

Conferencia del Dr. Julián Alberto Bartolomé

Control farmacológico del ciclo estral: impacto sobre la eficiencia reproductiva de los rodeos bovinos

Pharmacological control of the estrous cycle: impact on reproductive efficiency of cattle herds

Julián Alberto Bartolomé^{1, 2, 3}

¹Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Argentina.

²FCV, UNLPam

³World Wide Sires LTD

ID Autor: <https://orcid.org/0000-0001-5251-9259>

Correo electrónico: jbartolome@vet.unlpam.edu.ar

Nota del editor (RJCC): el siguiente texto, cedido por su autor para la presente publicación, corresponde a una conferencia realizada por el Dr Julián Alberto Bartolomé, organizada por la ANAV, el día 20 de octubre de 2022, con motivo de su incorporación como Académico Correspondiente en La Pampa.

Resumen: La eficiencia reproductiva permite sostener la productividad de los rodeos bovinos. El control farmacológico del ciclo estral ha contribuido a mejorar los índices reproductivos a partir de inducir celo en animales en anestro y facilitar el uso de la IA sin necesidad de detectar celo. Aspectos nutricionales, sanitarios y de manejo deben ser detenidos en cuenta ya que tienen un gran impacto en la fertilidad al momento de aplicar estas tecnologías. En los rodeos de cría, la sincronización de la ovulación permite controlar la edad a primer servicio de las vaquillonas, inducir celos en vacas postparto e incrementar los porcentajes de preñez. En los rodeos lecheros, la eficiencia reproductiva depende del manejo del período de transición, la nutrición de precisión y protocolos de sincronización de la ovulación, que permiten controlar el momento del primer servicio en las vacas en ordeño y sostener altos porcentajes de preñez. A su vez, los métodos de diagnóstico temprano de gestación junto al control farmacológico del ciclo estral permiten establecer protocolos de resincronización para acelerar el intervalo entre inseminaciones. Sistemas electrónicos y automáticos de detección de celo están disponibles para ser combinados con estos protocolos y mejorar aún más la eficiencia reproductiva.

Palabras clave: Eficiencia reproductiva, sincronización de la ovulación, rodeos bovinos.

Abstract: Reproductive efficiency allows us to maintain productivity of cattle herds. Pharmacological control of the estrous cycle has contributed to improving reproductive parameters by inducing estrus in noncyclic animals and facilitating the use of AI without the need for estrous detection. Issues of nutrition, health, and management have to be considered because they have a great impact on fertility at the time of applying these technologies. In beef herds, the synchronization of ovulation allows for controlling age at first breeding, induces estrus in postpartum cows and improves pregnancy rates. In dairy herds, reproductive efficiency depends on management of the transition period, precision of nutrition and protocols for synchronization of ovulation to control the time of first breeding in milking cows and sustain high pregnancy rates. In addition, methods for early pregnancy diagnosis combined with pharmacological control of the estrous cycle allow to establish protocols for resynchronization to shorten the interval between inseminations. Combined with these protocols, automated electronic systems of estrus detection are available for improving reproductive efficiency even more.

Keywords: Reproductive efficiency, synchronization of ovulation, bovine herds

Introducción

La producción bovina en uno de los pilares fundamentales de la economía de nuestro país. Los sistemas de producción de carne y leche aportan al producto bruto interno, generan fuentes de trabajo y son parte de la identidad del pueblo argentino. La eficiencia de estos sistemas depende de muchos factores, pero sin lugar a duda la eficiencia reproductiva es uno de los más importantes. En los sistemas de cría, un alto porcentaje de destete es fundamental con el fin de producir muchos kilos de carne por hectárea. En el

tambo, un intervalo entre partos adecuado permite lograr una alta producción a partir de disminuir los días en leche del rodeo, lograr una buena eficiencia de conversión de alimentos en leche y permitir el crecimiento de los rodeos.

La eficiencia reproductiva se basa en la fertilidad tanto de la hembra como de los machos. En el caso de las hembras, la fertilidad está basada en la ciclicidad estral, la manifestación de celo y la ovulación de un ovocito competente. En los toros, la fertilidad se manifiesta en la habilidad para la monta y la capacidad fecundante. La inseminación artificial (IA) es la biotecnología reproductiva más difundida y contribuye en forma masiva al mejoramiento genético además de ser una herramienta para mejorar la eficiencia reproductiva y controlar enfermedades de transmisión venérea. En los rodeos que realizan IA, la calidad de semen, la detección de celo, y la técnica de inseminación son aspectos que van a determinar los resultados de estos programas reproductivos. El control farmacológico del ciclo estral es una herramienta que permite inducir y controlar el momento del celo y la ovulación permitiendo el uso de IA sin necesidad de detectar celo. Además, este control farmacológico permite mejorar la fertilidad de la hembra, ya que puede ser utilizado en el tratamiento de anomalías del postparto tales como el anestro y el quiste folicular. La incorporación del control farmacológico del ciclo estral ha permitido, por lo tanto, incorporar masivamente la IA al manejo reproductivo de los bovinos, incrementando la producción de carne y leche debido a la mejora en la eficiencia reproductiva y la mejora genética. Otras biotecnologías tales como transferencia embrionaria, fertilización in vitro y clonación han permitido multiplicar animales de alto valor genético. En los últimos años, numerosos avances en genómica, sexado del semen, nutrición de precisión, manejo del periodo de transición (21 días pre y post parto), epigenética, sistemas electrónicos de monitoreo de actividad, rumia y consumo de alimento han revolucionado el manejo reproductivo en bovinos. En este manuscrito discutiremos avances relacionados con el control farmacológico del ciclo estral sobre la eficiencia reproductiva de los rodeos bovinos.

Avances en el manejo reproductivo de los rodeos de cría

El porcentaje y peso de destete son los indicadores que más impactan en la rentabilidad de los rodeos de cría. En la Argentina, el stock incluye más de 52 millones de cabezas, de las cuales 23 millones son vacas y 7 millones son vaquillonas (SENASA, 2020). Por lo tanto, la producción de terneros es una actividad de gran importancia para la economía del país. Sin embargo, los porcentajes de destete raramente alcanzan el 85%

y el promedio nacional está más cercano al 65%. Para maximizar el porcentaje de destete se podría plantear, en una situación de máxima eficiencia, un porcentaje preñez del 95% en 3 meses de servicio, 5% de pérdidas de gestación y 5% de pérdidas al destete. Diversos factores deben ser tenidos en cuenta para lograr estos resultados superadores. Durante el servicio, las claves para lograr un alto porcentaje de preñez son la adecuada estimulación de celos, la rápida involución uterina luego del parto, el correcto estado nutricional y la adecuada sanidad y fertilidad de las vacas, sumado a una alta fertilidad de los toros al inicio de la temporada de servicio. La primera medida para llevar adelante el proceso es registrar los eventos con una detallada planilla de procreo, y en lo posible, con un software que nos permita cargar la información. Debemos tener una buena identificación de los animales y los correspondientes partes diarios. Es necesario precisar cuántas vacas ingresan al servicio y de ahí, hasta el destete, registrar todos los eventos (preñeces, abortos, ventas y muertes) para poder evaluar donde se producen las pérdidas (Larson and White, 2016). Caravanas electrónicas, bastón lector y monitores con cargas automáticas, sumado a balanzas, son herramientas disponibles que se harán cada vez más necesarias para agilizar estos procesos.

