y sus proteínas ligadoras interactúan con las gonadotropinas dentro del ovario incrementando el número de folículos que sobreviven a la atresia y que alcanzan el estado de desarrollo preovulatorio.

1. Ondas Foliculares

El desarrollo folicular se da en ondas que involucran grupos de hasta 15 folículos que crecen simultáneamente hasta alcanzar los 5 a 7 mm de diámetro, momento en el cual se diferencia un folículo dominante de entre el grupo, el cual suprimirá el crecimiento de los demás folículos (Macmillan, 1996; Adams, 1995; Savio, 1990).

Durante el ciclo estral pueden ocurrir dos o tres ondas de desarrollo folicular, cada una con su propio folículo dominante. Las ondas que transcurren durante la fase luteal serán anovulatorias, por lo cual el folículo dominante una vez desarrollado no será capaz de ovular y sufrirá atresia, debido a que la progesterona bloquea el surgimiento de la onda de LH, que provoca el estradiol producido por el folículo dominante (Hobson y Hansel, 1972, citados por Burke, 1996). En el transcurso de las ondas anovulatorias se distinguen 3 fases: una fase de crecimiento, una fase estática y una fase de regresión (Savio *et al.*, 1988). El diámetro máximo del folículo dominante es de aproximadamente 16 mm, mientras que los folículos subordinados crecen durante los primeros días de la onda y no llegan a superar los 8 mm (Adams, 1995).

El folículo dominante es el que produce mayor cantidad de estrógeno e inhibina; estas dos sustancias tienen un efecto supresivo sobre la secreción pituitaria de FSH mediante mecanismos de retroalimentación negativa, los bajos niveles de FSH provocados afectan el desarrollo de los folículos subordinados, pero no afectan al dominante, pues este tiene mayor sensibilidad y mayor capacidad de captar FSH (Adams, 1992; Britt, 1992), lo que le permite continuar su crecimiento.

La primera onda de desarrollo folicular comienza el día 0 del ciclo, alcanzando su máximo tamaño sobre el fin de la primera semana luego del celo (etapa de crecimiento), desde el día 6 al 12 hay una fase estática y una fase de regresión desde el día 12 en adelante (Savio, 1990). La segunda onda emerge el día 9 si el patrón es de 3 ondas, alcanzando el pico de diámetro en la segunda semana del ciclo. La tercera onda comienza aproximadamente el día 16 y este folículo dominante es el que madurará y ovulará. En un patrón de 2 ondas la primera surgirá el día 0 y la segunda, que será la ovulatoria, el día 10 (Hafez, 1996).



Se cree que el estrógeno producido por el folículo dominante de la primer onda estaría implicado en la regulación del transporte del huevo dentro del útero, a su vez, la producción de estrógeno del folículo dominante de la segunda onda puede ser importante en la creación de receptores de oxitocina en el útero para la posterior luteólisis (Tysseling *et al.*, 1998).

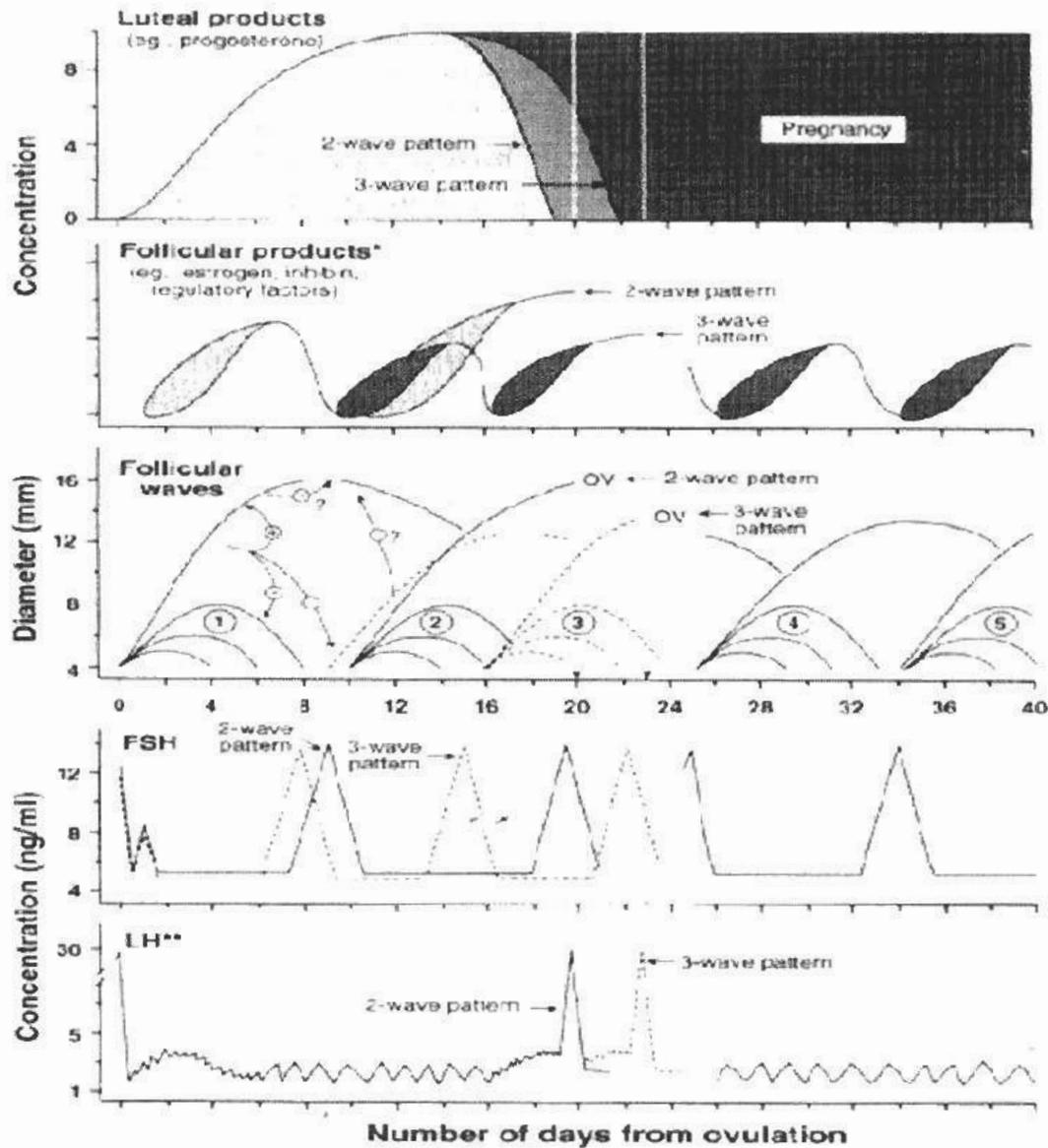
Se ha visto que cada onda folicular está precedida por una onda de FSH, esta onda comienza 2 días antes de la emergencia de la onda y muestra un pico 1 día antes del surgimiento de la onda folicular (Adams, 1992; Gong *et al.*, 1996). En el gráfico 1 se ilustran estos patrones hormonales.

La variación en el número de ondas es la que determina el largo del ciclo estral. Los de 2 ondas son más cortos que los de 3 ondas (Macmillan, 1996).

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

Figura 4: Patrones hormonales y de crecimiento folicular, registrados durante la ocurrencia de los ciclos estrales (Adams, 1992).



El gráfico superior muestra la concentración de los productos luteales en sangre, el siguiente la concentración de productos foliculares (estrógeno e inhibina), el tercer gráfico ilustra el crecimiento folicular mediante la evolución del diámetro de los folículos dominantes y subordinados, las líneas llenas corresponden a un ciclo de 2 ondas, las punteadas a uno de 3 ondas. El cuarto gráfico muestra la concentración de FSH durante el ciclo, nótese como se produce un pico antes de la emergencia de una onda de desarrollo folicular. El gráfico inferior ilustra el patrón de concentración de LH durante el ciclo, donde se notan claramente dos picos coincidentes con cada ovulación.

D. OVULACIÓN

Previo a la ovulación se requieren niveles altos de estrógeno y bajos de progesterona, para que se produzca el pico de LH, que produce la ruptura del folículo (Britt, 1992).

Los niveles bajos de progesterona son debidos a la lisis del cuerpo lúteo, mientras que los niveles altos de estradiol se deben al crecimiento activo del folículo de Graaf (Ireland *et al.*, 1984; citados por González de Bulnes y Moreno, 1998).

El estrógeno actúa tanto a nivel hipotálamico como hipofisario aumentando la sensibilidad a la GnRH, por esta misma causa la hipófisis se encuentra en un grado alto de respuesta hacia el final del ciclo.

Como efecto de la retroalimentación positiva de estradiol se produce el pico de secreción de gonadotropinas (LH, FSH) (Hafez, 1996). Luego de ocurrido este pico hay un cambio en la función endócrina del folículo caracterizado por una caída brusca de la producción de Estradiol y un aumento gradual de la producción de progesterona (Hafez, 1996).

Adicionalmente, ocurren una serie de cambios morfológicos en las células del folículo; hay una respuesta inflamatoria, la membrana basal se deteriora por la acción de enzimas proteolíticas y proteasas que digieren la pared del folículo (González de Bulnes, Moreno y López, 1998). El folículo es infiltrado por células sanguíneas y la membrana se vuelve porosa. Todos estos eventos terminan con la ruptura del folículo y la liberación del oocito, lo cual ocurre aproximadamente 28 horas después del pico de LH (Hafez, 1996; Britt, 1992).

E. FORMACION Y FUNCION DEL CUERPO LUTEO

El cuerpo lúteo está formado por dos tipos de células: Grandes y Pequeñas. Las grandes derivan en su mayoría de las células de la granulosa y las chicas de las células de la teca interna. En general, estas células son de mayor tamaño que las células originales de las cuales derivan (Britt, 1992).

Las células se diferencian en cuanto a: tamaño, morfología y respuesta a estímulos hormonales. En referencia a este último aspecto, las células chicas responden al estímulo de LH segregando progesterona, mientras que las células grandes presentan mayor respuesta a la prostaglandina PGE1 y prostaglandina F2 α (Niswender *et al.*, 1994, citados por Mehmet Kuran, 1996).

La secreción de progesterona se incrementa hasta el medio ciclo y a partir de ese momento permanece en una fase estática, que se continúa hasta el comienzo de la luteolisis (día 16 aproximadamente) en que empieza a decrecer (Hafez, 1996).

El cuerpo lúteo es insensible a tratamientos tanto que estimulen como que supriman la secreción de progesterona hasta el tercer día del ciclo (Britt, 1997).

Niveles altos de progesterona afectan positivamente la fertilidad de estros subsiguientes (Rosenberg *et al.*, 1990).

1. Luteolisis

El proceso de luteolisis implica interacciones entre folículos ováricos, cuerpos lúteos y útero. El útero segrega prostaglandina en respuesta a pulsos de oxitocina enviados desde el ovario y la pituitaria. El grado de respuesta al estímulo de la oxitocina dependerá del número de receptores que existan en el útero (Mirando *et al.*, 1993) los cuales podrían ser inducidos por los estrógenos de los folículos del medio ciclo. La cantidad de receptores está afectada negativamente por la progesterona, es decir que su número se incrementa a medida que cae el nivel de esta hormona hacia los últimos días del ciclo (Laming y Mann, 1995). Entonces, la oxitocina produce secreción de prostaglandina, esta a su vez estimula en el cuerpo lúteo la secreción de más oxitocina, en un proceso de cascada que termina con la lisis del cuerpo lúteo por parte de la prostaglandina (Britt, 1997; Hafez, 1996; Adams, 1993; Tysseling *et al.*, 1998).

La luteolisis espontánea se da alrededor del día 16 a 18 del ciclo (Laming y Mann, 1995). En el caso que ocurra preñez, la luteolisis es inhibida por proteínas producidas por el embrión que actúan a nivel del útero atenuando la liberación de prostaglandina (Mac Cracken *et al.*, 1984). La más conocida de estas proteínas es la proteína trofoblástica bovina (bTP1). La producción de bTP1 se da aproximadamente al décimo quinto día luego de haberse formado el embrión (Britt, 1997) y a partir de ese momento comienza a disminuir rápidamente el número de receptores endometriales de oxitocina y la habilidad de la oxitocina para inducir la liberación de $\text{PGF}_2\alpha$ (Tysseling *et al.*, 1998).

F. ANESTRO POST-PARTO

Se denomina anestro post-parto al período en el que la vaca no muestra ciclo estral (Zemjanis, Fahning y Schultz, 1969).

La duración del anestro post-parto es de 30 a 60 días pero puede prolongarse hasta 100 días; se requiere un período mínimo para la preparación del ovario, del útero y

demás órganos reproductores, así como del sistema endócrino, antes de la reanudación del nuevo ciclo estral para una futura gestación (Hafez, 1996; Madej, 1983).

La involución uterina implica un retorno al estado no gestante normal, el proceso completo de involución incluye: a) regreso del útero al área pélvica, b) el regreso al tamaño normal, c) recuperación del tono uterino normal (Bearden y Fuquay, 1982).

El tiempo requerido para la involución es de 40 a 45 días (Noakes, 1984, citado por Larson y Ball, 1992), conjuntamente se observa el reinicio de la actividad ovárica y las ondas foliculares, las cuales comienzan aproximadamente a los 7 o 9 días post-parto, la primera ovulación se da por los 15 o 18 días y, por lo general, ocurre sin síntomas de celo (Labhsetwar, 1964). Generalmente este primer ciclo es de menor duración (< 21 días). El siguiente celo se producirá a los 30 a 35 días luego del parto y los siguientes a los 50 y 71 días de lactación.

Como se ha dicho la duración del anestro es variable. Muchos son los factores que afectan esta variación, por ejemplo: raza, línea de sangre, nivel nutricional, succión, producción láctea, frecuencia de ordeño y potencial para producción de leche (Hafez, 1996, Larson *et al.*, 1984). La velocidad de involución uterina también afecta la duración del anestro, de igual manera lo hacen la tasa de desarrollo de los folículos ováricos, las concentraciones hipofisarias y periféricas de gonadotropinas, los valores periféricos de estrógenos y progesterona, el reinicio de la secreción episódica. También son de importancia los cambios en el peso corporal y en la ingestión de energía (Stevenson, 1989, Britt, 1992).

El balance energético durante los primeros 20 días de lactación resulta importante para el reinicio de la actividad ovárica. La buena alimentación y el manejo diario apropiado posibilitan el desarrollo de folículos ovulables y viables entre los 14 y 21 días post-parto (Britt, 1997).

1. Factores endócrinos

El equilibrio hormonal debe ser restablecido para reanudar la ciclicidad, pues los niveles hormonales establecidos para mantener la gestación y provocar el parto se reajustan gradualmente (Cavestany, 1982). Adicionalmente a esto, la principal función de la pituitaria, luego del parto, es estimular la síntesis y secreción de leche en la glándula mamaria, por lo que el balance hormonal está más orientado a la producción láctea que a la función reproductiva (Hunter, 1982).

a. Progesterona

Los niveles altos de progesterona son necesarios para mantener la preñez. La secreción continua de esta hormona suprime el estro y también la ovulación; después del parto la concentración decrece y es posible reiniciar el estro y la ovulación (Shearer *et al.*, 1972).

b. Estrógeno

Los altos niveles de estrógenos liberados al comienzo del parto suprimen la secreción hipotalámica de GnRH y disminuyen la receptividad hipofisaria a dicha hormona, debido a un estado de refractariedad que puede mantenerse por los siguientes 6 días post-parto y que no permite una receptividad total a la GnRH hasta los 20 días posteriores al parto (Cavestany, 1982).

c. GnRH

La GnRH es liberada de una manera insuficiente durante los primeros días después del parto. En el post-parto temprano existen una serie de factores que afectan negativamente la secreción de GnRH y la sensibilidad hipofisaria a esta hormona. Esto determina que los pulsos de gonadotropinas (sobre todo LH) no sean suficientes para estimular el desarrollo folicular y la actividad ovárica normal.

d. Prolactina

La secreción de esta hormona es elevada en las primeras etapas del post-parto. La secreción de prolactina es estimulada por la succión, altas frecuencias de amamantamiento y altos niveles de producción de leche determinan concentraciones elevadas de esta hormona (Hafez, 1996).

