

# **Uso de Resincronización de la Ovulación e Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Vacas Lecheras Negativas al Diagnóstico de Preñez.**

Paul M. Fricke.

Associate Professor. Department of Dairy Science, University of Wisconsin – Madison 1675 Observatory Drive, Madison, WI 53706. Email: pmfricke@wisc.edu

## **1. Introducción.**

En contraste con los sistemas de producción de leche basados en la pradera, en los Estados Unidos el sistema de producción de leche es en base a confinamiento intensivo y en muchos de ellos se han adoptado los protocolos de sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) para presentar las vacas a su primer servicio postparto. A pesar que el desarrollo de programas confiables de sincronización de la ovulación e IATF, mejoran la tasa de servicios a la primera inseminación, y reduce el impacto de una pobre detección de celos, este incremento en la tasa de inseminación artificial (IA) al primer servicio, es a menudo seguida por un desfase, que excede los 60 días, para que las vacas que no se preñan sean nuevamente detectadas en celo y reinseminadas. Para las vacas lecheras estadounidenses, manejadas en sistemas intensivos de producción, se han informado tasas de concepción a la IATF de un 40% o menos (Pursley et al., 1997 a,b; Fricke et al., 1998; Jobst et al., 2000), el 60% o más de las vacas no se preñan y por consiguiente, necesitan de estrategias de resincronización y así agresivamente iniciar su presentación a sus subsecuentes inseminaciones. Se han desarrollado y evaluado, métodos de detección precoz de la no preñez, los que asociados a sistemas hormonales de resincronización, programan a las vacas no preñadas para recibir servicios de IATF, de modo que programas sistemáticos de manejo reproductivo puedan ser agresivamente implementados para gestionar la reproducción (Fricke, 2002).

Durante el período de encaste, un agresivo manejo reproductivo de las vacas en lactancia, incluye tres estrategias que pueden ser implementadas tan pronto como sea posible: 1) presentar a todas las vacas al primer servicio post parto al final del fin del PVE, 2) identificar las vacas no preñadas después de la IA, y 3) volver rápidamente las vacas que no se preñan al primer servicio a un segundo servicio. Reinseminar oportunamente a las vacas en lactancia no preñadas al primer servicio es esencial para incrementar la eficiencia reproductiva y la rentabilidad en un rebaño lechero. Ahora que es relativamente fácil programar el primer servicio post parto, muchos productores preguntan cuál es el mejor programa para identificar a las vacas no preñadas y así programarles el segundo y subsecuentes servicios de IA. A nivel mundial para los diferentes sistemas de gestión reproductiva, se han desarrollado un amplio rango de estrategias de manejo, y la diversidad de estas estrategias han sido revisadas con anterioridad (Lucy et al., 2004). A pesar del hecho que estos estudios han sido dirigidos a resincronizar los celos a grupos de vacas que han sido previamente inseminadas (Chenault et al., 2003), el objetivo de esta revisión es dar una visión global a las estrategias de resincronización de la ovulación e IATF de vacas que no se han preñado en sus anteriores inseminaciones.

## **2. Resincronización de la ovulación (Resynch) utilizando Ovsynch.**

Pursley et al. (1997a) fue el primero en comparar la utilización de Ovsynch como una estrategia de manejo reproductivo sistemática sin detección de celos para un primer y los siguientes servicios de IATF con un programa reproductivo estándar dependiente de la detección de celos.