El estacionamiento de los servicios en 60 a 90 días es clave para poder manejar el recurso forrajero de acuerdo con las necesidades de la vaca y poder realizar el control de enfermedades infecciosas de la reproducción en el momento correcto. Sin estacionamiento del servicio es casi imposible determinar donde se producen las pérdidas y seleccionar las vacas más fértiles. Por otro lado, el control sanitario y las vacunaciones contra enfermedades reproductivas en el momento adecuado es muy difícil si no tenemos grupos de animales parejos en edad y condición fisiológica. Técnicas ya muy conocidas como el flushing nutricional, la inducción farmacológica del celo y el destete precoz son herramientas valiosas para lograr servicios más concentrados y con mayor “cabeza” de parición.

La edad a la pubertad de las vaquillonas es un rasgo muy importante ya que está relacionado con la fertilidad y a la rentabilidad del sistema, ya que la precocidad, va a estar directamente asociada con la edad al primer parto. La selección genética basada en el análisis de rasgos fenotípicos como edad al primer celo, área pélvica, concepción al primer servicio y pérdidas embrionarias han producido un mejoramiento importante en la precocidad de las razas carniceras. Actualmente, la genómica está contribuyendo aún más a mejorar la selección y mejoramiento de rasgos poco heredables ya que permite detectar grupos de genes asociados a estas características.

Las estrategias farmacológicas como la inducción de celo utilizando progestágenos y la sincronización de celo, ovulación e IA a tiempo fijo (IATF) han sido herramientas utilizadas para acelerar la pubertad, el primer celo y la concepción en vaquillonas para carne. La sincronización de celo y ovulación en vacas y vaquillonas de cría ha permitido aumentar el número de animales inseminados al facilitar la implementación de esta tecnología. Para entender los protocolos es necesario entender la fisiología del ciclo estral en ambas categorías. Protocolos que combinan factor liberador de gonadotrofinas (GnRH), prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), dispositivos intravaginales de progesterona (DIP) y diferentes sales de estradiol han sido utilizados en animales de cría.

Las categorías problemáticas en los sistemas de cría son la vaca con cría al pie (especialmente primer parto) con baja condición corporal al momento del inicio del servicio y las vaquillonas en estado prepuberal. El score del tracto reproductivo (STR) o grado de desarrollo reproductivo (GDR) categorizado del 1 al 5, indica que las categorías 1, 2 y 3 se encuentran en diferentes grados de estado prepuberal y 4 (proestro o estro) y 5 (diestro) son vaquillonas ciclando (Anderson et al., 1991). El agregado de gonadotrofina coriónica equina (eCG, 400 UI) ha permitido lograr buenos resultados en vacas con cría al pie, en anestro o baja condición corporal y con resultados más erráticos en vaquillonas prepuberales (eCG, 200 UI). La prohibición del uso de sales de estradiol en muchos países ha forzado el uso de protocolos con GnRH. Estos protocolos están siendo evaluados en estas categorías problemáticas.

Los protocolos Select Synch, Ovsynch® y modificaciones del Ovsynch® (e.g. Cosynch) han sido utilizados en vaquillonas para carne (Lamb and Mercadante, 2016) En el sitio del Beef Reproduction Task Force (<https://beefrepro.org/>) es posible encontrar diferentes protocolos para vacas y vaquillonas para ser utilizados tanto con semen convencional como con semen sexado.

Los protocolos que utilizan GnRH para sincronizar la onda folicular no resultaban muy efectivos en vaquillonas debido a una baja respuesta ovulatoria (~30 %, Martínez et al., 1999, Colazo et al., 2005), necesaria para el reinicio de una nueva onda folicular (Thatcher et al., 1989). A su vez, la respuesta a la GnRH el día 6 del ciclo estral evaluada en base a la liberación de LH disminuye cuando la proporción de sangre índica es más alta (Portillo et al., 2008). Otra posibilidad es que las vaquillonas sean prepuberales o no estén ciclando, no respondan a la GnRH y muestren celo (~10%) previo a la dosis de $PGF_{2\alpha}$ que se administra 7 días después de la GnRH. En este caso la administración de

un dispositivo de (e.g. CIDR, DIB, TRIUB) entre la GnRH y la PGF_{2α} podría contribuir a minimizar este efecto y a su vez inducir celos en animales prepúberes o en anestro.

El protocolo más utilizado en vaquillonas en Argentina consiste en la aplicación de 2 mg de benzoato de estradiol el Día 0 junto a un DIP, retiro del DIP y aplicación de PGF_{2α} el Día 7 u 8 (8 días podría beneficiar vaquillonas prepuberales o acíclicas), 1 mg de benzoato de estradiol 24 horas luego de la PGF_{2α} e IATF 24-36 horas más tarde (Bo et al., 2005). Utilizando este protocolo se han reportado porcentajes de preñez de aproximadamente 60% en vaquillonas. Con el fin de simplificar el protocolo a 3 encierres es posible administrar 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP) al retiro del dispositivo e inseminar a las 48-56 horas con iguales resultados. Utilizando este protocolo se obtuvieron porcentajes de preñez de 65,1, 51,4 y 57,8% en tres experimentos donde se utilizaron 109, 323 y 237 vaquillonas británicas respectivamente y no hubo diferencias con los protocolos convencionales (Callejas, 2005). La adición de 200 UI de eCG a este protocolo a resultados en mejoras de fertilidad en algunos casos, aunque existen datos controversiales de su eficacia en vaquillonas ciclando.

En varios países y parecería ser una tendencia mundial, se han prohibido el uso de sales de estradiol en bovinos. Por lo tanto, protocolos con GnRH, ya utilizados en USA y modificados, están siendo incorporados al manejo reproductivo. El protocolo Cosynch más DIP incluye una dosis de GnRH y un DIP el día 0, retiro de dispositivo y una dosis de PGF_{2α} el día 7 e IATF más GnRH a las 60-64 horas de retirado el DIP (Geary et al., 2001). En caso de no utilizar DIP corremos el riesgo de que algunos animales entre en celo previo a la IATF o bien no respondan por estar en anestro o estados pre-puberales. Protocolos que combinan GnRH, PGF_{2α} y DIP para sincronizar celo y ovulación en comparación con aquellos que utilizan estrógenos y DIP resultan en similares tasas de preñez (Martinez et al., 2002).