La prolactina tiene un efecto depresor sobre la liberación de GnRH (Hunter, 1982); también evita la retroalimentación positiva del estradiol impidiendo, de esta manera, la descarga preovulatoria de LH (Kann *et al.*, 1977, citados por Hafez, 1996).

d. FSH

En los primeros 20 días después del parto el contenido hipofisario de FSH disminuye, debido a la activa liberación de esta hormona a la circulación general. Se piensa que la demora en el comienzo de la actividad cíclica normal no se relaciona a carencias de FSH (Webb *et al.*, 1980, citados por Cavestany, 1982).

e. LH

A diferencia de la FSH, la LH tiene bajo nivel hipofisario el día siguiente al parto y aumenta linealmente en los 10 a 20 días posteriores. Los niveles circulantes aumentan, aunque el aumento hipofisario es mayor al detectado en la circulación. En base a esto, se puede decir que los bajos niveles circulantes de LH no son debidos a deficiencias hipofisarias, sino que estarían relacionados con la liberación hipotalámica insuficiente de GnRH y/o a los mecanismos de retroalimentación responsables de esa liberación (Cavestany, 1982).

En general, hay alta correlación entre días post-parto y: a) intervalo al primer pico de LH, b) intervalo entre picos, c) magnitud de valores máximos alcanzados por cada pico de LH (Ginther *et al.*, 1996).

2. Reinicio de la actividad folicular

La actividad ovárica en el post-parto temprano se da siguiendo el patrón de ondas foliculares de crecimiento continuo, anteriormente descrito (Adams, 1993), como ya se ha mencionado han sido registradas ondas de desarrollo folicular a los 7-8 días post-parto, que determinaron una ovulación en el día 15 a 18 después del parto, por lo general sin síntomas de celo.

Las primeras fases de desarrollo folicular se realizan en el ovario con cierta independencia de la actividad tónica del eje hipotálamo-hipófisis, el cual no es plenamente funcional hasta las 2-3 semanas de lactación (Driancourt, 1987).

Puede darse el caso de que el folículo esté preparado para ovular y la ovulación no se produzca debido a una insuficiente pulsatilidad de LH, por las razones anteriormente expuestas (Peters y Laming, 1986). Normalmente, en vacas ciclando los folículos que no llegan a ovular, se atresian, pero como se trata del primer ciclo post-parto la atresia puede no producirse debido a la ausencia de niveles suficientemente elevados de progesterona en sangre. Al no atresiarse el folículo continúa su crecimiento, incrementando la presión ejercida por el líquido folicular sobre la teca interna y la granulosa, donde se encuentran los receptores de LH; esto provoca una insensibilidad en la respuesta a dicha hormona e impide la luteinización del folículo, aún cuando los niveles de GnRH y LH alcanzados con posterioridad sean suficientemente elevados como para provocar la ovulación en vacas ya cíclicas (Britt, 1997).

Los folículos que fallan al ovular, por falta de una oleada preovulatoria de LH, inhiben el crecimiento de nuevos folículos y la vaca entra entonces en un periodo de anestro. Esta falla parcial del hipotálamo y/o de la hipófisis en la liberación de LH es la causa de la patología del quiste ovárico, que podría relacionarse con el estrés al comienzo de la lactación y elevados niveles de prolactina en vacas de alta producción.

Esta patología afecta un número importante de vacas sobre todo de alta producción, en un 60% de los casos los quistes se resuelven de manera espontánea sin tratamientos, pero de cualquier manera significa un retraso de 15 a 20 días en el reinicio de la ciclicidad (Sali, 1982; Arthur *et al.*, 1991).

3. Síntesis

Periodos de anestro prolongados determinan ineficiencias reproductivas que se traducen en pérdidas económicas por menor producción.

Intervalos entre partos de 12 a 13 meses han sido sugeridos como óptimos para tener máxima eficiencia reproductiva y productiva; esto determina que el anestro no deba superar los 50 días post-parto, para que la concepción se de a los 85-90 días, teniendo en cuenta una tasa de concepción del 50% (es decir que una vaca debe ser inseminada 2 veces para que quede preñada).

G. SINCRONIZACION DE CELO E INDUCCION DE LA OVULACION

Bajo este título se engloban todos aquellos tratamientos hormonales destinados a regular el ciclo estral, con el objetivo final de mejorar la productividad y/o aspectos de manejo. Mediante la aplicación de estos tratamientos se busca: programar indirectamente el momento del parto, producir leche en determinados periodos estacionales, simplificar el manejo reproductivo, ahorrar tiempo y personal para la inseminación artificial, también se lo utiliza con fines terapéuticos, para el tratamiento de los celos silenciosos, o la aciclia post-parto en el caso de la sincronización con progestágenos (Sali, 1982).

Las características deseadas de un programa de regulación del ciclo estral debería incluir: altas tasas de respuesta a los tratamientos iniciados en cualquier etapa del ciclo, alta sincronización en el momento del estro y en el momento de la ovulación, fertilidad normal en la ovulación regulada y retorno normal al estro, al igual que buena fertilidad en servicios sucesivos (Larson y Ball, 1992).

Estos objetivos no son fáciles de lograr, ya que se trata de regular un sistema complejo como lo es el sistema reproductivo de la hembra, fingiendo señales endógenas mediante la administración de hormonas exógenas, donde la pulsatilidad y la concentración exacta juegan un papel fundamental, además, las dosis exógenas ejercen retroalimentaciones endógenas normales, lo que puede alterar los equilibrios hormonales o causar desórdenes en la regulación de receptores u otros efectos indeseables en los procesos biológicos de la reproducción (Britt, 1997).

Con el fin de alcanzar los objetivos antes mencionados, se han realizado y se siguen realizando numerosas investigaciones. Desde hace varios años se han puesto a punto técnicas de sincronización de celo y de la ovulación, basadas en los cambios hormonales existentes en el ciclo estral; logrando simular el cuerpo lúteo (progestágenos) o provocando la lisis del mismo (Fernández Abella, 1995).

Los métodos utilizados actualmente tienen como principal cometido que en todos los animales puestos bajo tratamiento, al finalizar el mismo, no se encuentre un cuerpo lúteo funcional sobre los ovarios (Sali, 1982). Se puede hacer una división de los diferentes métodos en 3 grupos: 1) empleo de $\text{PGF2}\alpha$ (o sus derivados sintéticos) con el propósito de inducir la lisis del cuerpo lúteo funcionante. 2) Administración de esteroides con acción de progesterona similar con el propósito de impedir el estro, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo, 3) métodos mixtos basados en la administración por breve tiempo de progestágenos combinados con una sustancia de acción luteolítica y eventualmente también de hormonas FSH.

1. Sincronización del estro por luteolisis

Se utiliza la acción específica de la prostaglandina cuya acción luteolítica se realiza entre las 24 y 36 horas después de la inoculación (Macmillan, 1982; Jöchle 1993; Odde, 1990). La eficiencia del tratamiento es limitada a la vaca con presencia de cuerpo lúteo activo entre el día 5 y 16 del ciclo estral, ya que el cuerpo lúteo en desarrollo (día 1-4) no responde a la acción de la prostaglandina por falta de receptores (Rowson, 1972 citado por Sali, 1982; Fernández Abella, 1995).

La acción luteolítica puede también llevarse a cabo por análogos sintéticos de la $\text{PGF2}\alpha$ como el cloprostenol, luprostiol o tiaprost que, en general, poseen menor tasa de descomposición metabólica (Larson y Ball, 1992).

Se ha visto que la aplicación de prostaglandina $\text{F2}\alpha$ ($\text{PGF2}\alpha$) o sus análogos inician la luteolisis de igual manera que en el ciclo natural (Cavestany, 1988).

De todas formas, los resultados de los tratamientos con $\text{PGF2}\alpha$ han sido inconsistentes, especialmente en vacas en lactancia, dando mejores resultados en vaquillonas (Macmillan, Curnov, Morris, 1978). También se ha reportado que los tratamientos con $\text{PGF2}\alpha$ han dado mejores resultados si son combinados con la detección de celo (Ball y Jackson, 1984).

La prostaglandina $\text{F2}\alpha$ es más efectiva que la prostaglandina E1 para inducir luteolisis según lo confirmaron Dedov y Comaev (1988), citados por Larson y Ball (1992). En general, la $\text{PGF2}\alpha$ no es más efectiva como luteolítico que sus análogos,

pudiendo incluso darse el caso contrario (El Menufy y Abdou, 1989, citados por Larson y Ball, 1992), esto podría deberse a la menor tasa de descomposición metabólica.

El nivel funcional del cuerpo lúteo precedente a la inducción de la ovulación afecta el inicio del estro, es decir que la presencia de un cuerpo lúteo desarrollado puede retrasar el inicio del estro. Richards *et al.* (1990), citados por Larson y Ball (1992), concluyeron que esto podría explicar la variabilidad en el comienzo del estro después de la sincronización con prostaglandina, sobre todo cuando los animales no han sido seleccionados en base al tamaño del cuerpo lúteo. Si el tamaño del cuerpo lúteo es pequeño, la sincronización será menor (Novaes *et al.*, 1995).

El tiempo entre inyecciones de prostaglandinas sucesivas puede afectar el nivel de progesterona previo a la ovulación. Se ha visto que exposiciones prolongadas a niveles altos de progesterona, previos a la inseminación, pueden disminuir la fertilidad, pero períodos demasiado cortos también pueden ser perjudiciales (Gaywu, Ducker, Pupe, Sanders, Wilson, 1990). Rosenberg *et al.* (1991), encontraron que las concentraciones altas de progesterona, determinadas por períodos largos entre inyecciones de PGF 2α , fueron asociados con el retraso en el inicio del estro.

Los intervalos cortos entre inyecciones de prostaglandina, pueden significar que el nivel acumulativo de progesterona caiga hasta alcanzar niveles compatibles con una buena fertilidad. También encontraron que las vacas primíparas tienen mayor concentración de progesterona que las multiparas y, por lo tanto, mayor intervalo al estro después de la segunda inyección de PGF 2α ; no obstante, las vacas multiparas mostraron estro en mayor porcentaje (84%) si los niveles de progesterona eran elevados (mayor a 3,1 ng/ml) al momento de la última inyección de PGF 2α , que aquellas vacas con bajo nivel de progesterona, de las cuales sólo el 56% manifestaron estro. Estos autores no encontraron la misma relación entre vacas primíparas o con implante de progesterona.

La respuesta al tratamiento con prostaglandina depende del momento del ciclo estral en que se aplique. Tanbac y Hann hallaron que los animales tratados con una inyección de PGF 2α hacia la mitad del ciclo (día 11), mostraron celo más tardíamente y en un período de tiempo más disperso que aquellos animales tratados en los primeros o en los últimos días de la fase luteal (días 7 y 15 del ciclo estral respectivamente). El estro ocurrió sobre un período de 48 horas post-inyección en aquellas vacas tratadas el día 7, a diferencia de aquellos grupos tratados los días 11 y 15 del ciclo, en los que el inicio del estro se constató sobre las 72 horas.

El momento de la aplicación de la PGF 2α determinará la procedencia del folículo ovulatorio, pues el folículo dominante, al momento de la luteolisis, será el que ovule. Si la PGF 2α es aplicada del día 5 al 8 del ciclo, el folículo dominante de la primer

onda de desarrollo folicular será el que ovule; en aquellos animales tratados en el día 12 del ciclo estral, ovulará el folículo dominante de la segunda onda (Kastelic *et al.*, 1990).

El nivel de progesterona, previo a la ovulación, puede también afectar la fertilidad *per se*. Según Folman *et al.* (1990), las vacas con niveles de progesterona más altos durante la fase luteal previa a la inseminación artificial, tuvieron tasas de concepción más altas que aquellas con bajos niveles de progesterona; también hubo mayor concepción dentro de un período de 30 días en aquellos programas con 14 días de separación entre inyecciones de PGF2 α y en los grupos con implante de progesterona previos al tratamiento con prostaglandina, lo que indica que se incrementa la fertilidad con mayores niveles de progesterona previo al tratamiento.

Otras investigaciones añaden al uso de PGF2 α , la detección de celo y la determinación de la existencia de cuerpo lúteo y su estado funcional al momento de iniciar el tratamiento. Phatak y Witimore (1991), citados por Larson y Ball (1992), consiguieron reducir el número de días sin preñez de 120 a 98, en un rodeo de 700 vacas, utilizando el método de una inyección simple de PGF2 α a aquellas vacas con presencia de cuerpo lúteo detectado mediante palpación rectal, con la posterior inseminación artificial de aquellas vacas detectadas en celo tres días después del tratamiento.

Slening (1992), obtuvo resultados favorables luego de la inyección de PGF2 α a vacas con cuerpo lúteo presente, pero con una inseminación doble a las 72 y 96 horas logrando, así, sustituir la observación de celo sin alterar la performance reproductiva.

Para determinar el momento en que se debe aplicar la PGF2 α , es necesario la determinación de un cuerpo lúteo susceptible a la luteolisis (Larson y Ball, 1992).

La eficacia de los métodos de determinación de la presencia de cuerpo lúteo es variable. Los métodos de palpación, si bien son más prácticos, son menos certeros que aquellos que determinan concentración de progesterona en leche o en sangre (Cavestany, 1982; Archbald, 1992).

Una de las causas que afectan la tasa de concepción, en los programas de inseminación a tiempo fijo, luego del uso de prostaglandina, es la inseminación de aquellos animales que aún no han ovulado, según lo demostró Zaoral en 1988, midiendo la concentración de progesterona en leche previo al tratamiento luteolítico.

La prostaglandina puede tener efecto sobre la longitud del ciclo. Cárdenas *et al.* (1990), hallaron que el ciclo podía alargarse luego del tratamiento con PGF2 α . De forma similar, Morbeck *et al.* (1991), encontraron que los ciclos subsiguientes a la doble inyección de PGF2 α se alargaban en comparación con un grupo de ovulación

espontánea y el efecto se acentuaba si los niveles de progesterona previos a la primera inyección de PGF2 α superaba 1 ng/ml. Según Morell *et al.* (1991), podría darse una aparente disminución de la fertilidad después de repetidas sincronizaciones de estro con cloprostenol.

La dificultad de detectar la presencia de cuerpo lúteo y la variabilidad entre animales, en el momento de la ovulación, ha llevado a la necesidad de combinar los tratamientos de prostaglandina con otras hormonas, de manera de lograr una sincronización más precisa del estro.

a. Fenómenos hormonales que siguen a la inyección de prostaglandina

La prostaglandina aplicada en la fase luteínica promueve la luteolisis y una rápida caída de la progesteronemia a niveles basales; el folículo (dominante) se desarrolla hasta llegar a folículo terciario, aumenta el 17 beta estradiol en sangre y sobreviene el pico preovulatorio de LH, tal como sucede con los animales no tratados durante la fase folicular y celo (Lovis *et al.*, 1973, citados por Sali, 1982).

b. Tipos de tratamientos con prostaglandinas

Uno de los métodos utilizados para la sincronización de celo con PGF2 α , es la aplicación de una inyección simple a vacas con más de 40 a 50 días post-parto, las cuales manifestarán celo 2 a 5 días después de inyectadas si es que se encuentra entre los días 8 al 18 del ciclo estral, las vacas que manifiesten celo son inseminadas; estos son los llamados "programas de lunes a la mañana" (Britt, 1997), pues las vacas son inyectadas este día y manifiestan celo entre el miércoles y el sábado inmediatos a la aplicación.

Otro método aplicando una sola dosis de PGF2 α es el siguiente: se levanta celo durante 5 o 6 días, luego se administra 1 dosis de PGF2 α , logrando que las vacas se alcen a partir del día 8 hasta el día 11. El día 7 manifiestan celo aquellas vacas que al momento del tratamiento estaban en el día 21 del ciclo, de esta forma, se realiza la inseminación en 11 días (Fernández Abella, 1995).

Cuando no se cuenta con tiempo previo ni posterior para organizar el trabajo, se recomienda una dosis masiva de PGF2 α e inseminar durante 5 días, así se puede inseminar el 75% de los animales (Fernández Abella, 1995).

El método más común para sincronizar estro es la aplicación de 2 dosis de PGF2 α con 11 a 14 días de separación. La secuencia de 11 días parece ser mejor para vaquillonas, mientras que la de 14 días parece funcionar mejor para vacas de alta

producción. Las vacas en anestro parecen responder pobremente a la doble inyección de PGF2 α (Britt, 1997).

Otro sistema que utiliza la doble aplicación de PGF2 α , consiste en inyectar dosis separadas 9 a 11 días entre sí. Las vacas se tratan en su totalidad, aún aquellas que no tendrán respuesta por encontrarse en los días 0 a 4 y 21 del ciclo estral. En la segunda inyección, todos los animales se encontrarán por encima del día 5 del ciclo. De esta forma, se logra sincronizar los celos entre tres o cuatro días (Fernández Abella, 1995).