En tres lecherías comerciales, vacas en lactancia (n=333) fueron asignadas al azar para recibir un manejo reproductivo normal consistente en detección de celo, IA bajo la regla AM/PM, y uso periódico de prostaglandinas (Grupo control) o Ovsynch e IATF sin detección de celo. En las vacas asignadas al grupo Ovsynch se comenzó con la primera inyección de GnRH del protocolo Ovsynch para la resincronización (**Resynch**) después de un diagnóstico de no preñez utilizando ultrasonografía transrectal (US) 32 días después de un primer servicio posparto a tiempo fijo. Las vacas se mantuvieron en su respectivo grupo hasta ser diagnosticadas preñadas o ser eliminadas del rebaño. Aunque las vacas Ovsynch fueron IA más temprano que las vacas Control, la fertilidad de los primeros tres servicios fue similar (Tabla 1). Este estudio demostró por primera vez, que la utilización de Ovsynch podría mejorar el comportamiento reproductivo comparado con el manejo reproductivo estándar utilizando la detección de celos.

**Tabla 1.** Días post parto promedio (PP) a la IA y preñez por IA (P/IA) en vacas Holstein en lactancia inseminadas a celo detectado (Control) o por sincronización de la ovulación (Ovsynch) e IA a tiempo fijo (adaptado de Pursley et al., 1997a).

Tratamiento	Primera IA		Segunda IA		Tercera IA	
	PP (d)	P/IA (%)	PP (d)	P/IA (%)	PP (d)	P/IA (%)
Control	83	39	128	45	170	61
Ovsynch	54	37	96	42	140	48
<i>P</i>	<0.001	>0.25	<0.001	>0.15	<0.001	>0.15

En un subsiguiente ensayo de Resynch usado para investigar la utilización de Ovsynch en la resincronización de vacas no preñadas fue un estudio de campo en el cual no se conocía el estado de preñez de las vacas, ellas recibieron GnRH 20 días después de una primera IATF posparto, y siete días después (día 27) se les practico el diagnóstico de preñez por US y se administro PGF<sub>2α</sub> a las vacas no preñadas (Moreira et al., 2000b). La ventaja de esta estrategia es que el Ovsynch puede ser iniciado 7 días antes del diagnóstico de no preñez, pre tratando a las vacas con GnRH y adicionalmente se reduce el intervalo entre sucesivos servicios de IATF. Las vacas del grupo control fueron reinseminadas después de detectado el celo. Para evaluarles su estatus reproductivo se tomaron muestras de sangre 20 a 27 días después de la IATF y se determino la concentración de progesterona en plasma (**P4**). En las vacas en las que no se observo celo se consideraron preñadas a la inseminación inicial, si la concentración de P4 en plasma fue superior a 2.0 ng/ml, en cambio aquellas que no se observaron en celo y su concentración plasmática de P4 fue igual o inferior a 2.0 ng/ml se consideraron no preñadas a la primera IATF. Inesperadamente, en las vacas pre tratadas con GnRH 20 días después de la IATF, y en base a los niveles de P4 plasmáticos, se observo una interacción estadística entre el pre tratamiento con GnRH y la pérdida embrionaria entre los días 20 y 27 después de la IATF, está fue mayor (P<0.08) en las vacas preñadas y con aplicación de bST (55,6 y 52,4%) que en las que no recibieron bST (39.8 y 44.8%). Basados en esta observación, el pre tratamiento con GnRH antes del diagnóstico de la preñez no fue utilizado como estrategia Resynch durante el resto del ensayo (Moreira et al., 2000b).

Aunque la negativa asociación entre el uso de la GnRH y las perdidas tempranas de preñez reportadas por Moreira et al (2000b) se explica por la interacción entre el uso de bST y el uso de un sistema indirecto para estimación de la gestación, como es la medición de P4 20 días después de una IATF, estos resultados provocaron en la explotaciones lecheras una gran cuestionamiento

sobre las estrategias de resincronización asociadas a pre tratar las vacas, sin conocer su estatus de preñez, con GnRH 7 días antes del diagnóstico de gestación por US. Para responder esta interrogante se realizó un ensayo para evaluar el efecto del pre tratamiento con GnRH sobre la fertilidad y pérdidas de preñez en vacas Holstein en lactancia (Chebel et al., 2003).