Day et al., 2010 propusieron un protocolo denominado 5d-Cosynch donde el intervalo entre la GnRH y la PGF_{2α} se acorta a 5 días, requiere de dos dosis de PGF_{2α} (al retiro del dispositivo y 12-24 horas más tarde) y GnRH más IATF a las 72 horas del retiro del dispositivo. La idea detrás de este protocolo fue minimizar los impactos negativos de la falta de respuesta a la primera GnRH y a su vez extender el proestro con el fin de mejorar el tamaño del folículo ovulatorio, los niveles de estrógenos y el ambiente uterino. Con la idea de evitar la doble dosis de PGF_{2α} y un encierre de los animales extra, se comparó el protocolo 5d-Cosynch con y sin GnRH inicial y no se observaron diferencias significativas en fertilidad. Sin embargo, en un trabajo realizado por Kasimanickam et al.,

2014, la no administración de GnRH inicial redujo el porcentaje de preñez en vaquillonas para carne, pero no en vaquillonas para leche. Este protocolo podría utilizarse sin GnRH inicial y con una sola dosis de PGF_{2α} reduciendo el manejo a tres encierres. Otra alternativa sería mantener la GnRH inicial y administrar la doble dosis de PGF_{2α} en una sola aplicación (Cruppe et al., 2014), sin embargo, esta estrategia ha sido efectiva en algunos casos, pero no en otros. El concepto de proestro prolongado fue tenido en cuenta por De la Mata et al., 2012 para desarrollar un protocolo denominado J-Synch. Este protocolo incluye la administración de 2 mg de BE y un DIP el día 0, retiro de dispositivo y PGF_{2α} el día 6 e IATF más GnRH a las 60-72 horas. Estos protocolos han sido comparados con y sin detección de celo con resultados variables. Comparamos la dinámica folicular en vaquillonas británicas (n = 46) y la fertilidad en vaquillonas británicas (n = 130) y Braford (n = 499) sincronizadas con el protocolo J-Synch o bien con un 5d-Cosynch y no detectamos diferencias en el momento de la ovulación entre ambos protocolos ($P = 0,70$). Vaquillonas británicas se preñaron un 52,38 % con J-Synch y 46,27 % con Co-Synch ($P = 0,50$) y vaquillonas cruza índicas 37,80 % con J-Synch y 40,41 % con Co-Synch ($P = 0,60$). En conclusión, no se detectaron diferencias de fertilidad en vaquillonas para carne sincronizadas con un protocolo J-Synch o Co-Synch (Troncoso et al., 2022).

En muchos países no se permite el uso de sales de estradiol en los tratamientos de sincronización de celo, y actualmente se discute en Argentina una posible prohibición de estos protocolos. En nuestro laboratorio comparamos por un período de 4 años el protocolo convencional de sincronización de la ovulación con un protocolo a base de GnRH (Bilbao et al., 2019) en vacas con cría al pie (n = 792) y obtuvimos un 43,9% de preñez con el protocolo convencional y 49,4% con un protocolo 5d-Cosynch ($P = 0,41$). En ese mismo trabajo obtuvimos un 33,6% de preñez para vacas con baja condición corporal y un 54,9% en vacas ciclando, lo cual indica que esta es la variable de mayor impacto en la fertilidad. El agregado de una dosis de eCG en estos tratamientos reduciría los impactos negativos del anestro y la baja condición corporal.

En nuestro laboratorio hemos realizada varias experiencias utilizando los tratamientos farmacológicos como inductores de celo en vaquillonas y también comparando los diferentes protocolos con GnRH o estradiol tanto en vaquillonas para carne como para leche. En un trabajo realizado en 260 vaquillonas Angus de 14 meses con STR 1, 2 o 3 utilizamos un DIP (0,5 g) por 7 días sin PGF_{2α} al retiro para inducir celo evaluando la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) al inicio y/o 0,5 mg de cipionato

de estradiol (ECP) al retiro. Se evaluó la preñez en los primeros 7 días de ingresados los toros y hubo un efecto positivo para el tratamiento de ECP al retiro del DIP con 17,5, 34 y 31,2 % de preñez en vaquillonas score reproductivo 1, 2 y 3, respectivamente y 7,8, 7,8 y 20% para las vaquillonas controles, sin efecto significativo del BE al inicio del tratamiento. También realizamos trabajos utilizando un DIP 7 días previo al inicio del protocolo de sincronización denominado “convencional” (Día 0: 2 mg de BE más DIP, Día 7: retiro del DIP, PGF_{2α}, 0,5 mg de ECP, Día 9: IATF) y lo comparamos con el mismo protocolo y un protocolo 5d-Cosynch (Día 0: DIP, Día 5: retiro del DIP, PGF_{2α}, Día 8: GnRH, IATF) sin priming de progesterona. Los resultados mostraron que las vaquillonas que recibieron el priming de progesterona tuvieron mayor proporción de ovulación (7/7), comparadas con las vaquillonas del protocolo convencional (4/7) o del 5d-Cosynch (2/8, $P = 0,01$). Posteriormente realizamos algunos trabajos con tratamientos de DIP por 8 días en vaquillonas británicas con score reproductivo 3 e inicio de los protocolos 10 días después imitando el efecto de los protocolos desarrollados con MGA, logramos inducir la presencia de CL al inicio del protocolo de IATF, sin embargo, no vimos un efecto positivo en fertilidad. En estos experimentos observamos que las vaquillonas de razas británicas con STR 3 realizan una transición muy rápida de la pubertad a la ciclicidad y por lo tanto responden en forma aceptable a los mismos protocolos que se utilizan en animales cíclicos. Por el contrario, vaquillonas cruzas indicas con GRD 3, permanecen en un estado prepuberal más prolongado y los resultados a la IATF son más bajos. La selección genética a favor de líneas de sangre con pubertad temprano sea el camino por recorrer en estas razas.

En vacas con cría al pie, la implementación de programas de IATF es más compleja debido a la alta incidencia de anestro postparto causada por problemas nutricionales. Los programas de IATF tanto para primer como segundo servicio en vacas con cría, permitiría aumentar la cabeza de parición y mejorar la calidad genética de los rodeos. Protocolos de sincronización y resincronización de la ovulación han sido desarrollados con este fin. Tantos protocolos convencionales a base de estradiol como protocolos a base de GnRH han logrado resultados aceptables en programas de IATF (50% de preñez). El agregado de eCG al retiro del DIP es clave ya que mejora los porcentajes de preñez en un 10% en vacas en postparto temprano (35-55 días) y con baja condición corporal (< 3,0 en escala de 1 a 5). Otra tecnología sencilla y de bajo costo es la aplicación de parches para determinar los porcentajes de ciclicidad en el rodeo. Ante una situación de baja condición corporal en vacas con cría al pie y una situación complicada de oferta de pasto, un

protocolo de IATF para primer servicio puede contribuir a incrementar las vacas preñadas al inicio de la temporada de servicios y a su vez inducir celo en vacas en anestro. La colocación de parches luego de una primera IATF podría servir para evaluar los resultados de esta primera IATF y combinado con diagnóstico de preñez por ecografía a los 26-28 días post IA permitiría detectar las vacas vacías en anestro y realizar un nuevo protocolo de sincronización que logre resincronizar las vacas vacías y estimular celo nuevamente a vacas que continúen en anestro. La presencia de los toros durante este proceso podría incrementar el número de vacas preñadas en el primer mes de servicio.