2. Sincronización del estro mediante progestágenos

Se utiliza la particular propiedad de esta sustancia para bloquear la liberación hipofisaria pre-ovulatoria de LH (Odde, 1990; Jöchle, 1993). Si el tratamiento se inicia en la fase folicular, los folículos presentes no evolucionan, si por el contrario se inicia en la fase luteínica, el cuerpo lúteo disminuye espontáneamente y será inhibido el desarrollo del nuevo cuerpo lúteo.

Para asegurar el éxito de la sincronización progestágena se debe mantener la medicación por un periodo de tiempo que puede llegar a los 16 días, que es la duración máxima normal del cuerpo lúteo. A la interrupción del tratamiento todos los animales se hallarán en la fase folicular.

Los progestágenos pueden administrarse por vía intramuscular diaria, oral diaria, intravaginal, o sub-cutánea (los 2 primeros métodos no se utilizan por ser muy poco prácticos).

Una sincronización completa de 16 días determina una disminución en la fertilidad, si la inseminación es practicada en el celo de sincronización; por lo que se realizan tratamientos en general más cortos, de 11 a 12 días, aunque esto disminuya el grado de sincronización (Sali, 1982; Hansel y Ball, 1979; Peters, 1985; citados por Larson y Ball, 1992).

Los reportes sobre el uso de progestágenos solos son limitados, especialmente en ganado lechero.

El dispositivo intra vaginal CIDR-B tiene la capacidad de elevar rápidamente las concentraciones de progesterona en plasma, dentro de las 6 horas desde su aplicación (Macmillan y Asher, 1990).

Los tratamientos cortos son menos precisos en la sincronía del estro y requieren del agregado de agentes luteolíticos para mejorar la sincronización. Los tratamientos más largos promueven una sincronización más precisa, pero resulta en

estros menos fértiles, lo cual redundará en bajas tasas de preñez; pues el patrón de ondas foliculares se altera y un folículo grande persiste por un período de tiempo excesivo, lo cual determina la ovulación de un folículo viejo (Odde, 1990; Patterson, *et al.*, 1989; Gyawu y Pope, 1983; Peters, 1986; Macmillan y Asher, 1990; citados por Larson y Ball, 1992. Otra causa de la baja fertilidad de los tratamientos de larga duración puede ser la reducida locomoción o transporte del espermatozoides dentro del oviducto (Odde, 1990).

Una exposición prolongada a los progestágenos (exógenos más endógenos) es perjudicial para la fertilidad, por eso es importante tener en cuenta el momento del ciclo estral en el cual se inicia el tratamiento con progesterona, pues si el tratamiento se inicia después del día 12 hay un efecto aditivo de la progesterona endógena, generada por el cuerpo lúteo funcional hasta ese momento, más la progesterona exógena proveniente del tratamiento (Gyawu y Pope, 1983). Por esto los tratamientos iniciados más temprano en el ciclo tienen mejores resultados en cuanto a la fertilidad lograda.

Macmillan y Ashe (1990), hacen referencia a la utilidad de los progestágenos para iniciar la ciclicidad ovárica en vaquillonas prepuberales y vacas anovulatorias en post-parto.

3. Sincronización mediante métodos combinados

a. Prostaglandina - GnRH

Desde hace años, mediante la combinación de GnRH a los tratamientos con PGF 2α , se ha tratado de mejorar la sincronía del estro, buscando estrechar el intervalo en el cual la ovulación puede ocurrir (Pursley, *et al.*, 1995).

Actualmente, mediante esta combinación se busca generar una onda homogénea de desarrollo folicular; la aplicación de GnRH promueve la ovulación de un folículo maduro y produce el surgimiento de una nueva onda folicular, como lo demostraron Schmitt *et al.* (1996). Este mismo autor logró mejorar la tasa de preñez y sincronización en programas de inseminación a tiempo fijo, mediante combinaciones de GnRH-- PGF 2α -- GnRH. La primera GnRH aplicada en el medio ciclo (día 12) producía la ovulación de un folículo dominante de primera onda y la subsiguiente formación de un cuerpo lúteo, a la vez que promueve el reclutamiento de una nueva onda.

La PGF 2α , en el día 7 del tratamiento, produce la lisis del cuerpo lúteo espontáneo o inducido. La segunda GnRH (día 9 del tratamiento) induce la onda preovulatoria de LH que provocará la ovulación de los folículos reclutados con la primera dosis de GnRH.

Con este método se obtuvo una tasa de preñez de 45,5 y una tasa de concepción de 45,5. Archabal *et al.* (1992), obtuvieron un aumento en la tasa de concepción, inyectando 100 ug de GnRH 72 horas después de la PGF2 α , en vacas que no fueron vistas en celo hasta las 72 horas.

Muchos estudios han mostrado que los tratamientos con GnRH o PGF2 α el día 14 después del parto, seguidos por tratamientos con PGF2 α en el día 28, u otras combinaciones similares, son beneficiosas para reducir el período de anestro y los servicios por concepción (Britt, 1997).

De igual forma, Domínguez (1998), halló que la fertilidad a la primera inseminación y el índice de concepción se veían incrementados al administrar PGF2 α al día del parto y GnRH a los 20 días de lactación.

b. Prostaglandina - hCG o eCG

La asociación de una hCG o eCG a una prostaglandina se utiliza para aprovechar la función como FSH o LH (McDougall, 1994; citado por Xu, 1997). Si es eCG tiene más efecto de FSH (foliculo estimulante), mientras que si es hCG tiene más efecto LH (luteotrópico).

López Gatus (1989), citado por Larson y Ball (1992), mediante un tratamiento con hCG, luego de una aplicación de PGF2 α , logró incrementar la proporción de vacas mostrando estro, también disminuyó el número de horas entre la prostaglandina y el celo, a la vez que incrementó el grado de sincronización sin afectar la tasa de preñez.

c. Prostaglandina - Estradiol

Se utiliza la capacidad del estradiol de inducir el comportamiento estral y de favorecer el surgimiento preovulatorio de LH.

Con el objeto de lograr una mejor sincronización del estro, Welch *et al.* en 1975, administraron benzoato de estradiol luego del tratamiento con PGF2 α , obteniendo efectivamente un mejor agrupamiento del estro y mejor sincronización del pico de LH, comparado con vacas tratadas solo con prostaglandina.

d. Progesterona - Estrógeno

Con el fin de proveer de un agente luteolítico a los tratamientos con progestágenos, se les añade el uso de estradiol, el cual reduce la secreción de

progesterona del cuerpo lúteo en un plazo de 2 a 7 días, dependiendo del estado del ciclo estral en que fue aplicado.

El estradiol es usado también en tratamientos combinado con progestágenos, para impedir el surgimiento de nuevas ondas foliculares cuando es aplicado al inicio del tratamiento, pues el aumento en la concentración de estradiol es similar al producido por un folículo dominante, que impide el desarrollo de los folículos subordinados (Bo *et al.*, 1995). El estradiol, en este caso, estaría inhibiendo el desarrollo de los folículos reclutados, retrasando el surgimiento de una nueva onda (McDougall y Macmillan, 1993).

Tjondronegoro *et al.* (1987), encontraron que la sincronización y el porcentaje de vacas mostrando celo era mayor cuando se utilizaba un dispositivo conteniendo progesterona y estrógeno, que cuando se utilizaba sólo progesterona.

Gyawu *et al.* (1991), luego de comparar tres tratamientos de sincronización, hallaron que el método progesterona más estradiol no presentaba diferencias con el uso de progesterona más prostaglandina en la preñez de vacas que ovulan sincronizadamente. Sin embargo, la fertilidad en los tratamientos que incluyen prostaglandina, iniciados entre el día 11 y 22 del ciclo, fue menor.

En otro experimento no se encontró diferencias significativas en la tasa de preñez, entre un tratamiento progesterona-estrógeno y un tratamiento de dos inyecciones de prostaglandina, aunque una mayor proporción de los animales tratados con progesterona-estrógeno lograron preñarse (Logue, Salaheddine y Benton, 1991, citados por Larson y Ball, 1992).

Adams (1994), reportó que una inyección de valerato de estradiol podría inducir el reclutamiento de una nueva onda folicular, cuando los animales son tratados con implantes de norgestomet. Esto podría explicar por que el valerato de estradiol aumenta la sincronización al ser administrado al inicio de un tratamiento con implante de norgestomet.

Los factores que pueden afectar el éxito de la combinación de estrógeno y progesterona incluyen: la proporción de animales ciclando antes del tratamiento, el intervalo post-parto al inicio del tratamiento, la condición corporal, el estado del ciclo estral al comenzar el tratamiento (mejor sincronía, pero reducida concepción si se empieza después del día 11 o 12 del ciclo, debido a la prolongada exposición a progesterona y mantención de un folículo dominante que ovulará siendo excesivamente viejo), la baja o inefectiva inducción de la luteolisis por parte del estrógeno, la disfunción luteal y el alargamiento del ciclo luego de terminado el tratamiento (Odde, 1990, Peters, 1986, Macmillan y Asher, 1990, Gyawu *et al.*, 1991, Munro y Moore, 1985, Voos y Holtz, 1985, citados por Larson y Ball, 1992).

e. Progesterona - Prostaglandina

Se ha estudiado este método para reducir la duración de los tratamientos de progestágenos.

Según Thimomier (1975), citado por Sali (1982), de este modo se puede acortar la duración del tratamiento con progestágenos a tan solo 7 días. Esto se logra porque el progestágeno impide la aparición de celo y la ovulación en los animales que se encuentren en fase folicular, mientras que permite el desarrollo del cuerpo lúteo que tiene menos de 5 días hasta el estado en el cual reaccionará a la prostaglandina.

Al terminar el tratamiento con progestágenos, si existe un cuerpo lúteo funcional la PGF2 α determinará su luteólisis, y estos animales tendrán estros sincrónicos con aquellos que ya se encontraban en fase folicular (en estos últimos la prostaglandina no ejerce ninguna acción) (Sali, 1982).

Según Chupin, citado por Sali (1982), la sincronización será aún mejor si la prostaglandina se administra 2 días antes de retirado el progestágeno. Además, el método combinado podría mejorar la fertilidad al primer celo post-tratamiento.

f. Progestágeno - Prostaglandina - PMSG o eCG

A la combinación progestágenos más prostaglandina se le ha agregado eCG (con acción FSH), como forma de mejorar la fertilidad.

Con esta combinación se ha conseguido elevar el porcentaje de gravidez al primer servicio, en un tratamiento que consistía en un implante subcutáneo de norgestomet por 9 días, asociado a la inoculación intramuscular de 500 mg de estrumate (luteolítico) y PMSG 2 días antes de la extracción del implante; se realizaron dos inseminaciones 48 y 72 horas luego de retirado el implante (Sali, 1982).

Las vacas en anestro post-parto parecen responder a tratamientos combinados de progestágenos más prostaglandinas con la administración de eCG (alrededor de 750 ui de eCG) al momento de remover el implante (Britt, 1997).

g. Progestágenos - Prostaglandina - GnRH

Schmitt *et al.* (1992), han usado combinaciones de progesterona en implante, GnRH y PGF2 α , con el objetivo de mejorar la fertilidad y la precisión de los estros inducidos, incidiendo sobre el reclutamiento y el surgimiento de una nueva onda folicular.

Las vacas eran inyectadas con prostaglandina 7 días después del celo, con el objetivo de lisar el cuerpo lúteo; en este día se le colocaba un implante de norgestomet. A los 9 días de iniciado el celo se aplicaba GnRH, con esta inyección se promueve la ovulación del folículo dominante de la primer onda, con la subsecuente formación de un cuerpo lúteo, a la vez que se favorece el surgimiento de una segunda onda de crecimiento folicular, de la cual surgirá un nuevo folículo dominante, que será el que ovule al retirar el implante. El día 16 se retira el implante y se inyecta prostaglandina con el fin de lisar el cuerpo lúteo formado el día 9. La inseminación se realizó previa detección de celo.

El tratamiento descrito fue comparado contra otro de similares características, que sólo se diferenciaba en la no aplicación de GnRH el día 9 del ciclo. En este tratamiento el folículo ovulatorio pertenecía a la primera onda folicular. El primer tratamiento tuvo una mayor fertilidad y mejor sincronización. La tasa de preñez del primer tratamiento fue de 60,6%, comparado al 43,4% del tratamiento 2.

Los mejores resultados del tratamiento 1 están explicados por la ovulación de un folículo nuevo, que evita los inconvenientes de los folículos con largos períodos de dominancia, tales como el receso temprano de la actividad meiótica, la asincronía entre la maduración nuclear y citoplasmática del oocito (Mihm, 1984, citado por Schmitt, 1993) y el retraso en el desarrollo embrionario que pueden generar los folículos viejos (Ahmad *et al.*, 1992, citado por Schmitt, 1993).

III. MATERIALES Y METODOS

A. LOCALIZACIÓN

El experimento fue realizado en el establecimiento comercial "Santa María", propiedad de la señora Mercedes Marizcurrena, ubicado sobre ruta 3, kilómetro 361, departamento de Paysandú; durante los meses de mayo a agosto de 1998.

B. ANIMALES UTILIZADOS

Se utilizaron 110 vacas de la raza holando pertenecientes al rodeo lechero del establecimiento.

Los animales fueron seleccionados según su producción diaria: 25 +/- 2 litros por día en promedio; y por el período de lactancia: 35 +/- 10 días post-parto al inicio del tratamiento.

Para el estudio se dividió el total de animales en 5 grupos distribuidos al azar, de acuerdo a: peso, estado corporal y número de lactancia.

La condición corporal promedio fue de 3,5, en la escala de condición corporal recomendada por el Dr. Esteban Krall (EEMAC Paysandú) para ganado lechero (de 1 a 5).

El peso promedio fue de 521,7 kilogramos, estimado a través de una muestra de la población estudiada.

La dieta, a la que estaban sometidos los animales del experimento, se componía de: 4 kg. de maíz, 4 kg. de ración balanceada con 16% de proteína, 2 kg. de semilla de algodón, 4kg. de materia seca como silo de maíz y 8,5 kg. de materia seca de pasturas compuesta por avena y pradera.

C. MANEJO PREVIO AL TRATAMIENTO

A los 25 días antes del inicio de los tratamientos se registraron las siguientes variables: peso vivo, condición corporal y producción de leche. Para la determinación del peso vivo se utilizó una balanza electrónica con una precisión de +/- 500 gramos. El estado de condición corporal se determinó mediante la utilización de la escala del 1 al 5, sugerida por el Dr. Krall para vacas lecheras. La producción de leche se estimó mediante control lechero.

D. MANEJO AL INICIO DEL TRATAMIENTO

Un día antes de comenzar los protocolos hormonales se determinó la actividad ovárica mediante ecografía; dichos registros se tomaron a partir de una muestra representativa de la población compuesta por 33 vacas.

También se extrajeron muestras de sangre mediante punción veno-yugular, las cuales fueron congeladas para la realización del inmunoanálisis REA, que determina el nivel de progesterona en sangre. Teniendo como referencia un nivel crítico de 1 ng./ml. de progesterona en sangre, los animales por encima de este valor fueron considerados cíclicos; cabe aclarar que con este análisis solo es posible detectar el 75% de los animales cíclicos.

Tabla 2: Detalle de los tratamientos realizados, número de animales asignados a cada grupo, cronograma de actividades que se realizaron, tipo de tratamiento hormonal, dosis aplicada y manejo de la inseminación artificial. Al pie del cuadro, en negrita, se indica la dosis, el principio activo, nombre comercial, número del lote, fecha de vencimiento y laboratorio.

TRATAMIENTOS:		DIA 0	DIA7	DIA8	DIA9
n					
1	23	½ PGF2-α+GnRH	PGF2-α	ESTRADIOL (E2)	CELO + LA.
2	20	½ PGF2-α+GnRH	PGF2-α	GnRH	LA.
3	23	½ PGF2-α+GnRH	PGF2-α+ hCG	BE2	LA.
4	23	½ PGF2-α+hCG (1)	PGF2-α+ hCG	BE2	LA.
5	15	NORGESTOMET+VE2	PGF2-α **		RETIRA IMPLANTE + eCG (LA. DIA 11)

Norgestomet (Crestar). Lote 23265. Vencimiento 0.1/99. Intervet.

GnRH: 10 ug de Buserrelina (sintético de la GnRH). (Conceptal). Lote 0.6E 253. Vencimiento 23/7/98. Laboratorio Hoechst.