En dos lecherías comerciales, 21 días después de una IA programada 585 vacas fueron asignadas aleatoriamente a uno de dos grupos: las inyectadas con 100 ug GnRH (grupo Resynch) o las no tratadas (grupo Control). En el tratamiento de Resynch 28 días después de la inseminación programada se realizó el diagnóstico de preñez por US, las con diagnóstico de preñez negativo recibieron PGF<sub>2α</sub> y continuaron con el resto del protocolo Ovsynch, en cambio las vacas en el grupo Control iniciaron el protocolo Ovsynch al momento del diagnóstico negativo de la preñez. Utilizando este diseño experimental, la exposición de las vacas preñadas a la GnRH se restringió solamente a la vacas en tratamiento Resynch. En las vacas que recibieron una aplicación de GnRH 21 días después de la IA, el tratamiento Resynch no afectó la fertilidad o la pérdida de preñez, comparado con las vacas del grupo control (Tabla 2). Los resultados de este estudio, en conjunto con otros (Fricke et al., 2003), han resuelto la controversia inicial sobre utilización de la GnRH en el pre tratamiento de las vacas antes del diagnóstico de preñez, y la iniciación de los protocolos de resincronización, y muchas lecherías han adoptado esta estrategia.

**Tabla 2.** Efecto de la resincronización con GnRH 21 d después de la IA sobre la preñez al IA (P/IA y pérdidas de preñez (PL) en vacas lecheras en lactancia (adaptado de Chebel et al., 2003).

Ítem		Control (n=295)	Resynch (n=290)	P
P/AI (%)	28 d post IA	33.6	33.1	0.80
	42 d post IA	26.8	27.0	0.98
PL (%)	28 a 42 d post IA	17.9	17.9	0.73

### 3. Resynch Rápido

En vacas de alta producción el desarrollo folicular tiene lugar en la forma de dos ondas que resultan de la presencia de un folículo dominante apto para la ovulación tanto los días 5 al 10 como en los días 16 al 21 del ciclo estral (Ginther et al., 1996). Adicionalmente, un CL reactivo a la luteolisis inducida por PGF<sub>2α</sub> está presente en el ganado lechero a partir del día 6 del ciclo (Momont and Seguin, 1984). Asumiendo la duración del ciclo estral de 21 a 23 días, las vacas deben estar alrededor de los días 5 a 7 de sus ciclos cuando son diagnosticadas no preñadas utilizando US 28 días después de un servicio de IA, etapa en la que la mayoría de ellas deberían tener un cuerpo lúteo (CL) reactivo a la luteolisis inducida por PGF<sub>2α</sub> y la presencia de un folículo dominante de primera onda, capaz de ovular en respuesta a la aplicación de GnRH. En base a estos supuestos, un protocolo Resynch abreviado en el cual la primera aplicación de GnRH fue omitida y la PGF<sub>2α</sub> es administrada al momento del diagnóstico de no preñez, realizado por US el día 28 después de una IATF para inducir la regresión del CL, y aplicando GnRH 2 días después para obtener la ovulación del folículo dominante, y así hacer posible una IATF (Lucy et al., 2004). Esta estrategia ha sido denominada “Resynch rápido” y ha sido probada en varios estudios.

Para testear la estrategia de Resynch rápido, Stevenson et al. (2003) compararon tres estrategias de reinseminación, en las cuales, las vacas no preñadas, diagnóstico realizado con US 27 a 29

días después de un primer servicio de IATF, fueron reinseminadas sin detección de celo. En tres lecherías comerciales las vacas negativas al diagnóstico de preñez fueron asignadas aleatoriamente en tres grupos; uno que no recibió ningún tratamiento y la reinseminación se realizó por detección visual de celos (Control; n=189), y otro al cual se le aplicó PGF<sub>2α</sub> y fueron reinseminadas por detección visual de celos o sino presentaron celo IATF 72 a 80 h después de la aplicación de PGF<sub>2α</sub> (PGF; n=108), y finalmente un último grupo que recibió PGF<sub>2α</sub> seguida de una aplicación de GnRH 48 h más tarde, seguida de una IATF 16 a 20 h después de la aplicación de la GnRH (PGF + GnRH; e.g., Resynch rápido). Contando después de la primera IATF las vacas tratadas fueron reinseminadas antes ( $P < 0.01$ ;  $31 \pm 1$  d) que los controles ( $55 \pm 1$  d), y no hubo diferencias en fertilidad entre los tres tratamientos (Tabla 3).