El desafío de incrementar la fertilidad en vacas lecheras

La leche y sus derivados son, por el momento, irremplazables en la dieta del ser humano. El crecimiento de la población mundial hace que la producción de lácteos sea insuficiente y esto es un gran desafío para la industria. En 2018, el 15,4% de las vacas de alta producción contribuían el 45,4% de la producción de leche mundial lo que refleja el aporte de los rodeos de alta producción. El desafío de estos rodeos de alta producción está en generar sistemas que minimicen los problemas sanitarios, maximicen producción y eficiencia reproductiva, prioricen el confort para las vacas sin generar un impacto negativo sobre el medio ambiente. La selección genética, los sensores electrónicos de monitoreo de actividad y rumia, las dietas de precisión, las instalaciones y el manejo adecuados de efluentes está mostrando avances continuos sobre la base de estos conceptos (Britt et al., 2021). Por varios años la eficiencia reproductiva de las vacas en lactancia se ha basado en preñar lo más temprano posible luego de un período de recuperación de aproximadamente 40 días post parto. En los últimos años, la alta producción individual de las vacas, la persistencia de las lactancias y el tipo de manejo nos hizo reflexionar sobre el mejor momento para inseminar y preñar una determinada vaca. Esto hizo que comenzáramos a discutir si el período de espera voluntario debía ser fijo, solo estar basado en la recuperación del útero o bien podría ser diferente entre vacas o rodeos de acuerdo con la producción individual y otros factores. Más allá de esto, la eficiencia reproductiva está relacionada a la velocidad con el cual preñamos las vacas una vez que decidimos comenzar a inseminarlas.

Teniendo en cuenta que las vacas producen la mayor cantidad de leche durante el pico de lactancia (aproximadamente día 55 y 85 postparto en multíparas y primíparas, respectivamente), que la producción cae a medida que avanza la lactancia y que la gestación de la vaca requiere 283 días, es necesario que las vacas vuelvan a quedar

preñadas lo antes posible. De esta manera tendremos la mayor cantidad de vacas en el tambo en un período de la lactancia en donde producen la mayor cantidad de leche. La única limitante es la recuperación del tracto genital de aproximadamente 35 días y por lo tanto el período de espera voluntario se fija comúnmente en 40 días a partir del cual las vacas comienzan a recibir servicio. Sin embargo, como discutimos anteriormente, rodeos de alta producción individual mantienen un periodo de espera voluntario de 60 o 70 días. Una vez que decidimos que una vaca puede ser inseminada, la tasa de detección de celo (TDC) y la tasa de concepción (TC) van a definir el éxito de la reproducción. Por lo tanto, la vaca debe estar en condiciones para que ese servicio resulte en una preñez (buena tasa de concepción) ya que una vez inseminada la vaca no podrá ser sincronizada nuevamente y debemos esperar que vuelva en celo o que sea diagnosticada vacía al examen de preñez. Entonces, debemos tener en cuenta la variación en fertilidad de acuerdo con los días en leche entre individuos o rodeos, ya que si inseminamos muy temprano podríamos tener una baja TC. Modelos de simulación económica que utilizan programación dinámica (programa que tiene en cuenta el flujo de caja futuro) y datos reales de un rodeo lechero pueden determinar el retorno económico de vacas en diferentes lactancias de acuerdo con el momento postparto en que quedan preñadas. Utilizando este tipo de análisis (De Vries, 2006) se demostró que, para vacas de primera lactancia con determinado nivel de producción, manejo, costos y valores de la leche, el momento ideal para quedar preñadas se encuentra entre los 95 y los 110 días.

La eficiencia reproductiva de un rodeo lechero va a estar basada en la velocidad con la cual se preñan las vacas que se puede medir a través de la tasa de preñez en periodos de 21 días (TP de 21 días). La TP está conformada por la TDC y la TC (Ferguson and Galligan 1993). La TDC es la cantidad de vacas detectadas en celo (inseminadas en 21 días) sobre el total de vacas elegibles y la TC incluye las vacas que se preñan del total de inseminadas. A esto debemos sumarle una baja tasa de pérdidas embrionarias y abortos para que estas preñeces resulten en partos. Para lograr una alta TP de 21 días es necesario que la vaca tenga un período de transición adecuado. Se entiende por período de transición las tres semanas preparto y 3 semanas posparto donde la vaca pasa de un estado gestante y no lactante al período de lactación posparto (Grummer et al, 1995). Este período es a menudo una situación estresante asociada a una disminución del consumo que resulta en inmunodepresión y deficiencias de calcio. Es clave que la vaca atraviese este período logrando altos consumos de alimento, teniendo un parto sin ayuda y rápido, y evitando las enfermedades posparto que están asociadas a este período para así lograr un alto pico

de producción de leche y una rápida recuperación del útero y la ciclicidad ovárica (Drackley, 1999).

Las enfermedades de la transición reducen la fertilidad postparto (Stevenson and Call, 1988). Estudios retrospectivos evaluando 7500 vacas en USA demostraron que la presencia de enfermedad en los primeros 21 días en leche tiene efectos negativos sobre la producción de leche, la reproducción y aumenta el riesgo de rechazo (Carvalho et al., 2019). En Argentina, Quintero Rodriguez et al., 2019 reportaron que la presencia de enfermedad uterinas en postparto incrementó el riesgo de mortalidad embrionaria tardía en un estudio en un estudio retrospectivo que incluyó 631 casos y 2524 controles. Evaluamos la TC a primer servicio en 794 vacas Holando Argentino pertenecientes a un rodeo comercial del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (Reumann et al., 2020). En vacas primíparas, la TC a primer servicio en vacas con evento de enfermedad dentro de los 21 días fue 36,6 % (52/142) y en vacas sanas fue de 46,3 % (81/175). En vacas múltiparas la TC a primer servicio en vacas con evento de enfermedad dentro de los 21 días fue 26,5 % (48/181) y en vacas sanas fue de 37,2 % (110/296).

Una vez que logramos que una vaca llegue sana y ciclando al final del periodo voluntario de espera, es necesario detectar las vacas en celo e inseminarlas lo más rápido posible. La detección de celo es una de las tareas más ingratas del tambo. Esto se debe a que la metodología de detección es tediosa y a que las vacas en producción tienen una baja expresión de celo. Primero, la alta producción de leche hace que las hormonas esteroides sean metabolizadas en mayor grado en el hígado y por lo tanto los valores de progesterona y estrógeno son más bajos. Esto hace que disminuya el número de montas y también la duración del celo (7 horas o menos en vacas con más de 30 litros diarios). Segundo, el manejo intensivo del ordeño, los arreos, características de potreros y corrales, stress, etc. tienen una influencia negativa en el comportamiento de monta. Muchos establecimientos utilizan observación visual y otras ayudas (pintura, podómetros, Kamar) para la detección de celo e inseminan siguiendo la regla AM-PM (Trimberger and Davis, 1943). Para entender esto es necesario conocer algunos conceptos claves tales como: la primera monta durante el celo de la vaca coincide el pico de LH, el intervalo entre pico de LH y la ovulación es de 24 a 30 horas (Thatcher and Chenault, 1975), el transporte de espermatozoides que requiere 6 a 12 horas (Hawk, 1987), la viabilidad de los espermias de 24 a 32 horas, la viabilidad del ovulo de 8 a 12 horas (Thibault, 1967), y que son necesarios al menos 10 espermias accesorios por embrión para asegurar una buena calidad de estos embriones (Saacke et al., 2000). En base a estos aspectos se recomienda