BE2: 400 ug de Benzoato de estradiol. Lote 2739. Vencimiento 9/202. Laboratorio Dispert del Uruguay.

VE2: 5 mg de Valerato de estradiol (Crestar). Lote 23265. Vencimiento 0.1/99. Intervet.

hCG: 400 U.I. de Gonadotropina coriónica humana. (Progón). Lote 849. Vencimiento 10/99. Laboratorio Dispert del Uruguay.

hCG (1): 250 U.I. de “ “ “ (Progón). Lote 849. Vencimiento 10/99. Laboratorio Dispert del Uruguay.

PGF2-α: 0.75 mg de Tiaprost. (Iliren) Lote 0.6E 070. Vencimiento 12/7/98. Laboratorio Hoechst.

PGF2-α **: 15 mg de Luprostiol (Prosolvín). Lote 80365 C69. Vencimiento 5/99. Intervet.

eCG: 500 U.I. de Gonadotropina coriónica equina. (Foligón). Lote A1928. Vencimiento 06/98. Intervet.

E. TRATAMIENTOS

Los animales fueron divididos en 5 lotes, asignados al azar, teniendo en cuenta: peso vivo, producción de leche, condición corporal y número de partos (múltipara - primípara).

1. Grupo 1 (n = 23)

Este grupo comenzó el tratamiento (día 0) con media dosis de PGF₂ α (0,375 mg de tiaprost), más 10 ug de buserrelina, análogo sintético de la GnRH. Siete días más tarde se aplicó una dosis completa de PGF₂ α , utilizándose el mismo producto que en la primera dosis (0,75 mg de tiaprost).

El día 8 se administró 450 mg de benzoato de estradiol (análogo sintético del 17-beta estradiol) y desde el día 9 en adelante se detectó celo y se inseminaron las vacas que lo manifestaron.

2. Grupo 2 (n = 23)

Se inició el tratamiento con media dosis de PGF₂ α más GnRH, igual que para el grupo 1. Siete días más tarde recibieron una dosis completa de prostaglandina y en el día 8 se les inyectó GnRH, bajo la forma de 10 ug de buserrelina. El día 9 se inseminaron las vacas a tiempo fijo, 15 horas después de finalizada la última aplicación.

3. Grupo 3 (n = 24)

Este tratamiento se inicia de manera similar a los anteriores. El día 7 se les inyecta una dosis completa de prostaglandina más 400 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG). El día 8 se les inyecta benzoato de estradiol en la misma dosis que en el tratamiento 4 (400 ug). Las vacas son inseminadas el día 9 a tiempo fijo, transcurridas 24 horas desde la última aplicación hormonal.

4. Grupo 4 (n = 23)

Se inicia el tratamiento con media dosis de prostaglandina más 250 UI de hCG. A los 7 días se inyecta una dosis completa de PGF₂ α (0,750 mg de tiaprost) más 400 UI de hCG. El día 8 se administran 400 ug de benzoato de estradiol y 24 horas después son inseminadas a tiempo fijo.

5. Grupo 5 (n = 20)

Este grupo recibe un tratamiento conocido con el nombre comercial de Crestar, el cual consiste en un implante subcutáneo de 3 mg de norgestomet (análogo sintético de la progesterona) más una dosis inyectable que contiene 5 mg de norgestomet en solución oleosa y 5 mg de valerato de estradiol. A los 7 días se le aplica una dosis de PGF₂ α (principio activo luprostiol); transcurridas 48 horas se retiro el implante y se inyectaron 500 UI de eCG (Foligón). El día 11, 56 horas después de retirado el implante se realiza la inseminación artificial.

El tratamiento Crestar, por ser un protocolo hormonal comúnmente usado a nivel comercial y con buenos resultados, fue utilizado para comparar los demás tratamientos, a modo de limite superior.

Desde el inicio de los tratamientos hormonales se realizó detección de celos dos veces al día durante 45 minutos, sobre todo el grupo de animales; aquellos animales que manifestaron celo fueron inseminados 12 horas después, como forma de maximizar la tasa de preñez por tratarse de un tambo comercial.

Siete días después de la inseminación, y durante 17 días, se registró el retorno al celo por medio de observación de la manifestación del comportamiento característico. Esta información fue complementada mediante la realización de ecografía, donde se evaluó la respuesta de cada protocolo. El diagnóstico de preñez se realizó por palpación rectal a los 60 días de la inseminación artificial.

F. ANALISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas fueron analizadas mediante análisis de varianza de la raíz cuadrada y mediante análisis de varianza del logaritmo de los valores, para esto se utilizó el proceso estadístico del programa SAS.

Las variables discretas fueron comparadas mediante prueba de independencia de la distribución chi cuadrado. Las diferencias entre varianzas fueron evaluadas por cociente de varianza mayor sobre varianza menor comparado con la distribución de la tabla de Fisher.

Las variables continuas analizadas fueron días tratamiento concepción (DTC) y días parto concepción (DPC), que se definen como los días transcurridos desde el fin del tratamiento hasta la concepción y el tiempo que pasa desde la fecha de parto hasta la concepción, respectivamente. Mientras que las variables discretas estudiadas fueron: concepción a tiempo fijo, definida como la proporción de animales que conciben como resultado de la inseminación realizada a tiempo fijo; concepción al primer celo, que

comprende la proporción de animales que conciben durante los días 1, 2 y 3 post-tratamiento; concepción al primer y segundo celo sincronizado, donde se incluyen los animales que conciben en el primer celo y aquellos que conciben desde los días 19 al 23 post-tratamiento; concepción a los 30 días post-tratamiento; concepción a los 50 días post-tratamiento (o 60 días luego de iniciado el tratamiento).

IV. RESULTADOS

Los 5 grupos fueron lo suficientemente homogéneos en cuanto a peso vivo, condición corporal, días post-parto y producción de leche, de manera de permitir la comparación de los tratamientos entre sí. En el cuadro 1 se presenta la producción de leche promedio de los 5 tratamientos.

Cuadro 1: Producción de leche promedio de los animales de cada tratamiento.

Tratamiento	Producción media
1	23.5 (a)
2	23.8 (a)
3	23.9 (a)
4	24 (a)
5	24.5 (a)

Las letras iguales no difieren significativamente $P > 0.05$.

Las variables continuas, Días Tratamiento Concepción (DTC) y Días Parto Concepción (DPC), fueron evaluadas mediante análisis de varianza, realizada a partir de la raíz cuadrada y logaritmo de los valores; esto se realizó con el objetivo de disminuir los efectos de la varianza sobre la comparación de los tratamientos, ya que se comprobó la existencia de valores de varianza muy altos dentro de cada tratamiento y poco homogéneos entre tratamientos.

Para estas variables no se constataron diferencias significativas entre medias, evaluadas como suma de cuadrado y como logaritmo de los valores tomados por la variable, con una probabilidad mayor a 0.05 ($P > 0.05$).

En el cuadro 2 se presentan las medias de los días tratamiento concepción y parto concepción para cada tratamiento.

Cuadro 2: Comparación de las medias de cada tratamiento para días parto concepción, días tratamiento concepción y sus respectivos desvíos estándar.

TRATAMIENTO	DTC	Desvío Estándar	DPC	Desvío estándar
1	34,52	43,7	88,2	46,4
2	40,22	38,65	112,16	49,4
3	42,33	48,49	94,19	49,16
4	47,42	48,54	101,9	49,7
5	27,4	21,57	88,2	25,34
6	-	-	78,7	53,36

Como ya se ha mencionado, los tratamientos presentaron heterogeneidad en cuanto a sus varianzas, estas diferencias fueron constatadas mediante prueba F de homogeneidad de varianzas, de cuyo análisis se desprende que el tratamiento 5 tiene diferencias significativas al 0,99 de confianza con los demás tratamientos, para la variable días parto concepción (DPC); lo cual indica que hay una menor dispersión de los valores en torno a la media.

Del mismo análisis se desprende que el grupo control (tratamiento 6) tiene varianza estadísticamente diferente a los otros 5 tratamientos ($P < 0,05$); a pesar de que su media, para la variable días parto concepción (DPC), sea sensiblemente menor, los datos se encuentran más dispersos.

Analizando las varianzas de los grupos para la variable días tratamiento concepción (DTC), se constataron diferencias significativas ($P < 0,05$) del tratamiento 5 con respecto a los otros 4 grupos, los cuales no presentan diferencias entre sí estadísticamente significativas.

Mediante el análisis de igualdad de medias se comprobó que el tratamiento 6 presenta diferencias significativas para la variable DPC, con los tratamientos 2, 3 y 4 con probabilidades mayores o iguales a: 0,0545, 0,086 y 0,0204 respectivamente.

Los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas para la variable DPC, con $P > 0,1$. El mismo análisis realizado para la variable DTC indicó que todos los tratamientos son estadísticamente semejantes, a su vez, las máximas

similitudes se constataron entre los tratamientos 1 y 5 (0,9236 de igualdad); y entre los tratamientos 3 y 4 (0,9125).

Aún cuando se corrigieron estos valores por peso vivo, condición corporal y producción de leche, las diferencias continuaron siendo no significativas; ninguna de estas variables afectaron los resultados entre tratamientos.

En la figura 5 se representa mediante gráfico de barras la duración promedio del intervalo de días parto concepción y tratamiento concepción, donde se pueden ver con mayor claridad las tendencias manifestadas por cada tratamiento.

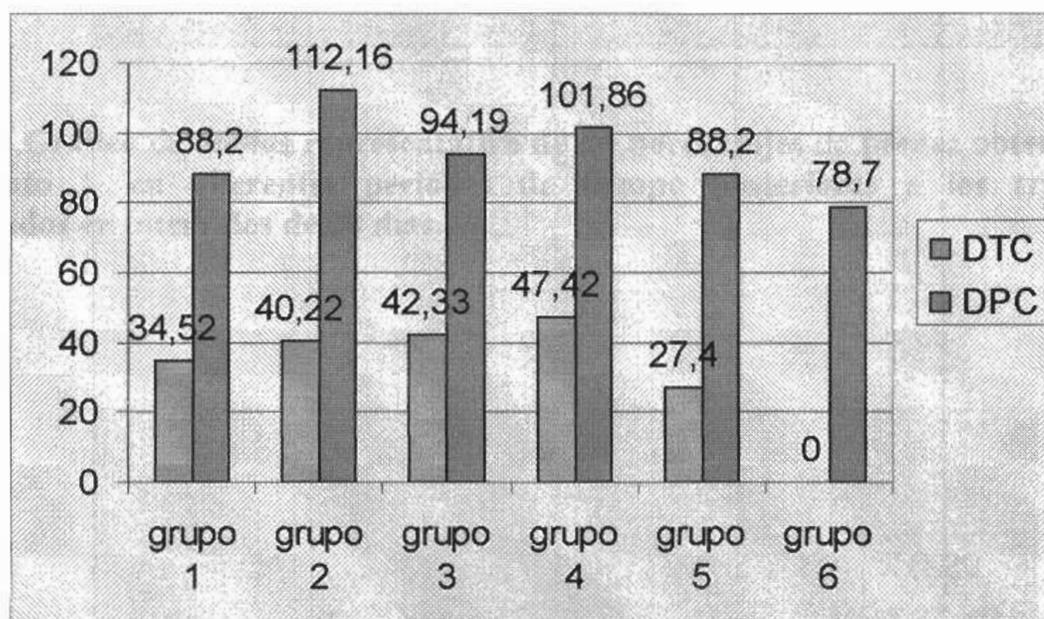


Figura 5: Representación gráfica de las medias de los días parto concepción y días tratamiento concepción (cuyo valor se indica en la cima de cada barra), para cada tratamiento.

Los gráficos de anillos de las figuras 6, 7, 8, 9 y 10 representan el porcentaje de vacas correspondientes a cada grupo que se preñan en los diferentes períodos de tiempo posteriores a los tratamientos, considerados en intervalos de 20 días. Estas figuras permiten visualizar en que momento se producen las concepciones, pues las proporciones no se acumulan.

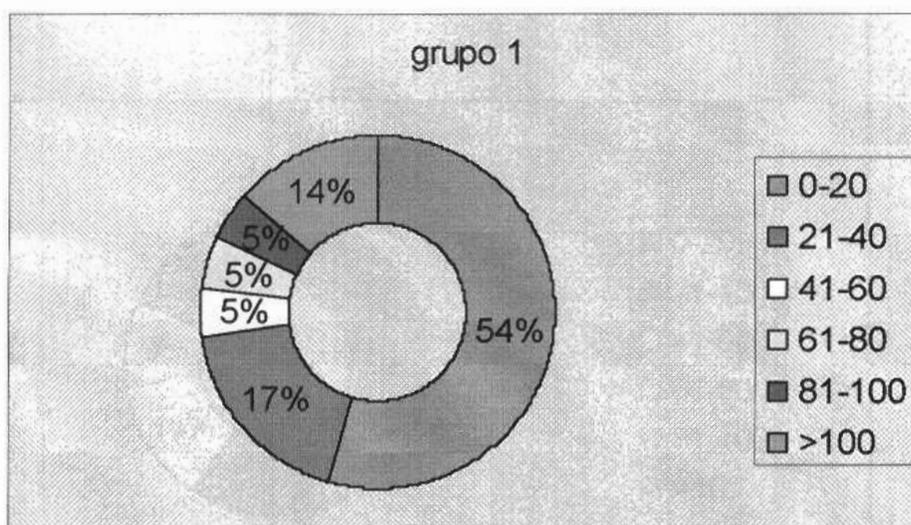


Figura 6: Gráfico de anillos representativo de los porcentajes de preñez obtenidos por el tratamiento 1, en diferentes periodos de tiempo posteriores a los tratamientos, considerados en intervalos de 20 días.

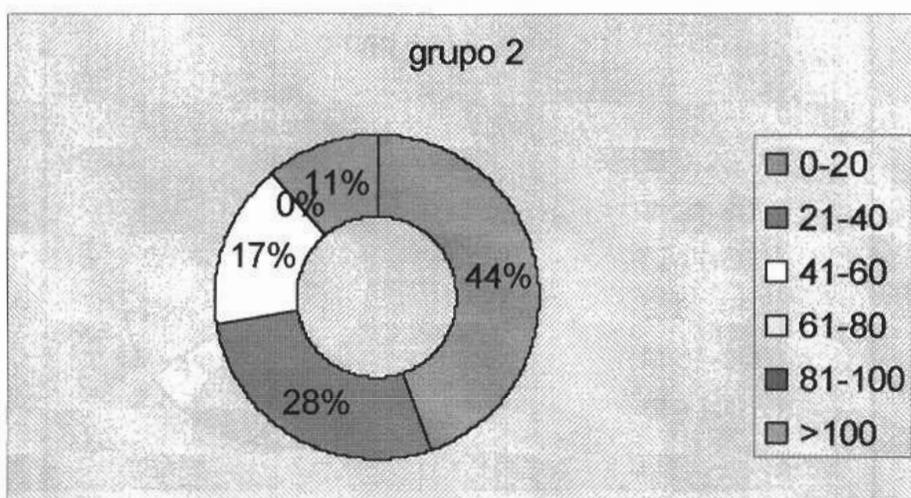


Figura 7: Los mismos parámetros analizados en la figura 2 pero correspondientes al tratamiento 2.

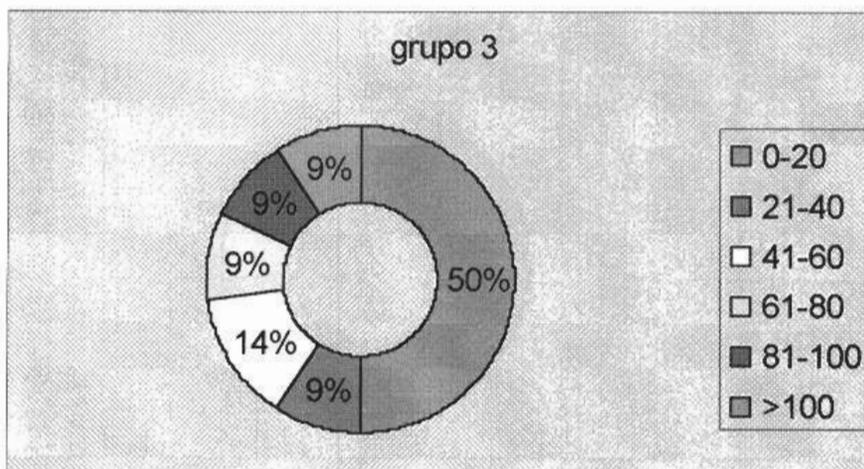


Figura 8: similar a las anteriores pero correspondientes al tratamiento 3.