**Tabla 3.** Rendimiento reproductivo de vacas en lactancia resincronizadas después de un diagnóstico de no preñez el día 27 o 29 después de un primer servicio a tiempo fijo (adaptado de Stevenson et al., 2003).

Ítem	Tratamiento					
	Control		PGF		PGF + GnRH	
	d o %	n	d o %	n	d o %	n
Días a la reinseminación	55 ± 1	189	31 ± 2	108	31 ± 1	160
Tasa de Concepción	22.8	189	22.2	108	23.3	160
Al celo			27.2	81	33.3	9
IATF			7.4	27	23.2	151

De igual modo, Myer et al., (2004) dirigió un ensayo en el cual se realizó el diagnóstico de preñez por US 28 d después de la IATF y el día 29 les administró PGF<sub>2α</sub> a las vacas no preñadas seguido por GnRH e IATF 48 h más tarde. Las vacas (n=154) pre tratadas con GnRH 22 d después de la IATF (Ovsynch) se compararon con las vacas en las que se utilizó Resynch rápido sin pre tratamiento de GnRH. La fertilidad no fue significativamente diferente entre tratamientos Ovsynch y Resynch rápido (24.6 vs. 23.9 %, respectivamente). A pesar que la estrategia de Resynch rápido tiene su mérito, antes de su aplicación es necesario tener en consideración los temas asociados a la seguridad y confiabilidad del diagnóstico precoz de no preñez utilizando US (vea más adelante en la sección 5).

#### **4. Efecto sobre la Fertilidad al Sincronizar el Inicio del Programa Resynch después de un Primer Servicio a Tiempo Fijo.**

Se realizó un ensayo de campo en el cual se compararon tres intervalos entre la primera IATF y la resincronización de la ovulación en un rebaño comercial que utiliza la ultrasonografía (US) para diagnóstico temprano de preñez (Fricke et al., 2003). Se utilizaron 711 vacas en lactancia, las que después de un programa Presynch + Ovsynch e IATF fueron asignadas al azar en tres diferentes esquemas del protocolo Resynch. En el primer tratamiento (Día 19), todas las vacas (n=235) recibieron una inyección de GnRH el día 19 después de la IATF y se continuó con un protocolo Ovsynch si se diagnosticaban no preñadas por US el día 26 post IATF. El segundo tratamiento (Día 26) incluyó 240 vacas mientras el tercero (Día 33) incluyó 236, en este caso el programa Resynch fue iniciado después del diagnóstico de no preñez por US el día 26 o el día 33 post IATF. Para cada uno de los tres grupos, se escogió iniciar el protocolo Resynch un día Martes, así las vacas de los diferentes grupos recibirían el tratamiento asignado en los mismos

días de la semana (Tabla 4). Implícito en el diseño experimental, en los tres tratamientos, la primera medición de preñez no fue realizada a los mismos intervalos después de Presynch + Ovsynch e IATF.