inseminar 12 después del pico de LH (Trimberger and Davis, 1943, Dalton et al., 2001). Vacas detectadas por la mañana se inseminan por la tarde y vacas detectadas por la tarde se inseminan a la mañana del día siguiente. Por otro lado, existen distintos protocolos para inducir celo que incluyen el uso de PGF2 α , DIP, GnRH y estradiol en diferentes combinaciones. No obstante, la detección de celo en rodeos de USA varía entre 30 y 70 % en diferentes lecherías en tanto que la TC es más estable alrededor del 40%. La detección de celo es usualmente muy baja e imprecisa en lechería de muchas vacas y puede tener un efecto devastador sobre la eficiencia reproductiva (Heersche and Nebel, 1994). El control farmacológico del ciclo estral nos permite sincronizar el celo y la ovulación de un folículo viable. La PGF2 α y el factor liberador de gonadotrofinas (GnRH, Thatcher et al 1989) y los DIP combinados con estrógenos o GnRH pueden sincronizar la ovulación para IATF (Pursley et al., 1995, Burke et al., 1996, Bo et al., 1994) en el ganado lechero. El control de la ovulación permite utilizar la IATF aumentando las tasas de inseminación y minimizando la problemática general de los tambos con la detección de celo. No obstante, la aparición de sistemas electrónicos de detección de celo permitiría mejorar las tasas de inseminación y minimizar el uso de hormonas para sincronizar ovulación. Debido a que el manejo reproductivo de los rodeos lecheros es complejo y la ciclicidad estral en las vacas se ve afectada por varios factores, el control farmacológico en combinación con los sistemas electrónicos de detección de celo se podría combinar con el objetivo de mejorar la eficiencia reproductiva (Giordano et al., 2015).

Las vacas que reciben un tratamiento de PGF2 α muestran celo 2 a 5 días más tarde y la fertilidad de este celo inducido es similar a la de un celo espontáneo (Lauderdale et al., 1972, Rowson, 1972). No obstante, algunos aspectos deben ser considerados al utilizar PGF2 α para sincronizar celos: 1) PGF2 α no es efectiva durante los primeros 5 días del ciclo estral (Lauderdale et al., 1972, Rowson, 1972); 2) el intervalo desde el tratamiento al celo varía de acuerdo al estado de las ondas foliculares al momento de la inyección de la PGF2 α (Stevenson et al., 1984, Kastelic et al., 1990); 3) la TC para celos inducidos por PGF2 α pueden ser inconsistentes en vacas lecheras (Macmillan et al., 1977, 1983); y 4) la PGF2 α no induce celos en vacas en anestro. Con el fin de evitar estos aspectos la administración de dos dosis de PGF2 α con 14 días de intervalo induce celo en la mayoría de las vacas, pero estos celos son dispersados entre 2 a 4 días de la segunda inyección (día 2=23%; día 3=54%; día 4=15%; Lauderdale et al., 1974). Las dos dosis de PGF2 α se administran a 11 días de intervalo en vaquillonas y a 14 días de intervalo en vacas en lactación debido a la diferencia en las ondas foliculares en ambas categorías. Cuando se

intentó realizar IATF luego de dos dosis de PGF2 α la IATF, tanto sin inducir (Lauderdale et al., 1974, Stevenson et al., 1987) como induciendo la ovulación administrando GnRH 48 horas después de la segunda dosis de PGF2 α (Lucy et al., 1986), las TC fueron bajas. Esto se debía a que no se conocía el patrón de crecimiento folicular.

El descubrimiento de las ondas foliculares (Rajakoski, 1960; Pierson and Ginther, 1984) permitió entender la dinámica folicular durante el diestro y determinar que el crecimiento folicular debía ser controlado para obtener buena fertilidad y poder concentrar los celos y poder sincronizar la ovulación (Thatcher et al., 1989). La administración de un agonista de la GnRH (buserelina) induce la liberación de FSH y LH de la pituitaria, induce la ovulación o luteinización con atresia de folículos de más de 10 mm en diámetros y sincroniza la aparición de una nueva onda dentro de los 2 a 3 días (Thatcher et al., 1989). La onda folicular también puede ser sincronizada con el uso de estrógenos que son efectivos en iniciar el recambio folicular aun cuando el folículo dominante tiene solo 8 mm de diámetro (Bo et al., 1994). La administración de PGF2 α 7 días después de una inyección de GnRH (Thatcher et al., 1989) induce un incremento del estradiol más sincronizado (Wolfenson et al., 1994) e induce celo dentro de las 36 a 72 horas luego de la luteolisis. El protocolo Select Synch sincroniza el celo, puede incrementar la fertilidad (el celo post PGF2 α es más fértil al día 3 que al día 5) e induce celo en algunos animales en anestro en comparación con la administración de solo PGF2 α . Si incluimos un DIP (CIDR) entre la GnRH y la PGF2 α en el protocolo Select Synch se evita el 10% de ocurrencia de celos entre el día 0 y 7 del tratamiento (Stevenson et al., 1997) y se logra mayor eficiencia en la inducción de celo de animales en anestro.

La administración de una segunda dosis de GnRH 48 horas después de la PGF2 α del protocolo Select Synch sincroniza la ovulación y permite la IATF (Pursley et al., 1995, Burke et al., 1996). La administración de GnRH en diferentes estadios del ciclo estral en vacas en lactación induce la ovulación en un 70 % de los casos (Vasconcelos et al., 1999), y una PGF2 α 7 días más tarde causa la luteolisis en un 90 a 100% de las vacas (Pursley et al., 1995, Vasconcelos et al., 1999). La inyección de GnRH 48 horas más tarde (Protocolo Ovsynch®; Figura 3) sincroniza la ovulación dentro de las 24 a 32 horas (Pursley et al., 1995) y la IATF debe realizarse 16 horas después de la segunda GnRH (Burke et al., 1996). Si bien el protocolo Ovsynch reduce en un 5 a 8 % la TC permite mantener o incrementar la tasa de preñez cuando se lo compara con sistemas que incluyen la detección de celo ya que al aplicar Ovsynch el 100% de las vacas son inseminadas. Debido a que la respuesta a la GnRH es mayor en los días 5 a 10 del ciclo estral, dos dosis

de PGF2 α aplicadas en intervalo de 14 días induce celo en 2 a 7 días y así podemos iniciar el Ovsynch 10 a 12 días después de la segunda PGF2 α y lograr mayor eficacia (Vasconcelos et al., 1999, Moreira et al., 2000). Luego de aplicar el protocolo Presynch un protocolo Ovsynch Modificado con IATF y la aplicación de GnRH a las 72 horas de la inyección de PGF2 α se incrementó la tasa de preñez en comparación a Ovsynch (GnRH a las 48 horas e IATF 24 horas más tarde) o a un protocolo Co-Synch (GnRH e IATF a las 48 horas; Portaluppi and Stevenson, 2003). El protocolo Ovsynch tiene varias modificaciones que incluyen cambios en el momento de administración de la segunda dosis de GnRH y el momento de la IATF con y sin IA de vacas que muestran celo antes del momento indicado de la IATF. Estas modificaciones están afectadas por el uso de la presincronización y la inclusión de DIP entre la primera GnRH y la PGF2 α . La presincronización incrementa la respuesta a la primera GnRH y por lo tanto la administración de la segunda GnRH y la IATF se pueden demorar algo más ya que las vacas no van a sufrir luteolisis u ovulación temprana y esto es similar a usar un DIP entre la primera GnRH y la PGF2 α . Estos protocolos han incluido la administración de la segunda GnRH a las 56 horas post PGF2 α con IA 16 horas después (Ovsynch56) o la administración de GnRH más IATF a las 72 horas (Cosynch72). En caso de no usar presincronización o DIP también se han modificado el Ovsynch con GnRH más IATF a las 48 horas de la PGF2 α (Cosynch48). En un trabajo realizado (Brunsveen et al., 2008) comparando los Ovsynch56, Cosynch48 y Cosynch72 los resultados de preñez a los 54 días fueron 44,8%; 36,2% y 24,6% en vacas de primeros servicios presincronizadas 32,7%; 23,0% y 26,2% en vacas de dos y más servicios sin presincronización. Por lo tanto, los protocolos Cosynch deben utilizar detección de celo y de no ser así convendría utilizar el Ovsynch56.