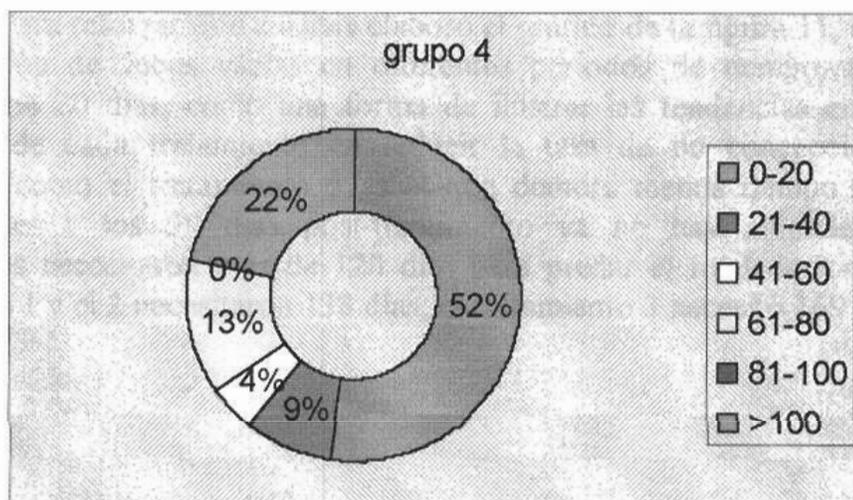


Figura 9: Similar a las figuras anteriores pero con valores correspondientes al tratamiento 4.

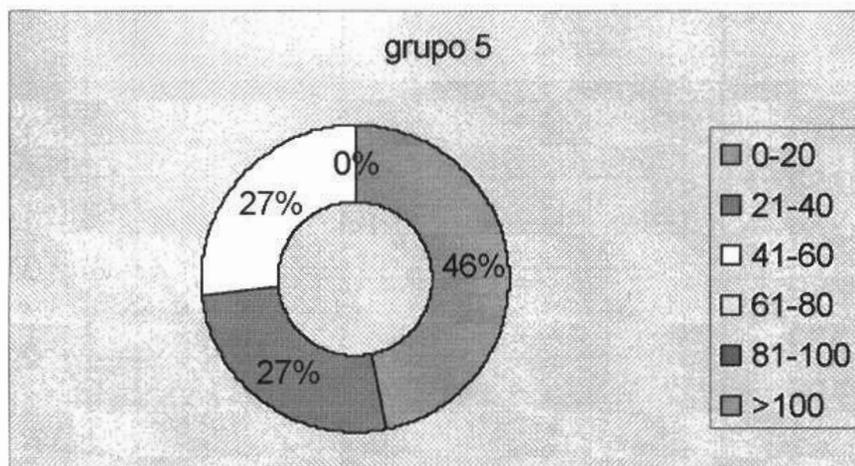


Figura 10: El mismo análisis de las figuras anteriores pero para el tratamiento 5.

El análisis de los gráficos anteriores permite visualizar la contribución relativa de cada tratamiento a la tasa de preñez, en diferentes momentos.

Para reforzar este análisis elaboró el gráfico de la figura 11, en el cual se representa la proporción de vacas vacías en diferentes períodos de tiempo, también estudiados en intervalos de 20 días, como una forma de ilustrar las tendencias en cuanto a la diferente capacidad de cada tratamiento en reducir la tasa de no concepción o los días vacíos. Obsérvese como el tratamiento 5 es el que demora menos tiempo en lograr el 100% de preñez, pues a los 59 días post-tratamiento ya no hay animales vacíos. Los demás tratamientos necesitaron más de 120 días para preñar el total de los animales tratados. El tratamiento 1 y el 2 necesitaron 138 días; el tratamiento 3 necesitó 169 días y el tratamiento 4, 130 días.

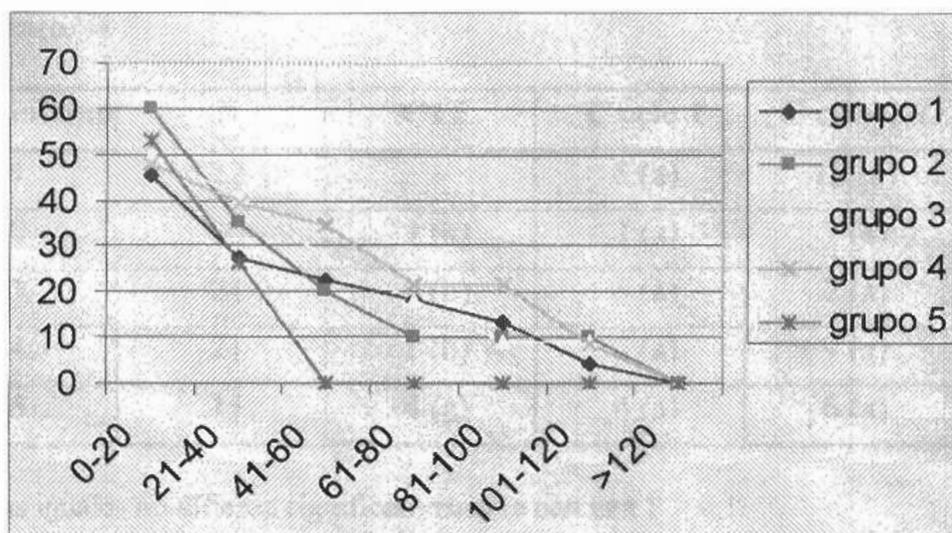


Figura 11: Representación gráfica de la proporción de vacas que no conciben en diferentes intervalos de tiempo que van desde el día 0 al 120, divididos en intervalos de 20 días. En el eje de las X se representan los días post-tratamiento y en el de las Y los porcentajes de vacas vacías.

Las variables discretas, concepción a tiempo fijo (CTF.), concepción al primer celo sincronizado (C1C.), concepción en los dos primeros celos sincronizados post-tratamiento (C1-2) y concepción a los 60 días de iniciado el tratamiento (C60), fueron realizadas mediante la prueba de chi cuadrado. La comparación de los tratamientos no arrojó diferencias significativas entre ellos con una $P > 0.10$, para las variables C 1, C 1-2, C 60, en cambio sí se detectaron diferencias significativas para la variable concepción a tiempo fijo entre los tratamientos 1 y 5 que fueron iguales entre sí, con los tratamientos 2 y 3. En el cuadro 3 se ilustra dicha comparación.

Cuadro 3: Comparación del número de vacas de cada tratamiento que conciben en el servicio a tiempo fijo, primer celo, primer y segundo celo y 60 días luego de iniciado el tratamiento (T.F, C 1, C 1-2, C 60); y número de vacas de cada tratamiento.

Tratamiento	N	CTF	C celo 1	C celo 1-2	C 60 días
1	22	-	8 (a)	12 (a)	17 (a)
2	20	3 (a)	3 (a)	7 (a)	15 (a)
3	21	0 (b)	5 (a)	7 (a)	16 (a)
4	21	1 (b)	7 (a)	9 (a)	15 (a)
5	15	4 (a)	4 (a)	6 (a)	11 (a)

Las letras iguales no difieren significativamente con una $P > 0,1$.

El comportamiento de cada tratamiento para las variables discretas estudiadas se representa en los gráficos de las siguientes figuras. Aunque para la mayoría de las variables no hay diferencias significativas, se pueden visualizar las tendencias de los distintos tratamientos.

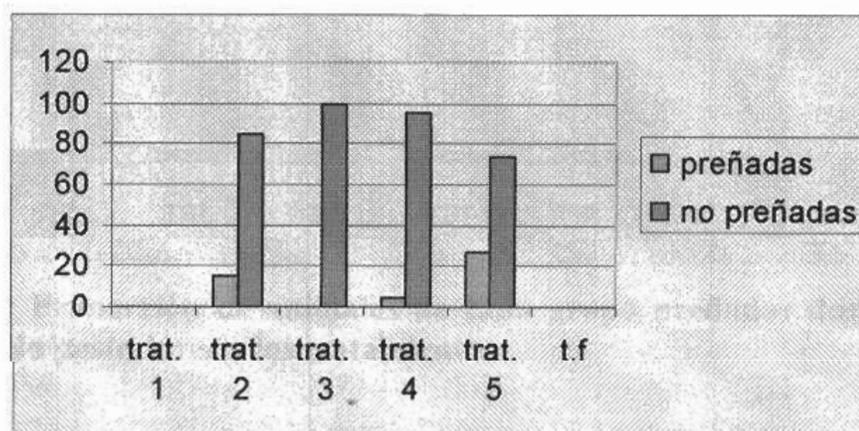


Figura 12: Gráfico de barras que representa la proporción de vacas preñadas y no preñadas mediante servicio a tiempo fijo.

Para esta variable se constataron diferencias significativas, por lo cual la superioridad de los tratamientos 2 y 5 es estadísticamente relevante.

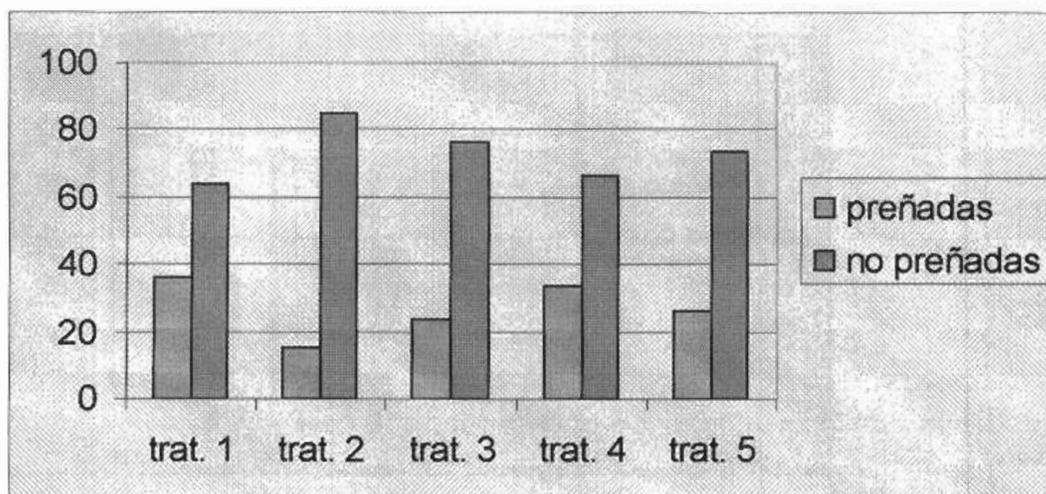


Figura 13: Proporción de vacas preñadas y no preñadas durante el período de tiempo correspondiente al primer celo posterior al tratamiento.

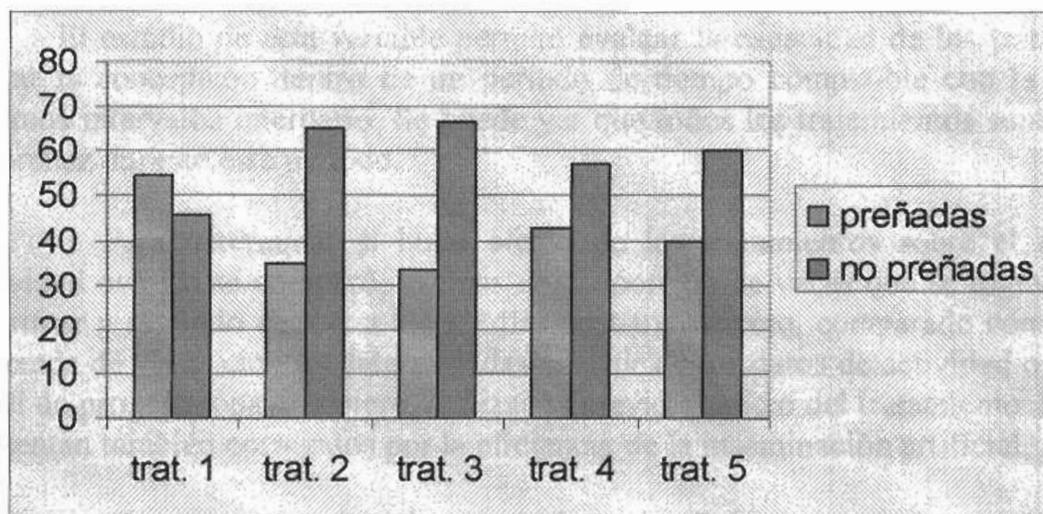


Figura 14: Proporción de animales de cada grupo preñados durante el primer y segundo celo posteriores a los tratamientos.

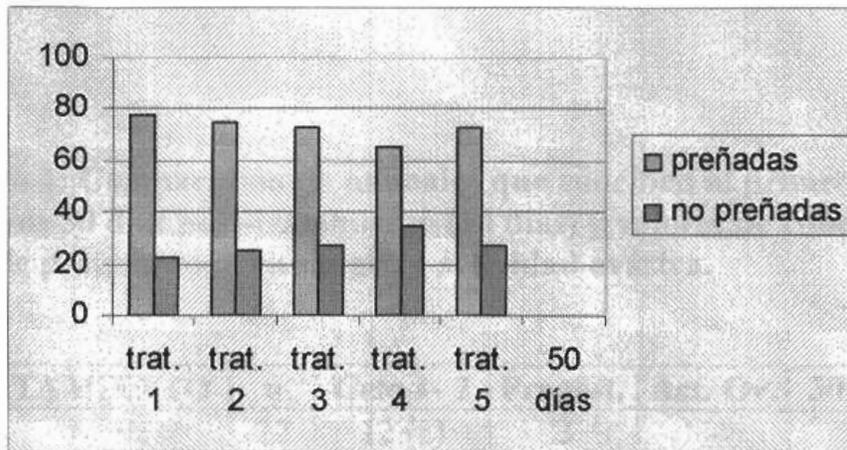


Figura 15: Proporción de vacas preñadas y no preñadas durante los 50 días posteriores a la culminación de los tratamientos.

El estudio de esta variable permite evaluar la capacidad de los tratamientos para lograr la concepción dentro de un período de tiempo compatible con la obtención de óptimos intervalos interparto. Se puede ver que todos los tratamientos superaron el 60% de preñez durante este período.

Para determinar si hubo efecto de los tratamientos sobre el reinicio de la actividad ovárica se comparó, además, la proporción de vacas que se lograban preñar en el primer y segundo celo, y a los 30 días post-tratamiento, comparado con la proporción esperada de vacas cíclicas determinadas a partir de los datos de actividad ovárica (AO) y nivel de progesterona en sangre, realizados previo al inicio del tratamiento. Estos datos se presentan también corregidos por la eficiencia de la inseminación artificial.

El porcentaje utilizado para valorar la eficiencia de la inseminación artificial fue de 60%, el cual fue estimado a partir de los servicios por concepción registrados en el establecimiento para el año en cuestión. Este porcentaje concuerda con los obtenidos en establecimientos de similares características, según datos aportados por el muestreo realizado por Conaprole 1998, donde se indican valores en el entorno del 54%.

Las comparaciones fueron realizadas mediante la prueba de chi cuadrado y los resultados se muestran en el cuadro siguiente.

Cuadro 4: Comparación de animales que conciben al primer y segundo celo (C 1-2), primeros 30 días post-tratamiento (30 días) y valores de concepción esperados según nivel de progesterona en sangre y actividad ovárica.

TRATAMIENTO	n	Celo 1- 2	Progest.	Act. Ov.	30 días	Progest.	Act. Ov.
1	22	12 (a)	B	-	15	A	C
2	20	7 (a)	-	-	9	-	-
3	21	7 (a)	-	-	12	B	-
4	21	9 (a)	-	-	10	-	-
5	15	6 (a)	-	-	9	B	-

La letra A presenta diferencia significativa con una $P < 0,001$, la B presenta diferencia con una $P < 0,05$, la letra C presenta diferencia con una $P < 0,1$, las letras (a) indican que no hay diferencias significativas con una $P > 0,1$.

El tratamiento 1 presentó diferencias significativas con una $P < 0,001$ y $P < 0,1$, al ser comparadas la preñez a los 30 días con los valores de preñez estimados por progesterona y actividad ovárica, respectivamente. También se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) al comparar el número de animales preñados al primer y segundo celo post-tratamiento contra los valores estimados por nivel de progesterona.

Los tratamientos 3 y 5 difirieron significativamente al comparar la preñez a los 30 días con la preñez estimada por nivel de progesterona ($P < 0,05$), para estos dos tratamientos no se constataron otras diferencias significativas. Para los tratamientos 2 y 3 no se registraron diferencias significativas para ninguna de las variables estudiadas.