**Tabla 4.** Esquema Synch y Resynch para tratamiento Resynch de D33 (Fricke et al., 2003).

Domingo	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado
Semana 1		PGF				
Semana 2						
Semana 3		PGF				
Semana 4						
Semana 5		GnRH				
Semana 6		PGF		GnRH		
Semana 7						
Semana 8						
Semana 9		d19				
Semana 10		d26				
Semana 11		d 33 GnRH				
Semana 12		DG+PGF		GnRH		

PGF = prostaglandina F<sub>2α</sub>, GnRH = hormona liberadora de gonadotropinas, DG = diagnóstico de preñez

El diagnóstico de preñez fue realizado 26 días después en los tratamientos D19 y D26, mientras que se realizó 33 días después en el tratamiento D33. La P/IA total después de la IATF fue un 40%, y fue mayor en los grupos D19 y D26 que en el grupo D33 (Tabla 5). La explicación para esta diferencia probablemente sea la mayor mortalidad embrionaria que se evidencia en D33 por el incremento entre el intervalo entre IATF y el diagnóstico de preñez (26 vs 33 días). Cuando se realizó el diagnóstico de confirmación de preñez 68 días después de la IATF, la P/IA total alcanzó a un 31% y no hubo diferencias entre los tratamientos (Tabla 5).

**Tabla 5.** Preñeces por inseminación artificial (P/IA) y preñeces perdidas después de inseminación artificial a tiempo fijo (IAT) post Ovsynch (adaptado de Fricke et al., 2003).

Ítem	Tratamiento			
	D19	D26	D33	Todos
Intervalo entre Ovsynch IAT a 1 <sup>er</sup> examen de preñez (d)	26	26	33	-
P/IA al 1 <sup>er</sup> examen de preñez, % (no./no.)	46 <sup>a</sup> (108/235)	42 <sup>a</sup> (101/240)	33 <sup>b</sup> (77/236)	40 (286/711)
Intervalo entre Ovsynch IAT al 2 <sup>do</sup> examen de preñez (d)	68	68	68	-
P/IA al 2 <sup>do</sup> examen de preñez, % (no./no.)	33 (78/235)	30 (73/240)	29 (68/236)	31 (219/711)
Intervalo entre exámenes de preñez (d)	42	42	35	-
Preñeces perdidas, % (no./no.)	28 <sup>a</sup> (30/108)	28 <sup>a</sup> (28/101)	12 <sup>b</sup> (9/77)	23 (67/286)

<sup>a,b</sup> Entre columnas, porcentajes con diferentes índices son estadísticamente diferentes ( $P < 0.01$ ).

Así, las diferencias en P/IA al primer diagnóstico de preñez y las pérdidas de preñez entre el primer y segundo diagnóstico de preñez representan un artefacto de las diferencias del momento

en el cual se realiza el examen de gestación después de la IATF, efecto inherente al diseño experimental más que a diferencias entre los tratamientos. La P/IA total a Resynch fue 32% y fue mayor en los tratamientos D26 y D33 que en D19 (Tabla 6). Así, en este experimento el protocolo Resynch más agresivo presentó un inaceptablemente bajo nivel de fertilidad comparado con retrasar Resynch de 7 a 14 días. Desafortunadamente, en este estudio, la comparación directa de la fertilidad obtenida en los tratamientos D26 y D33 tiene confundido el efecto de los 7 días de diferencia en el primer diagnóstico de preñez realizado después de Resynch e IATF.

**Tabla 6.** Preñeces por inseminación artificial (P/IA) después de inseminación a tiempo fijo (IAT) post Resynch iniciado a 19, 26, o 33 d después de IAT (adaptado de Fricke et al., 2003).

Ítem	Tratamiento			Todos
	D19	D26	D33	
Intervalo Medio ( $\pm$ SEM) entre Resynch IAT al examen de preñez (d) (rango)	27.1 $\pm$ 0.4 (26 a 54)	26.6 $\pm$ 0.2 (26 a 40)	33.7 $\pm$ 0.4 (26 a 75)	-
P/IA, % (n)	23 <sup>a</sup> (120)	34 <sup>b</sup> (121)	38 <sup>b</sup> (143)	32 (384)

<sup>a,b</sup> Entre columnas, porcentajes con diferentes índices son estadísticamente diferentes ( $P < 0.01$ ).