Una alternativa al protocolo Presynch-Ovsynch es el doble Ovsynch. En un estudio realizado en Wisconsin, Souza et al., 2008 reportaron mejoras del porcentaje de preñez en vacas primíparas cuando se utilizó un doble Ovsynch en comparación al Presynch-Ovsynch. En este caso se comienza el primer Ovsynch el día 47 post parto y a los 7 días de la segunda GnRH se comienza el segundo Ovsynch. Otra alternativa práctica siguiendo los conceptos de la presincronización es asignar el protocolo Ovsynch en el momento adecuado del ciclo estral basado en los hallazgos a la palpación rectal o ultrasonografía del tracto genital (Tabla 1, Bartolome et al., 2005). Vacas con cuerpo luteo pueden ser tratadas con PGF2 α luego inseminar a celo detectado y aquellas que no muestran celo se les puede iniciar el protocolo Ovsynch a los 14 días de tratadas con PGF2 α . Vacas sin

cuerpo luteo y con signos de celo podría iniciar Ovsynch en ese momento o junto con vacas en anestro o quiste ovárico pueden ser tratadas con GnRH para inducir la formación de un CL y 8 días más tarde iniciar el Ovsynch. Vacas en metaestro pueden recibir el mismo protocolo o solo esperar e iniciar el Ovsynch a los 8 días. Con este sistema la IA a celo detectado y la IATF son combinadas reduciendo costos y logrando inseminar el 100% de los animales logrando TC aceptables (Bartolome et al., 2002).

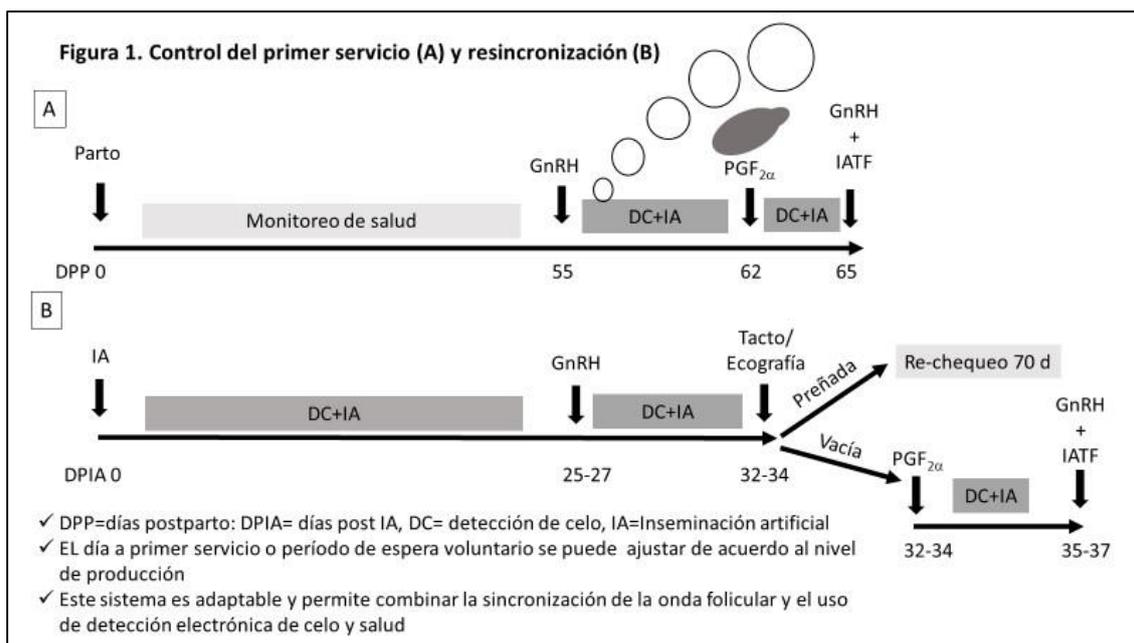
Estadio	Hallazgos clínicos	
	Ovarios	Útero
Diestro	CL, Folículo > 10 mm	Tono leve
Metaestro	CH, Folículo < 10 mm	Edema, tono moderado
Proestro/estro	Folículo > 18 mm, CL regresando	Elevado tono
Quistes ováricos	Folículos múltiples > 18 mm, ausencia de CL	Flácido
Anestro	Folículos < 18 mm, ausencia de CL	Flácido

Tabla 1. Criterios para la determinación de los estadios del ciclo estral, quistes ováricos o anestro basado en los hallazgos a la ultrasonografía y la palpación transrectal del tracto genital (Bartolome et al., 2005, adaptado de Zemjanis, 1962 y Pierson and Ginther, 1984).

La inclusión de un DIP entre la GnRH y la PGF2 α en el protocolo Ovsynch evita el celo anticipado en aquellas vacas que no responden a la GnRH. Sin embargo, los resultados comparando Presynch-Ovsynch con y sin DIP (CIDR) han sido variables. En un trabajo que incluyó aproximadamente 60 % de vacas en anestro, el CIDR (1.9 g de progesterona) administrado entre la GnRH y la PGF2 α del Ovsynch incrementó la TC en vacas en anestro, pero no en vacas cíclicas (El-Zarkouny et al., 2004). Un segundo experimento en el mismo trabajo donde un 20 % de las vacas estaban en anestro no reportó efectos beneficiosos de la inclusión del CIDR entre la GnRH y la PGF2 α tanto en vacas en anestro como en vacas cíclicas (El-Zarkouny et al., 2004). En otro trabajo similar, el DIP (CIDR) incluido en el Ovsynch en vacas que recibieron el protocolo Presynch-Ovsynch incrementó el porcentaje de preñez en vacas con progesterona plasmática > 1 ng/ml al momento de iniciar el Ovsynch y redujo las pérdidas embrionarias entre los días 30 y 55 de gestación. El efecto positivo del CIDR estuvo dado por vacas que tuvieron baja progesterona a la segunda la PGF2 α del Presynch y alta progesterona al iniciar el Ovsynch por lo tanto vacas que estaban en un diestro tardío y en estas vacas el CIDR incremento la tasa de preñez al evitar que las vacas entraran en celo antes de la PGF2 α del Ovsynch (Bartolome et al., 2009).