En las siguientes figuras se ilustra, mediante un gráfico de barras, la comparación de los diferentes tratamientos hormonales entre sí, en cuanto a las tasas de preñez lograda en los diferentes periodos analizados y comparados con las tasas de preñez esperada, de acuerdo a los valores de progesterona en sangre y actividad ovárica.

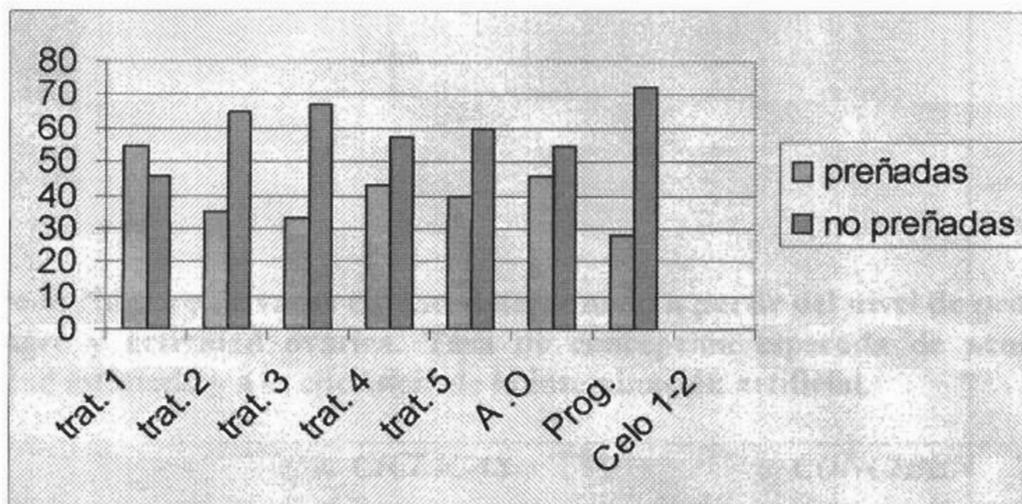


Figura 16: Proporción de vacas preñadas en cada tratamiento, comparadas con la preñez esperada de acuerdo a la ciclicidad estimada mediante actividad ovárica y progesterona en sangre, durante el período correspondiente al primer y segundo celo.

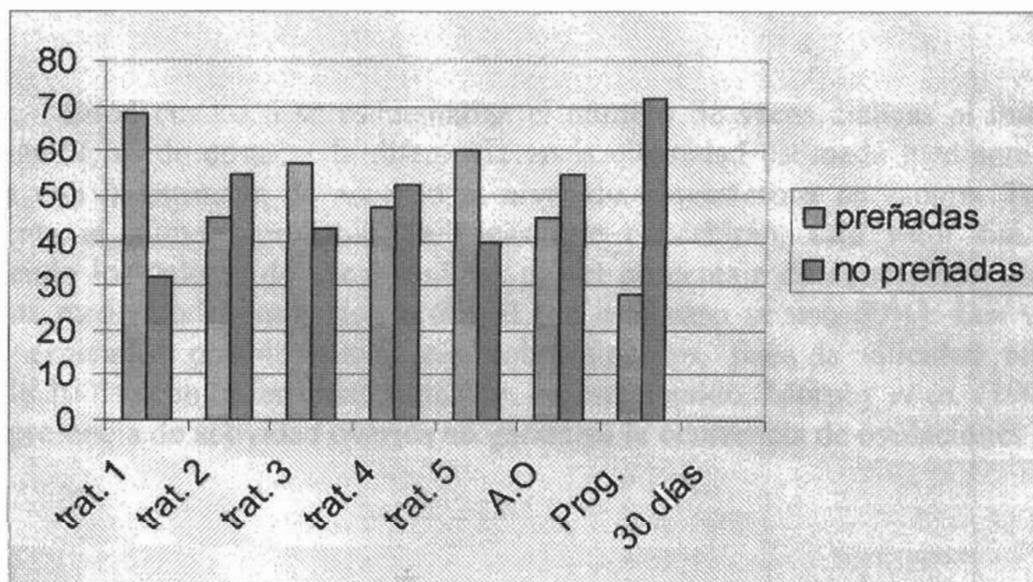


Figura 17: Proporción de vacas que conciben dentro de los primeros 30 días posteriores a los tratamientos y proporción de concepción esperada de acuerdo a actividad ovárica y nivel de progesterona.

Cuadro 5: Número de vacas cíclicas determinado a partir del nivel de progesterona en sangre y actividad ovárica. Tasa de concepción esperada de acuerdo a la ciclicidad estimada y a la eficiencia de la inseminación artificial.

	<i>CICLICAS</i>	<i>NO CICLICAS</i>	<i>CONCIBEN</i>	<i>NO CONCIBEN</i>
ACTIVIDAD OVARICA	31	11	19	23
PROGESTERONA	23	27	14	36

En el cuadro 5 se esquematiza el número de vacas cíclicas al inicio de los tratamientos; es de destacar la diferencia en la ciclicidad estimada mediante actividad ovárica con la estimada de acuerdo al nivel de progesterona en sangre. También se representa el número probable de vacas que concebirán, este valor fue estimado corrigiendo los valores de vacas cíclicas por el porcentaje de concepción obtenido en servicios mediante inseminación artificial (en este caso se usó 60%). Los valores de preñez esperados posiblemente estén sobrevalorados, pues la ciclicidad no siempre coincide 100%, con la fertilidad obtenida; en este sentido, Morphy *et al.* (1990) señala que la presencia de actividad ovárica no garantiza la ocurrencia de ovulaciones fértiles.

V. DISCUSIÓN

En primer lugar, cabe destacar que las estimaciones realizadas con el objetivo de determinar el balance energético y nivel de consumo de las vacas tratadas, considerando nivel de producción y peso vivo, no detectaron déficit en el nivel energético ni en el consumo de materia seca. Se debe mencionar, además, que no hay diferencias en cuanto a producción de leche, peso vivo, condición corporal, días post-parto, alimentación y condiciones de manejo, entre los distintos grupos de vacas; por lo que las diferencias en respuesta a los tratamientos asignados no están afectadas por variaciones entre los grupos.

Realizada esta salvedad, es de destacar que los resultados obtenidos permiten realizar comparaciones consistentes entre los diferentes tratamientos, ya que analizando las variables estudiadas se pudieron establecer diferencias entre los diferentes tratamientos, algunas estadísticamente significativas y otras que, sin llegar a serlo, permiten establecer tendencias interesantes sobre las características de cada protocolo hormonal analizado.

El análisis de la variable días tratamiento concepción (DTC) no presentó diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, el tratamiento 5 y el tratamiento 1 en menor medida, tuvieron un intervalo promedio menor entre el fin del tratamiento y la concepción. Analizando el desvío estándar de dicha variable se pudo comprobar que el tratamiento 5 presentó diferencias significativas con los otros cuatro tratamientos, lo cual indica que posee una mayor capacidad de concentrar la concepción en un período de tiempo determinado. Esto es consistente con los resultados obtenidos por Rivera *et al.* (1997), quienes estudiando la posibilidad de levantar el anestro en ganado de carne, sugirieron que los tratamientos con progesterona y estradiol tienen la capacidad de generar una onda folicular sincronizada en vacas acíclicas. Esto tiene una importancia práctica desde el punto de vista productivo, al permitir concentrar las pariciones en una fecha pre-establecida con el objetivo de hacer coincidir la mayor producción de leche con los momentos de mejor precio.

La menor dispersión observada para el tratamiento 5 podría deberse a que este protocolo tiene una mayor capacidad de producir ovulaciones fértiles en un lapso de tiempo menor, como lo señalan Macmillan y Peterson (1993), quienes comprobaron incrementos en la tasa de preñez en respuesta a tratamientos con progesterona aplicando eCG sobre el final del implante progestágeno. En parte, esta afirmación es avalada por el hecho de que el tratamiento 5 consiguió el 100% de preñez 59 días después de finalizado el tratamiento, mientras que para los tratamientos 1, 2, 3 y 4 fueron necesarios 138, 138, 169 y 130 días, respectivamente.

Para los días parto concepción (DPC) no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos hormonales, sin embargo, al compararlos contra el testigo se observó que existían diferencias significativas con los tratamientos 2, 3 y 4, mientras que no presentaba diferencias con los tratamientos 1 y 5. Este hecho podría asociarse a lo referido por Xu *et al.* (1996), quienes afirmaron que los tratamientos hormonales que se realizan con el objetivo de sincronizar estros, en general causan reducciones en la fertilidad, lo cual reduce el beneficio potencial de la utilización de estos programas para incrementar la eficiencia reproductiva en vacas lecheras.

Es de destacar el bajo valor del intervalo parto concepción del tratamiento que oficia como testigo (tratamiento 6), lo cual es reflejo de la buena performance reproductiva que presenta el establecimiento. Este hecho enmascara en parte el efecto de los tratamientos, pues los intervalos entre partos del rodeo en producción se aproxima a los rangos óptimos de manejo reproductivo. Morton *et al.* (1992), sugirieron que las respuestas a los tratamientos hormonales pueden ser muy bajas en rodeos que tienen altas tasas de preñez al primer servicio y buen manejo reproductivo general. Un aspecto interesante a destacar es que el grupo de vacas usadas como testigo o referencia era, en general, de menor producción de leche y no fueron sometidas al estrés de los tratamientos inyectables, lo cual lo ponía en una posición ventajosa desde el punto de vista reproductivo frente a los otros 5 grupos. El primer factor ha demostrado ser una de las causas que afectan la fertilidad en el ganado de leche (Lucy *et al.*, 1992); en cuanto al segundo de estos aspectos se ha visto que el estrés de manejo puede tener efecto sobre los resultados, por lo que se administra soluciones salinas a los grupos control para compensar las diferencias producidas por el estrés (Twagiramungu *et al.*, 1994).

De todas formas el grupo control es una referencia importante, al momento de evaluar la performance de los tratamientos, pues permite comparar los efectos totales de la aplicación de un programa de tratamientos hormonales (con los beneficios y perjuicios que pueda traer) frente a el manejo corriente del establecimiento. Sólo de esta forma es posible evaluar de manera correcta las posibles ventajas de la aplicación de estos programas en establecimientos comerciales.

A pesar de la diferencia del grupo testigo con los tratamientos 2, 3 y 4, ninguno de estos últimos presentó intervalos parto concepción excesivamente largos como para ser considerados fuera del rango de buen manejo reproductivo, es decir intervalo inter-parto mayor a 13 meses (Larson y Ball, 1992).

Una de las principales diferencias entre los tratamientos y el testigo surge al comparar los desvíos estándar y las varianzas de cada grupo. Resulta notoria la gran variabilidad que existe dentro del grupo 6 (grupo control) a diferencia de lo que sucede dentro de los otros 5 tratamientos, aún aquellos que tienen un intervalo medio de días parto concepción significativamente superior, lo cual está indicando la contribución de los tratamientos hormonales a disminuir la variabilidad individual en el intervalo parto

concepción, mediante una aceleración del proceso de reestablecimiento de la ciclicidad y/o fertilidad de los celos.

La variabilidad del grupo control da la pauta de la complejidad del comportamiento reproductivo en el post-parto. El mismo involucra un sistema de interacciones entre el hipotálamo, la pituitaria y los ovarios, afectado por un gran número de señales externas e internas que incluye, a su vez, las complejas relaciones endócrinas y neuroendócrinas (Short *et al.*, 1990). Este efecto es también mencionado por Macmillan *et al.*, (1990), quienes hacen referencia a la significativa concentración del patrón estacional de parición que puede lograrse mediante el uso de métodos de sincronización, especialmente en animales no cíclicos y con tasas de preñez al primer servicio menores al 70 %.

Es de destacar que el tratamiento 5 tuvo menor varianza que los otros tratamientos, lo cual indica su mejor performance al concentrar el período de concepción, debido probablemente más a la mayor capacidad de este tratamiento para generar ciclicidad independientemente de la profundidad del anestro, que a sus propiedades como sincronizador. Esto es mencionado por Fernández Tubino (1998), al describir las propiedades de los tratamientos que incluyen progesterona más eCG.

Al analizar la variable Concepción a tiempo fijo (CTF) se visualiza la diferencia significativa de los tratamientos 3 y 4 (que no presentan diferencias estadísticas entre sí) con los tratamientos 2 y 5 (entre los cuales tampoco se constatan diferencias significativas).

Los tratamientos 2 y 5 presentaron valores de respuesta más altos para la inseminación artificial a tiempo fijo, producto de una mejor sincronía del momento de la ovulación. Los mejores resultados del tratamiento 2 son coherentes con lo afirmado por Pursley *et al.* (1994) y Silcox *et al.* (1995), quienes mencionaron que la inclusión de GnRH, con el objetivo de inducir la ovulación de un folículo dominante luego de un programa de sincronización con prostaglandina y GnRH, redundaba en resultados ventajosos en la inseminación artificial a tiempo fijo.

De igual forma, Odde (1990), determinó que una buena sincronización del estro, la cual hacía viable la implementación de programas de inseminación a tiempo fijo, podría ser obtenida mediante la aplicación de implantes de norgestomet similares a los utilizados en el tratamiento 5.

Los bajos resultados obtenidos en los tratamientos 3 y 4 para la inseminación a tiempo fijo se contradice con lo sugerido por Schmitt *et al.* (1996), quienes postulaban que la inclusión de hCG conjuntamente con la aplicación de prostaglandina redundaría en una mayor concepción a tiempo fijo, debido a una menor incidencia de ciclos estrales cortos y a una mayor luteinización y diferenciación del folículo ovulatorio resultante.

Sin embargo, el escaso resultado de los tratamientos 3 y 4 resulta coincidente con lo sugerido por Mas'ud Hariadi *et al.* (1998), quienes señalan que la inclusión de hCG en combinación con prostaglandina tiene un efecto deletéreo sobre la luteolisis inducida y/o retrasa el inicio de la próxima onda folicular, lo cual resulta en una sincronización menos precisa.

La baja respuesta de los tratamientos 3 y 4 no queda claro si fue debida a una menor sincronía de la ovulación o al hecho de que no se haya inseminado el total de las vacas a tiempo fijo, sino únicamente las que presentaron algún síntoma de celo (presencia de mucus vaginal).

Para la respuesta en concepción al primer celo sincronizado, es decir las vacas que conciben los días 1, 2 y 3 post-tratamientos, no existieron diferencias significativas. Sin embargo, se observó una leve tendencia de los tratamientos 1 y 4 al lograr mayores tasas de concepción. Los tratamientos 2 y 5 mantuvieron una proporción de animales preñados similar a la obtenida en la inseminación a tiempo fijo, lo que reafirma la capacidad de estos protocolos de sincronizar el estro y la ovulación durante el mismo período de tiempo. Resultados similares fueron obtenidos por Momcilovic *et al.* (1998), experimentando con protocolos similares a los utilizados en el tratamiento 2, quien no encontró diferencias significativas entre las tasas de concepción resultantes de la inseminación a tiempo fijo, comparadas con las obtenidas de la inseminación al primer celo detectado luego del tratamiento.

Por el contrario, los tratamientos 3 y 4 se mostraron como buenos sincronizadores de estro, pero no de ovulaciones a tiempo fijo, lo cual cuestiona su utilidad en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. Como se ha mencionado, esto podría deberse a la presencia de hCG combinada con $\text{PGF2}\alpha$ en estos protocolos, lo cual podría distorsionar la luteolisis (Mas'ud Hariadi 1998). Otra posible causa, del pobre resultado de concepción a tiempo fijo, podría estar relacionado con el momento de aplicación de la hCG, puesto que esta hormona al tener más efecto LH que FSH, es de esperar que tenga más efecto administrada algunas horas más tarde, pues actuaría favoreciendo las últimas fases de desarrollo folicular, de forma similar a lo que ocurre con el patrón endógeno de secreción de LH.

La razón por que se optó en administrar la hCG junto con la $\text{PGF2}\alpha$ fue para evitar un movimiento extra de los animales tratados y reducir el estrés que este provoca, además, se pretendió utilizar los efectos de FSH que también tiene esta hormona.

No obstante, la escasa sincronía de la ovulación, una vez que esta se produce parece generar un cuerpo lúteo normal aunque con un ciclo algo más largo y con una mayor producción de progesterona, pero con niveles de fertilidad dentro de los parámetros normales (Fricke *et al.*, 1992).

Al primer y segundo estro sincronizado (del día 1 al 3 y del 19 al 23 post-tratamiento) no existieron diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, se mantuvo la tendencia del tratamiento 1 a tener una proporción de vacas preñadas mayor a los demás tratamientos; teniendo en cuenta solo las vacas sincronizadas fue el único tratamiento que logró preñar más del 50% de los animales tratados. Los protocolos 4 y 5 tuvieron buen comportamiento para esta variable, logrando preñar el 40% de las vacas asignadas, lo que estaría marcando la tendencia de estos tratamientos a mejorar la fertilidad de los estros sincronizados.

La evaluación de los porcentajes de vacas preñadas a los 30 días es una variable que permite estimar la ciclicidad que se manifiesta a partir de los tratamientos y la fertilidad de estos ciclos, pues dentro de esta variable se incluyen los animales que conciben al primer y segundo celo sincronizado y aquellos que conciben fuera del período esperado de sincronización. Quedan comprendidas, entonces, aquellas vacas que ya estaban cíclicas antes de iniciados los tratamientos más aquellas que reanudan sus ciclos estrales como consecuencia de los protocolos hormonales a que fueron sometidas.

La diferencia no fue significativa entre tratamientos, para la proporción de vacas preñadas en dicho período. Se observó, sin embargo, la misma tendencia manifestada para la concepción a primer y segundo celo, en cuanto a la superioridad del tratamiento 1 en alcanzar mejores tasas de preñez, ya que este tratamiento logró, durante el período en cuestión, preñar casi el 70% de las vacas que le fueron asignadas. Esta tasa de preñez supera ampliamente los valores recopilados por Odde (1990), quien en un reporte sobre una serie de estudios realizados utilizando $\text{PGF2}\alpha$, que involucraban más de 12000 animales, no registra tasas de preñez tan elevadas; el valor más importante que reporta este autor es el logrado en un trabajo llevado a cabo por Lauderik *et al.* (1980), donde se llega al 60% de preñez a los 28 días de finalizado el tratamiento.

El tratamiento 5 a los 30 días consigue preñar el 60% de sus vacas, siendo el 20% del total asignado al tratamiento preñadas fuera del período de sincronización. Este porcentaje de preñez es levemente inferior que los reportados por Odde (1990), quien informa sobre un trabajo realizado por Miksch *et al.* que logró 70% de preñez a los 28 días, trabajando con ganado de carne y utilizando implante intravaginal a base de progestágeno. Pero al mismo tiempo es superior a las tasas de preñez del 59% obtenidos por Kiser *et al.* (1980) y del 32% obtenido por Mares *et al.* (1997).

Es un hecho significativo que el tratamiento 3 mostrara un aumento de la proporción de vacas preñadas en este período (30 días), comparado con los valores de preñez que se observan al analizar únicamente los celos sincronizados, pues a los 30 días se logra que la proporción de vacas preñadas aumente un 25% sobre el total de tratadas, que es la diferencia con los valores alcanzados al primer y segundo celo, lográndose de esta manera valores cercanos al 60% de preñez para el período analizado.

Este comportamiento estaría aportando indicios acerca de la virtud de este tratamiento en provocar ciclicidad, pero con una menor capacidad para sincronizar estros.

Los tratamientos 1, 3 y 5 se logran preñar más de la mitad de los animales de cada grupo antes de los 30 días. La buena performance del tratamiento 1 se contradice con lo hallado por Birnie *et al.* (1997), quienes reportaron porcentajes de preñez más bajos con la utilización de métodos de sincronización que incluían GnRH y PGF2 α . Por su parte, Beckett *et al.* (1997) evaluando la eficiencia reproductiva lograda con el uso de GnRH en programas de sincronización, informa que la respuesta de los bovinos a esta hormona puede estar afectada por el estado fisiológico, efectos ambientales, de manejo, desordenes reproductivos, enfermedades, así como también del intervalo entre la parición y el inicio del tratamiento.

En general, todos los tratamientos aumentan la proporción de vacas preñadas durante los 30 días post-tratamientos en comparación con la proporción que se preña en el primer y segundo celo, lo cual indica que hubieron animales que escaparon al efecto de sincronización. Esto podría confirmar lo reportado por Twgiramungu *et al.* (1995), quienes sugirieron que los animales tratados con GnRH en el post-parto temprano generan ondas de LH que actúan sobre folículos que no han desarrollado sus receptores o sobre folículos quísticos, produciendo ovulaciones infértiles; sin embargo, el efecto generador de FSH que tiene la GnRH exógena, puede estimular un rápido desarrollo de un nuevo folículo seleccionado, que resultará en un folículo ovulatorio completamente normal, que será capaz de ovular inmediatamente después que se produzca la lisis del cuerpo lúteo producido por el folículo anormal del ciclo anterior.

El tratamiento 4 es el que tuvo menor diferencia de vacas preñadas al primer y segundo celo sincronizado, en relación a la preñez lograda a los 30 días por este mismo tratamiento; esta tendencia estaría dando indicios de que el tratamiento 4 tiene un efecto más marcado sobre la sincronización del estro en los animales ya cíclicos, pero tiene una habilidad relativamente menor a los demás tratamientos para levantar las limitantes reproductivas. Esta afirmación sería en parte corroborada por el hecho de que en este grupo se encontró el mayor número de vacas (5 animales) que se preñaron más allá de los 100 días luego de finalizado el tratamiento.

El análisis de los datos de porcentaje de preñez a los 50 días post-tratamiento tampoco arrojó diferencias significativas entre los grupos. Es un hecho destacable que entre todas las variables estudiadas esta fue la que presentó más semejanzas entre tratamientos.

Otro aspecto importante a resaltar es que todos los tratamientos superaron el 60% de vacas preñadas y la mayoría obtuvo valores cercanos al 80% de preñez. Short *et al.* (1990) mencionó que existe un componente de infertilidad en el rodeo que no puede ser levantado al menos en los primeros 100 días; este componente puede alcanzar valores de 20 a 30% dentro del rodeo, por lo que la tasa de preñez máxima no superaría el 80%.

Nuevamente el tratamiento 1 mostró ligeras tendencias a ser superior a los otros protocolos. De esta forma, se constató que con los tratamientos realizados la mayoría de los animales de cada grupo (70 a 80%) logró preñarse dentro del intervalo de tiempo necesario para lograr un intervalo entre partos de 13 meses señalado como óptimo.

Al contrastar los resultados de la concepción a los 30 días con las estimaciones de ciclicidad, realizadas a partir de los niveles de progesterona en sangre, se determinó que los tratamientos 1, 3 y 5 tuvieron diferencias significativas con los valores esperados de preñez, esto estaría indicando que los tratamientos provocaron ovulaciones fértiles en una proporción de los animales que se hallaban acíclicos antes de administrar los protocolos hormonales.

Teniendo en cuenta únicamente los animales sincronizados, solo el tratamiento 1 mejoró los valores esperados.

En cuanto a la estimación de ciclicidad por ultrasonografía, solo el tratamiento 1 tuvo diferencias significativas para la concepción a los 30 días comparados con los valores de preñez esperados por actividad ovárica. Estos resultados indican la capacidad del protocolo 1 para promover ovulaciones fértiles en vacas que no presentaban ciclicidad antes de ser tratadas con los protocolos hormonales.

VI. CONCLUSIONES

Existieron diferencias en el comportamiento reproductivo entre los animales sometidos a tratamientos hormonales y aquellos del grupo control.

En general, las principales diferencias se constataron en la concentración del período de concepción. En tal sentido, hay que destacar que todos los protocolos hormonales contribuyeron a disminuir la varianza de los días parto concepción; en virtud de lo cual estos protocolos pueden transformarse en una herramienta eficaz para concentrar la fecha de parición en rodeos lecheros.

Si bien no existieron grandes diferencias entre los tratamientos, estos presentaron en muchos aspectos características propias que pueden definir diferentes utilidades prácticas.

De esta manera, se puede afirmar que el tratamiento 5 tiene buen comportamiento en el servicio a tiempo fijo, por ser un buen sincronizador del momento de ovulación. Este protocolo demostró ser eficaz en reducir la variabilidad de la fecha de concepción. También fue capaz de reducir el tiempo necesario para lograr el 100% de preñez. Además del buen comportamiento en la sincronización de celos se mostró como un buen inductor de la ciclicidad, aún fuera del período de sincronización de celos.

De los resultados obtenidos se desprende que el tratamiento 5 se presenta como más eficiente en provocar la ciclicidad independientemente de la profundidad del anestro.

El tratamiento 4 tuvo un pobre comportamiento en la concepción a tiempo fijo, no obstante, fue un buen sincronizador de estros logrando buenos valores de fertilidad en los celos sincronizados. Sin embargo, se mostró menos eficiente que los demás tratamientos en corregir la persistencia de anestro.

El tratamiento 3 presentó similitud con el tratamiento 4 en los valores de concepción a tiempo fijo y en la sincronización de la ovulación. No obstante, resultó ser más eficiente en inducir ciclicidad en los primeros 30 días y menos preciso en la sincronización de los celos.

El tratamiento 2 tuvo, al igual que el tratamiento 5, un buen comportamiento en los servicios a tiempo fijo. En los primeros 30 días, sin embargo, se comportó como un pobre generador de ciclicidad y la sincronización de los estros fue escasa.

El tratamiento 1 fue el que mostró la mayor tasa de animales que concibieron en los estros sincronizados; a los 30 días presentó una marcada tendencia a tener mayor proporción de animales preñados que los otros tratamientos, la tendencia fue similar a los 50 días aunque menos notoria.

Es perfectamente constatable que este protocolo fue el único que logró mejorar los valores de ciclicidad en los primeros días post-tratamiento. A pesar de esto, hay animales que permanecen en anestro, prueba de esto es la proporción de vacas que superan los 100 días como tiempo necesario para lograr la concepción; en este aspecto se diferencia claramente del tratamiento 5 que a los 60 días post-tratamiento logró preñar todos los animales.

Esta tendencia podría sugerir que el tratamiento 5 es capaz de actuar sobre todos los estados de anestro, incluso sobre el anestro profundo; a diferencia del tratamiento 1, que sería muy eficiente actuando sobre los anestros superficial y semi-profundo, pero su eficacia sería limitada en los casos de anestro profundo. Posiblemente esta diferencia sea debida a la presencia de progesterona en el tratamiento 5. De todas maneras, sería necesario más investigación para corroborar esta tendencia.

El buen desempeño reproductivo del rodeo lechero del establecimiento es explicado, en mayor medida, por el buen manejo nutritivo y general (sanidad, detección de celos e inseminación, principalmente).

No obstante, se vio que los tratamientos hormonales mejoraron los parámetros reproductivos, con lo cual se puede concluir que las terapias hormonales realizadas no sustituyen el buen manejo, pero sí potencian sus virtudes.

Dentro de los tratamientos hormonales, al ser el tratamiento 5 el que presentó mejor performance, sería el recomendable para establecimientos similares al estudiado; con animales de alta producción, que puedan presentar períodos de anestro prolongados o gran heterogeneidad en el reinicio de la ciclicidad luego del parto.

Los demás protocolos estudiados, si bien no presentan un aporte tan evidente, también muestran efectos beneficiosos desde el punto de vista reproductivo. De estos 4 tratamientos el número 1 sería el más recomendable siempre y cuando no se pretenda hacer inseminación a tiempo fijo.

En caso de pretender realizar inseminación a tiempo fijo, el tratamiento 2 tendría un comportamiento aceptable en cuanto a la sincronización de la ovulación y las tasas de concepción en los primeros 30 días.

Los tratamientos 3 y 4 en principio no serían recomendables para la implantación de la práctica de inseminación a tiempo fijo.

Con respecto a los servicios a tiempo fijo, es necesario aclarar que aunque los valores de concepción no fueron elevados como para permitir recomendar la sustitución total de la detección de celos, sí se puede afirmar que los tratamientos recomendados para *inseminación artificial a tiempo fijo* son bien complementados por una correcta detección de celos y facilitan de manera relevante la realización de esta práctica, pues concentran la ocurrencia de estros en un corto periodo de tiempo.

Lo explicado anteriormente contribuye a mejorar las tasa de concepción y concentrar las concepciones en un periodo menor de tiempo. Pues aquellos animales que no se preñan en el servicio a tiempo fijo, serán detectados en celo e inseminados en un lapso de 2 a 3 días posteriores al tratamiento.

VI. RESUMEN

El presente trabajo contiene la comparación de 5 tratamientos utilizando diferentes combinaciones hormonales, con el objetivo de evaluar su performance como inductores de la ciclicidad y sincronizadores de celo. El principal fin de estos tratamientos es levantar el anestro post-parto en vacas lecheras de alta producción. El experimento se llevó a cabo en un establecimiento comercial del departamento de Paysandú. Los animales asignados al experimento fueron aquellos de mayor producción (25+/-3 litros) y de 35 +/-10 días de paridas. Las vacas fueron divididas en 5 lotes y las combinaciones hormonales utilizadas fueron las siguientes: lote 1 (n=23) PGF2 α +GnRH, PGF2 α , BE2, inseminación artificial a celo visto; lote 2 (n=20) PGF2 α +GnRH, PGF2 α , GnRH, inseminación artificial a tiempo fijo (IA.TF.); lote 3 (n=23) PGF2 α +GnRH, PGF2 α +hCG, BE2, IA.TF.; lote 4 (n=23) PGF2 α + hCG, PGF2 α + hCG, BE2, IA.TF.; lote 5 (n =15) implante Crestar, norgestomet + valerato de estradiol, PGF2 α , eCG, IA.TF. Los tratamientos fueron comparados entre si y contrastados con un grupo control compuesto por aquellas vacas en ordeño del rodeo que estuvieran en similares condiciones en cuanto a la fecha de parto que las asignadas a los tratamientos. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos en los días parto concepción. Todos los tratamientos lograron disminuir la varianza de los días parto concepción en comparación con el grupo control. En cuanto a la concepción a tiempo fijo los tratamientos 2 y 5 presentaron mejor performance. En relación a las demás variables estudiadas no existieron diferencias entre los tratamientos, aunque hubo una tendencia a que los tratamientos 1 y 5 logaran mayores tasas de preñez. Únicamente el tratamiento 1 mejoró los valores esperados de preñez estimados por actividad ovárica previo al tratamiento, mientras que los tratamientos 1, 3 y 5 mejoraron los valores esperados de preñez esperados de acuerdo a las estimaciones realizadas de acuerdo a el nivel de progesterona en sangre antes de iniciados los tratamientos. Estos resultados sugieren la ventaja del uso de estos protocolos hormonales en establecimientos comerciales con el fin de mejorar los parámetros reproductivos del rodeo en ordeño.