Luego del primer servicio, el incremento en la eficiencia reproductiva va a depender de la disminución de la mortalidad embrionaria temprana y de una rápida re-inseminación de aquellas vacas que no quedaron preñadas o fallaron en mantener la preñez. Por lo tanto, el primer desafío consiste en detectar las vacas vacías lo antes posible. Existen test de Elisa rápidos que permiten detectar en sangre la presencia de PSPB (día 26) y otras glicoproteínas asociadas a la preñez (día 28), sin embargo, por el momento, el método más rápido, práctico y más utilizado por los veterinarios es la ecografía (día 30) o la palpación (día 35) transrectal del útero. La ecografía y palpación transrectal del tracto genital no solo permite diagnosticar la preñez sino también brindan información sobre las características del útero y estructuras ováricas que reflejan el estado del ciclo estral. Esta información puede ser utilizada, como se mencionó previamente, para iniciar protocolos de resincronización que se ajustan a cada estadio del ciclo estral.

Al momento del examen reproductivo de rutina que se realiza en los rodeos lecheros en forma semanal, quincenal o mensual, las vacas vacías deben asignarse a un protocolo de resincronización. Las vacas en fase folicular (sin cuerpo lúteo), en anestro o con quiste folicular deben recibir una dosis de GnRH a lo cual se le puede agregar un DIP y 7 días más tarde serán tratadas con PGF2 α para luego detectar celo o bien completar el protocolo Ovsynch. Las vacas en diestro (con cuerpo lúteo) al momento del diagnóstico puede recibir PGF2 α para luego inseminar a celo detectado o también iniciar un protocolo Ovsynch si se opta por la IATF. La elección entre detección de celo o IATF va a depender de la eficiencia de la detección. Una alternativa puede ser utilizar el Cosynch-72 que combina detección de celo entre la PGF2 α y las 72 horas más IATF en aquellas vacas que no muestran celo. Una estrategia para acelerar este proceso de resincronización es aplicar la GnRH 7 días antes del diagnóstico de gestación (Bartolomé et al., 2005, Figura 1). Esto permite que al momento del diagnóstico de gestación mayor cantidad de vacas van a presentar un folículo sincronizado y cuerpo lúteo que permita aplicar PGF2 α y completar el Cosynch72. A su vez, vacas que no respondieron a la GnRH y no tienen cuerpo lúteo pueden volver a iniciar el Cosynch72. Los sistemas electrónicos de detección de celo pueden acoplarse a esta estrategia reduciendo la cantidad de vacas que necesitan ser tratadas y eficientizando el trabajo del personal. Aplicando este programa en forma sistemática en rodeos lecheros de nuestro país se logran TP de 21 días de 27 a 28% que aseguran la eficiencia reproductiva, productiva y el crecimiento del rodeo.



Conclusiones

Sin lugar a duda, la selección genética es el futuro en los sistemas de producción animal, no solo porque puede dar lugar a animales más eficientes desde lo productivo y de mejor calidad de la carne sino porque, como está siendo demostrado en el ganado lechero, podría generar animales más fértiles y resistentes a enfermedades. Esto marca un futuro enorme para la ganadería en la producción de alimentos y coloca a la inseminación artificial (además de otras técnicas como la transferencia embrionaria y la fertilización in vitro) como herramientas fundamentales en este proceso.

Los avances en sincronización de celo y ovulación en el ganado de carne permiten que las vacas sean sincronizadas 10 días antes de la fecha de inicio del servicio, y el mismo día un gran número de animales puedan ser inseminados con un toro de alta calidad genética. Además del mejoramiento genético, esta técnica puede contribuir a inducir los celos en animales en anestro, en determinadas ocasiones. La aplicación de esta tecnología ha demostrado incrementa los pesos al destete debido a que mejora la calidad genética y adelanta la fecha de nacimientos de los terneros.

Actualmente existen protocolos de sincronización que utilizan fármacos muy seguros para el consumidor y el medio ambiente, y que permiten sincronizar los animales para poder aplicar la inseminación artificial en situaciones de manejo extensivo en la cría y sistemas intensivos en rodeos lecheros. La combinación de y repaso con toros en los rodeos de cría y la IATF con resincronización y detección de celo con sistemas

electrónicos en los rodeos lecheros, pueden combinarse con el fin de garantizar la eficiencia reproductiva.

Agradecimientos

Agradezco a todas las instituciones (UNLPam, INTA, Swedish International Program for Animal Reproduction, Suecia, Fundación Fulbright y University of Florida, USA) que facilitaron mi desarrollo personal y profesional. A los Dres. Carlos M. Campero, Louis F. Archbald y William W. Thatcher, mis mentores durante todo este tiempo. A mis colegas, compañeros de trabajo y estudiantes que enriquecen y facilitan mi trabajo de todos los días. A todas las instituciones y empresas que financian nuestros trabajos de investigación y extensión. A World Wide Sires LTD por confiar en mi trabajo. A mi familia y amigos por el apoyo de siempre. Por último, mi agradecimiento a la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria por mi nombramiento como Académica Correspondiente.

Literatura citada

- Anderson KJ, Lefever DG, Brinks JS, Odde K. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. *J. Agri-practice* 1991,12:19-26.
- Bartolome JA, Silvestre FT, Arteché ACM, Kamimura S, Archbald LF, Thatcher WW. The use of Ovsynch and Heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy Diagnosis by ultrasonography. *J Anim Sci.*, Vol 80, Suppl. 1/ *J. Dairy Sci.* Vol. 85, Suppl. 1, Abstract 389, pp 99, 2002.
- Bartolome JA, Sozzi A, McHale J, Swift K, Kelbert D, Archbald LF, Thatcher WW. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows. III. Administration of GnRH 23 days post AI and ultrasonography for nonpregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* 2005,63:1643-1658. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.018.
- Bartolome JA, Thatcher WW, Melendez PG, Risco CA, Archbald LF. Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 2005,227:1409-1414. doi: 10.2460/javma.2005.227.1409. doi: 10.2460/javma.2005.227.1409.
- Bartolome JA, van Leeuwen JJJ, Thieme M, Sa'filho OG, Melendez P, Archbald LF, Thatcher WW. Synchronization and resynchronization of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the Ovsynch protocol. *Theriogenology* 2009,72:869-878. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.06.008
- Bilbao MG, Zapata LO, Romero Harry H, Perez Wallace S, Farcey MF, Gelid L, Palomares RA, Ferrer MS, Bartolome JA. Comparison between the 5-day cosynch and 7-day estradiol-based protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in suckled BOS taurus BEEF cows *Theriogenology* 2019,131:72-78. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.01.027.
- Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Tribulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 1994,41:1555-1569 [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90821-Y](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90821-Y).
- Bó GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Pincinato D, Peres L, Maraña D, Avilés M, Menchaca A, Veneranda G & Baruselli PS. Implementación de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de argentina. Proc VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, June 24-26 2005, Córdoba, Argentina, pp 97-128.
- Britt JH, Cushman RA, Dechow CD, Dobson H, Humblot P, Hutjens MF, Jones GA, Mitloehner FM, Ruegg PL, Sheldon IM, Stevenson JS. Review: Perspective on high-performing dairy cows and herds. *Animal* 2021,15:100298. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100298>
- Brunsvén DJ, Cunha AP, Silva CD, Cunha PM, Sterry RA, Silva EPB, Guenther JN, Wiltbank MC. Altering the time of the second gonadotrophin-releasing hormone injection and artificial insemination