VII. SUMMARY

The present work contains an evaluation of five treatments using different hormonal combinations, with the objective of evaluate their performance to induce ovarian cycles and estrus synchronization. The main purpose of these treatments is to finish with postpartum anestrus. Experimental work was made with Holstein cows in a commercial farm in the province of Paysandú. The animals assigned to the experiment were those of high milk production (25 ± 3 litres) and with 35 ± 10 days after calving. The cows were divided in 5 groups and the hormonal combinations were the following protocols: group 1 (n=23): PGF2 α + GnRH, PGF2 α , BE2, AI at observed estrus; group 2 (n=20): PGF2 α + GnRH, PGF2 α , GnRH, AI at fixed time; group 3 (n=23): PGF2 α + GnRH, PGF2 α + hCG, BE2, AI at fixed time; group 4 (n=23): PGF2 α + hCG, PGF2 α + hCG, BE2, AI at fixed time; group 5 (n=15): Progesterone implant + norgestomet + VE2, PGF2 α , eCG, AI at fixed time. The 5 treatments were compared between them and were faced up to a control group composed by those cows in milking that were in the same conditions as the cows assigned to treatment. The treatments did not present significative differences between them when days calving-conception were analyzed. All treatments were successful in reducing days calving-conception variance. At fixed time insemination treatments 2 and 5 had better performance. Other variables studied did not present differences between treatments; although treatments 1 and 5 tended to reach higher pregnancy rates in shorter periods. Only treatment 1 showed better performance than values estimated by ovarian activity (previous to treatments onset). Treatments 1, 3 and 5 had higher pregnancy rates than values estimated by blood progesterone concentrations. These results suggest advantages and utility of these hormonal protocols in commercial farms with the objective of obtaining better reproductive performance in milking dairy herds.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, K.C.H.; GINTHER, O.J. 1992. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 94: 177
- ADAMS, G.P.; KOT, K.; SMITH, C.A.; GINTHER, O.J. 1993. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Animal Reproduction Science*. 30
- ADAMS, G.P. 1994. Control of ovarian wave dynamics in cattle: Implication for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*. 41: 25-30
- ARTHUR, G.H.; NOAKES, D.E.; PEARSON, H. 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ª ed. España. Interamericana McGraw-Hill. 702p.
- ARCHBALD, L.F.; TRAN, T.; MASSEY, R.; KLAPATEIN, E. 1992. Conception rates in dairy cows after timed insemination and simultaneous treatment with gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin F2 α . *Theriogenology*. 37: 723-731
- BEARDEN, H.; FUQUAY, J. 1982. Reproducción animal aplicada. México. Editorial El Manual moderno. 358
- BECKETT, S.; LEAN, J. 1997. Gonadotrophin-Releasing Hormone in postpartum dairy cattle: a meta-analysis of effects on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*. 48: 93-112
- BIRNIE, L.; BROADBENT, P.; HUTCHINSON, J. 1997. Failure of prostaglandin F2 α analogue to induce luteolysis in GnRH agonist treated heifers. *The Veterinary Record*. 140: 315
- BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. 1994. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*. 39: 193-204
- BRITT, J.H. 1979. Prospects for controlling reproductive process in cattle, sheep and swine as a result of recent advances in animal reproduction. *Journal of Dairy Science*. 62: 651-665

- BRITT, J.H. 1992. Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. *The Bovine Practitioner Proceedings*. 24: 39
- BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. 1996. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Animal Reproduction Science*. 45: 13-28
- BURKE, J.M.; DE LA SOTA, R.L.; RISCO, C.A.; STAPLES, C.R.; SCHMITT, J.P.; THATCHER, W.W. 1996. Evaluation of timed insemination using a Gonadotropin-Releasing hormone against in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 79: 1385-1393
- CANAVOS, G. 1991. Probabilidad y Estadística. México. Mc Graw-Hill. 592p.
- CASTLE, M.; WATKINS, P. 1988. Producción lechera moderna. Zaragoza. Editorial Acribia. 311p.
- CAVESTANY, D. 1982. Usos fisiológicos y terapéuticos de la GnRH en bovinos de leche y de carne. 3er. Congreso Nacional de Veterinaria del Uruguay. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay. 299-314
- CLARKE, I.J. 1987. Control of GnRH secretion. *Journal of Reproduction & Fertility*. Suppl. 34: 1-8
- COOK, D.L.; PARFET, J.R.; SMITH, C.A.; MOSS, G.E.; YOUNGQUIST, R.S.; GARVERICK, H.A. 1991. Secretory patterns of LH and FSH during development and hypothalamic and hypophysial characteristics following development of steroid-induced ovarian follicular cysts in dairy cattle. *Journal of Reproduction & Fertility*. 91: 19-28
- CONAPROLE. 1998. Evaluación manejo del rodeo lechero. 8p.
- DRIANCOURT, M.A.; FRY, R.C.; CLARKE, I.J.; CAHIL, L.P. 1987. Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. *Journal of Reproduction & Fertility*. 79: 635-641
- EL PAIS AGROPECUARIO, abril 1996. Indicadores Leche. Año 2. Nº14 pp.42-43
- FERNANDEZ ABELLA, D. 1993. Principios de fisiología reproductiva ovina. Montevideo, Uruguay. Hemisferio Sur. 247p.
- FERNANDEZ ABELLA, D. 1995. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo. Facultad de Agronomía. 206p.

- FERNANDEZ TUBINO, A. 1998. Ondas foliculares: su importancia en los métodos de sincronización de celos en bovinos. Departamento de Reproducción Animal. Facultad de Veterinaria.
- FIELDS, M.J.; BARROS, C.M.; WATKINS, W.B.; FIELDS, P.A. 1992. Characterization of Large Luteal Cells and their Secretory Granules during the estrous cycle of the cow. *Biology of Reproduction*. 46: 535-545
- FOLMAN, Y.; KAIM, M.; HERZ, Z.; ROSENBERG, M. 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrus cycle in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity conception. *Journal of Dairy Science*. 73(10): 2817-2825
- FRICKE, P.M.; REYNOLDS, L.P.; REDMER, D.A. 1993. Effect of human chorionic Gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *Journal of Animal Science*. 71: 1242-1246
- GARRIDO, L.; HERRERA, C. 1996. Estudio de dos métodos de sincronización de celo en vacas lecheras en producción. Tesis de Ing. Agr. Facultad de Agronomía. Montevideo.
- GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOPF, L. 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*. 20: 187-200
- GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; MARTIN, S.; WILTBANK, M.C. 1996. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 108: 271-279
- GONG, J.; CAMPBELL, B.; BRAMLEY, T.; GUTIERREZ, C.; PETERS, A.; WEBB, R. 1996. Suppression in the secretion of follicular stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biology of Reproduction*. 55(1): 68-74
- HAFEZ, E.S.E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales. México. Interamericana. McGraw-Hill. 542p.
- HANSEL, W.; CONVEY, E.M. 1983. Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*. 57(2): 404-424

- JÖCHLE, W.; KUZMANOV, D.; VUJOSEVIC, J. 1982. Estrous cycle synchronization in dairy heifers with the prostaglandin analog alfaprostol. *Theriogenology*. 18: 215
- KASTELIC, J.P.; KNOPF, L.; GINTHER, O.J. 1990. Effect of day of prostaglandine F2 α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Animal Reproduction Science*. 23: 169-180
- LABAT, M.; MARTENS, M. 1996. Evaluación del uso de prostaglandina F2 α y su combinación con estradiol y PMSG en la fertilidad de vacas Holando. Tesis de Ing. Agr. Facultad de Agronomía. Montevideo.
- LABHSETWAR, A.P.; COLLINS, W.E.; TYLER, W.J.; CASIDA, L.E. 1964. Effect of progesterone and oxytocin on the pituitary-ovarian relationship in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 8: 77
- LABORATORIOS INTERVET. S.A. 1996. Compendium de Reproducción animal. España. pp: 13-54
- LAUDERLE, J.W.; MCALLISTER, J.F.; MOODY, E.L.; KATZER, D.D. 1980. Pregnancy rate in beef cattle injected once with PGF-2 α . *Journal of Animal Science*. 51(suppl.1): 296
- LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA; R.L.; THATCHER, W.W. 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science*. 70: 3615-3626
- LAMMING, G.E.; MANN, G.E. 1995. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2 α production in cows by progesterone and oestradiol. *Journal of Reproduction and Fertility*. 103: 69-76
- LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. 1992. Regulation of estrous in dairy cattle: A review. *Theriogenology*. 38: 255-267
- MACCRACKEN, J.A.; SCHRAMM, W.; OKULICZ, W.C. 1984. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF-2 α during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Animal Reproduction Science*. 7: 31-55
- MACMILLAN, K.L.; CURNOW, R.J.; MORRIS, G.R. 1978. Oestrus synchronization with a prostaglandin analogue. I. Systems in lactating dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal*. 25: 366-372

- MACMILLAN, K.L.; HENRY, R.I.; TAUFAN, V.K.; PHILLIPS, P. 1990. Calving patterns in seasonal dairy herds. *New Zealand Veterinary Journal*. 38: 151-155
- MACMILLAN, K.L.; PETERSON, A.J. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment post-partum anestrus. *Animal Reproduction Science*. 33: 1-25
- MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R. 1996. Effects of estrous cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*. 42: 307-320
- MAS'UD HARIADI, BROOMFIELD, D.; WRIGHT, P.J. 1998. The synchrony of prostaglandin-induced estrus in cows was reduced by treatment with hCG. *Theriogenology*. 49: 967-974
- MC DOUGALL, S.; WILLIAMSON, N.B.; MACMILLAN, K.L. 1995. GnRH induces ovulation of a dominant follicle in primiparous dairy cows undergoing anovulatory follicle turnover. *Animal Reproduction Science*. 39: 205-214
- MEHMET KURAN; HUTCHINSON, J.S.; BROADBENT, P.J. 1996. The response of bovine granulosa cells to different gonadotrophins in culture. *Animal Reproduction Science*. 45: 1-12
- MGAP-DIEA-OPYPA. Diciembre 1998. El sector lácteo: Estadísticas. 1997. Trabajos especiales. N°11. 43p.
- MIKSCH, H.S.; LEFEVER, D.G.; MUKEMBO, G.; SPITZER, J.C.; WILTBANK, J.N. 1978. Synchronization of estrus in beef cattle. Effect of an injection of norgestomet and an estrogen in conjunction with a norgestomet implant in heifers and cows. *Theriogenology*. 10: 201
- MIRANDO, M.A.; BEUKER, W.C.; WHITEAKER, W.W. 1993. Relationship among endometrial oxytocin receptors, oxytocin-stimulated phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin F₂ α secretion in vitro, and plasma concentrations of ovarian steroids before and during corpus luteum regression in cyclic heifers. *Biology of Reproduction*. 48: 874-882
- MOMCILOVIC, D.; ARCHBALD, L.F.; WALTERS, A.; TRAN, T.; KELBERT, D.; RISCO, C.; THATCHER, W.W. 1998. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with Gonadotrophin-Releasing Hormone (GnRH) and/or prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology*. 50: 1131-1139

- MONGET, P.; MARTIN, G. 1997. Involvement of insulin-like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female mammals. *Human Reproduction*. 1-23
- MORBECK, D.E.; TYLER, M.D.; BRITT, J.H. 1991. Duration of estrous cycles subsequent to two injections of prostaglandin F₂ α given at a fourteen day interval in non-lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 74: 2342-2346
- MORRELL, J.M.; NOAKES, D.E.; ZINTZARAS, E.; DRESSER, D.W. 1991. Apparent decline in fertility in heifers after repeated estrus synchronization with cloprostenol. *The Veterinary Record*. 128: 404-407
- MORTON, J.M.; ALLEN, J.D.; HARRIS, D.J.; MILLER, G.T. 1992. Failure of a single postpartum prostaglandin treatment to improve the reproductive performance of dairy cows. *Australian Veterinary Journal*. 69(7): 158-160
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 90: 523
- NISWENDER, G.D.; JUENGEL, J.L.; MCGUIRE, W.J.; BELFIORE, C.J.; WILTBANK, M.C. 1994. Luteal function: The estrous cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction*. 50: 239-247
- ODDE, K.G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*. 68: 817-830
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology*. 44: 915
- PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S.; OTTOBRE, J.S.; GARVERICK, H.A.; ANDERSON, L.L. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *Journal of Dairy Science*. 80: 295-300
- PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.; WILTBANK, M.C. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *Journal of Dairy Science*. 80: 301-306
- REEVES, J.J. 1987. *Reproduction in Farm Animals; Endocrinology of Reproduction*. Philadelphia. E.S.E. Hafez. Lea & Febiger. pp.85-105

- RICHARDS, M.W.; GEISART, R.D.; DAWSON, L.J.; RICE, L.E. 1990. Pregnancy response after estrus synchronization of cyclic cows with or without a corpus luteum prior to breeding. *Theriogenology*. 34: 1185-1194
- RIVERA, G.M.; GOÑI, C.G.; CHAVES, M.A.; FERRERO, S.B.; BO, G.A. 1998. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. *Theriogenology*. 49: 1365-1375
- ROSENBERG, M.; KAIM, M.; HERZ, Z.; FOLMAN, Y. 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycle in dairy cows. I. Effects on plasma progesterone and manifestation of estrus. *Journal of Dairy Science*. 73(10): 2807-2816
- ROSENBERG, M.; CHUN, S.Y. 1991. The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. *Animal Reproduction Science*. 24: 108-128
- SALI, G. 1982. Programación de la actividad reproductiva en el bovino. 3er. Congreso Nacional de Veterinaria del Uruguay. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay: 233-244
- SALISBURY, G.M.; VAN DENMARK, N.L.; LODGE, J.R. 1978. Physiology of reproduction and artificial insemination in dairy cattle. 2nd. ed. W.H. Freeman & Co. San Francisco.
- SAUMONDE, J. 1991. La folliculogénèse chez les ruminants. *Rev. Méd. Vet.* 167: 205-218
- SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 83: 569
- SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; HYNES, N.; ROCHE, J.F. 1990. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 88: 569
- SAVIO, J.; BOLAND, P.; ROCHE, J. 1993. Development of dominant follicles and ovarian activity in the post-partum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 88: 581

- SCARAMUZZI, R.J.; BAIRD, D.T.; CAMPBELL, B.K.; DOWNING, J.A.; FINDLAY, J.K.; HENDERSON, K.M.; MARTIN, G.B.; MCNATTY, K.P.; MCNEILLY, A.S.; TONIS, C.G. 1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reproduction, Fertil. Dev.* 5: 459-478
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1975. *Cómo funcionan los animales*. España. Ediciones Omega. 113p.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1990. *Animal Physiology*. 4^a Ed. Cambridge. University Press. 602p.
- SCHMITT, E.J.P.; DIAZ, T.; DROST, M.; THATCHER, W.W. 1996. Use of a Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist or Human Chorionic Gonadotropin for Timed Insemination in cattle. *Journal of Animal Science*. 74: 1084-1091
- SCHMITT, E.J.P.; DROST, M.; DIAZ, T.; ROOMES, C.; THATCHER, W.W. 1996. Effect of a Gonadotropin-Releasing Hormone agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle. *Journal of Animal Science*. 74: 154-161
- SHEARER, I.J.; PURVIS, K.; JENKIN, G.; HAYNES, N.B. 1972. Peripheral plasma progesterone and oestradiol 17 B levels before and after puberty in gilts. *Journal of Reproduction and Fertility*. 30: 347
- SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E. 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*. 68: 799-816
- SILCOX, R.W.; POWELL, K.L.; PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C. 1995. Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology*. 43: 325
- STEVENSON, J.; MEE, M.; ROOBERT, S.; KRISTULA, L. 1989. Conception rates and calving intervals after prostaglandin F₂ α or prebreeding progesterone in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 72(1): 208-218
- SUNDERLAND, S.J.; ROCHE, J.F.; BOLAND, M.P. 1992. Immunomodulation of ovulation rate in ruminants. 8th Scientific Meeting European Embryo Transfer Association. Lyon. 51-66
- TANABE, T.Y.; HANN, R.C. 1984. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F₂ α . 1. Influence of stage of cycle at treatment. *Journal of Animal Science*. 58: 805-811

- THATCHER, W.W.; STAPLES, C.R.; DANET-DESNOYERS, G.; OLDICK, B.; SCHMITT, E.J.P. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science*. 72(supp.3): 16-30
- TJONDRONEGORO, S.; WILLIAMSON, P.; SAWYER, G.J.; ATKINSON, S. 1987. Effects of progesterone intravaginal devices on synchronization of estrus in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 70(10):2162-2167
- TYSSELING, K.A.; THATCHER, W.W.; BAZER, F.W.; HANSEN, P.J.; MIRANDO, M.A. 1998. Mechanisms regulating prostaglandin F₂ α secretion from the bovine endometrium. *Journal of Dairy Science*. 81: 382-389
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; PROULX, J.G.; VILLENEUVE, P.; DUFOUR, J.J. 1992. Influence of an agonist of Gonadotropin-Releasing Hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *Journal of Animal Science*. 70: 1904-1910
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; PROULX, J.G.; DUFOUR, J.J. 1994. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cycling cows treated with buserelin and cloprostenol. *Journal of Animal Science*. 72: 1796-1805
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; PROULX, J.G.; DUFOUR, J.J. 1995. Buserelin Alters the development of the Corpora Lutea in Cyclic and early postpartum cows. *Journal of Animal Science*. 73: 805-811
- WELCH, J.A.; HACKETT, A.J.; CUNNINGHAM, C.J.; HEISHMANN, J.O.; FORD, S.P.; NADARAJA, R.; HANSEL, W.; INSKEEP, E.K. 1975. Control of estrus in lactating beef cows with prostaglandin F₂ α and estradiol benzoate. *Journal of Animal Science*. 41: 1686-1692
- XU, Z.; BURTON, L.; MACMILLAN, K.L. 1996. Reproductive performance of lactating dairy cows following oestrus synchronization with progesterone, oestradiol and prostaglandin. *New Zealand Veterinary Journal*. 44(3): 99-104
- ZELEZNIK, A.J.; HILLIER, S.G. 1984. El papel de las gonadotropinas en la selección del folículo ovulatorio. *Clínica Obstericia y Ginecología*. 4: 1169-1183
- ZEMJANIS, R. 1985. Reproducción animal: diagnóstico y técnicas terapéuticas. México. Ed. Limusa. 253p.