- (AI) during the ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2007,91:1044-1052.
- Burke JM, de la Sota RL, Risco CA, Staples CR, Schmitt E-JP, Thatcher WW. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1996,79: 1385-1393.
- Callejas S. Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. Parte II. *Taurus* 2005,7(25):16-35.
- Carvalho MR, Peñagaricano F, Santos JEP, DeVries TJ, McBride BW, Ribeiro ES. Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. *J Dairy Sci* 2019,102:11701–11717. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17025>
- Colazo MG, Rutledge MD, Small JA, Kastelic JP, Siqueira LC, Ward DR, et al. Effects of presynchronization with a used CIDR and treatment with eCG on fertility in lactating cows subjected to a Cosynch protocol. *Reprod Fertil Dev* 2005,17:156.
- Cruppe LH, Day ML, Abreu FM, Kruse S, Lake SL, Biehl MV, Cipriano RS, Mussard ML, Bridges GA. The requirement of GnRH at the beginning of the five-day CO-Synch + controlled internal drug release protocol in beef heifers. *J Anim Sci*. 2014,92:4198-4203. doi: 10.2527/jas.2014-7772
- Dalton JC, Nadir S, Bame JH, Noftsinger M, Nebel RL, Saacke RG. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2001, 84:2413-2418.
- Day ML, Mussard ML, Bridges GA, Burke CR. Controlling the dominant follicle in beef cattle to improve estrous synchronization and early embryonic development. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2010,67:405-419. doi: 10.7313/upo9781907284991.031.
- De la Mata JJ, Bó GA. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en periodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne *Taurus* 2012,55:17-23.
- De Vries A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006,89:3876-3885. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72430-4.
- Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci* 1999, 82:2259-2273.
- El-Zarkouny SZ, Cartmill JA, Hensley BA, Stevenson JS. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J Dairy Sci* 2004,87:1024-1037.
- Ferguson JD, Galligan DT. Prostaglandin synchronization programs in dairy herds-Part I. *The Comp Cont Educ* 1993, *Food Animal*, April: 646-655.
- Geary TW, Salverson RR, Whittier JC. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. *J Anim Sci* 2001,79:2536-2541. doi: 10.2527/2001.79102536x.
- Giordano JO, Stangaferro ML, Wijma R, Chandler WC, Watters RD. Reproductive performance of dairy cows managed with a program aimed at increasing insemination of cows in estrus based on increased physical activity and fertility of timed artificial inseminations. *J Dairy Sci* 2015,98:2488-2501. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8961>
- Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci* 1995,73:2820-2833.
- Hawk HW. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *J Dairy Sci* 1987,70:1487-1503.
- Heersche G, Nebel RL. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *J Dairy Sci* 1994, 77:2754-2761.
- Kasimanickam RK, Firth P, Schuenemann GM, Whitlock BK, Gay JM, Moore DA, Hall JB, Whittier WD. Effect of the first GnRH and two doses of PGF2a in a 5-day progesterone-based CO-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology* 2014,81:797-804. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.12.023.
- Lamb GC, Mercadante VRG. Synchronization and Artificial Insemination Strategies in Beef Cattle. *Vet Clin Food Anim* 2016,32:335-347.
- Larson RL, White BJ. Reproductive systems for North America beef cattle. *Vet Clin Food Anim* 2016, 32:249-266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.001>
- Lauderdale JW. Effects of PGF2a on pregnancy and estrous cycle of cattle. *J Anim Sci* 1972, 35:246 (abst.).
- Lucy MC, Stevenson JS, Call EP. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F2 alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination. *J Dairy Sci* 1986,69:2186-2194.
- Martinez MF, Adams GP, Bergfelt DR, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 1999,57:23-33.
- Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook B, Olson WO, Mapletoft RJ. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology* 2002,57:1049-1059. doi: 10.1016/s0093-691x(01)00682-3

- Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Lopes F, Mattos R, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001,84:1646-1659.
- Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 1984,21:495-504.
- Portaluppi MA, Stevenson JS. Update on AI breeding programs in dairy cattle. *Select Sires Think Tank*, Columbus, OHIO, September 21-22, 2003.
- Portillo GE, Bridges GA, de Araujo JW, Shaw MK, Schrick FN, Thatcher WW, Yelich JV. Response to GnRH on day 6 of the estrous cycle is diminished as the percentage of *Bos indicus* breeding increases in Angus, Brangus, and Brahman x Angus heifers. *Anim Reprod Sci* 2008,103(1-2):38-51. doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.12.008.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 1995,44: 915-923.
- Quintero Rodríguez LE, Rearte R, Domínguez G, de la Sota RL, Madoz LV, Giuliodori MJ. Late embryonic losses in supplemented grazing lactating dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *J Dairy Sci* 2019,102:9481-9487. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16136>.
- Rajakoski E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinol* 1960, 34 (Suppl 52):7-68.
- Reumann AL, Bilbao MG, Moran KD, Lucero Arteaga FE, Franco GF, Yaful GN, Blanco CJ, Bartolomé JA. Impacto de enfermedades posparto sobre el estado metabólico y la fertilidad en vacas lecheras. XIII JORNADAS DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE INMUNOLOGÍA VETERINARIA y JORNADA DE CIENCIA Y TÉCNICA 2021, 18 y 19 de noviembre de 2021, UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA. <http://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/8898>
- Rowson LEA, Teruit R, Brand A. The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. *J Reprod Fert* 1972, 29:145 (abst.)
- Saacke RG, Dalton JC, Nadir S, Nebel RL, Bame JH. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim Rep Sci* 2000, 60-61:663-677.
- Souza, AH, Ayres H, Ferreira RM, Wilbank MC. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2008,70:208-215.
- Stevenson JS, Call EP. Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *J Dairy Sci* 1988,71:2572-2583. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79846-X.
- Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP. Stage of estrous cycle, time of insemination, and seasonal effects on estrus and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F2 α . *J Dairy Sci* 1984,67:1798-1805.
- Thatcher WW, Chenault JR. Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin F2a. *J Dairy Sci* 1975,59:1366-1375.
- Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 1989, 31:149-164.
- Thibault C. Analyse comparee de la fecundation et de ses anomalies chez la brebis, la vache et lapine. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 1967,7:5-23.
- Trimberger, GW, Davis HP. Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various stages of estrus. University of Nebraska, College of Agriculture, Agricultural Experimental extension Research Bulletin 129, 1943.
- Troncoso, M.C., Bilbao, M.G., Zapata, L.O., Gélid, L.F., Farcey, M.F., Morán, K.D., Romero-Harry, H.A., Pérez-Wallace, S., Ludueña, M., Vilchez, A., Franco, G.F., Calvo, C., Bartolomé, J.A. Comparación de la dinámica folicular, el intervalo a la ovulación, la concentración de progesterona y la preñez entre los protocolos CO-Synch y J-Synch en vaquillonas para carne. *Taurus* 2022, 24,96:40-51.
- Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR and Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the vulvatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999, 52: 1067-1078.
- Wolfenson D, Thatcher WW, Savio JD, Badinga L, Lucy MC. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology* 1994;42:633-644.
- Zemjanis R. Examination of the nonpregnant uterus. In: Zemjanis R. ed. *Diagnostic and Therapeutic Techniques in Animal Reproduction*. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1962;47-73