Con el fin de evaluar las diferencias en fertilidad entre los tratamientos Resynch D26 y D33, se realizó un estudio de seguimiento (Sterry et al., 2006a), en el cual 763 vacas Holstein en lactancia, con diferentes días en leche, servicios previos de IA y con diagnóstico de preñez negativo, se asignaron al azar en programas para sincronización de la ovulación mediante IATF. Para ambos grupos el diagnóstico de gestación se realizó el día 33, recibiendo las vacas del grupo D26 una aplicación de GnRH 26 días después de la IATF previa (día 0), continuando con el protocolo Resynch sólo si se resultaban al negativas al diagnóstico de preñez, mientras que las vacas del grupo D33 iniciaron su protocolo Resynch al momento de ser diagnosticadas negativas a la preñez. Al momento del examen, también se clasificaron si se observaba o no se observaba un cuerpo lúteo (CL), las que no presentaron CL recibieron un dispositivo interno de liberación controlada de droga (CIDR) durante el Resynch.

Cuando se analizó como una estrategia sistemática, la fertilidad fue mayor para las vacas del tratamiento D33 que para las del tratamiento D26 (39.4 vs. 28.6 %). Se detectó una interacción entre el número ordinal de parto y P/IA después de Resynch para vacas no preñadas con CL, las vacas de primer parto mostraron mayor P/IA que vacas multíparas tanto en D33 como D26. Interesantemente, en otro estudio con un diseño similar; pero realizado en una lechería diferente, en un rebaño de 1.079 vacas Holstein en lactancia, al comparar los tratamientos Resynch D26 y D33 no se observó dicha interacción entre número ordinal de parto y fertilidad (Silva et al., no publicado). Después de la IATF resincronizada, las preñeces perdidas alcanzaron un 6,4% entre los 33 a 40 días y a un 2,6% entre los 40 a 61 días. Así, el retrasar la iniciación del Resynch hasta 33 días después de la IATF aumenta la P/IA en vacas primíparas. Adicionalmente, pre-tratar todas las vacas con GnRH 33 días después una IATF y retrasar el diagnóstico de preñez a 40 días post IATF permitiría tomar acciones sobre el 6,4% de las vacas que se espera puedan perder la preñez entre los 33 a 40 días post IATF.

## 5. Implicaciones del Diagnóstico Precoz de Gestación y de la Mortalidad Embrionaria en los Protocolos Resynch.

El ultrasonido ha sido la tecnología que ha hecho posible la aplicación precoz del protocolo Resynch, y ella ha sido adoptada por los médicos veterinarios que atienden bovinos en los Estados Unidos. El diagnóstico precoz de la preñez incrementa el rendimiento reproductivo al disminuir el intervalo entre sucesivos servicios de IA y acopla el diagnóstico de no preñez con una rápida y agresiva estrategia para reinseminar las vacas (Fricke, 2002). A pesar que por mucho tiempo se ha aceptado, como algo positivo, que la preñez debe ser diagnosticada tan temprano como sea posible después de la IA, en el resultado se ha mezclado lo precoz y seguro del diagnóstico con las pérdidas embrionarias tempranas. (Studer, 1969; Melrose, 1979). Investigaciones recientes sobre la utilización en la práctica del diagnóstico temprano de preñez mediante US, asociado a programas sistemáticos de sincronización y resincronización han confirmado la noción que el diagnóstico puede estar siendo hecho demasiado pronto e ilustra los peligros y limitaciones del diagnóstico precoz de preñez en vacas en lactancia (Fricke et al., 2003).

Las pérdidas embrionarias disminuyen los beneficios del diagnóstico temprano de preñez de dos maneras. Primero, como un gran número de ellas ocurre precozmente, la magnitud de la pérdida de post IATF será mayor según qué tan precozmente se realice el diagnóstico positivo. Así, dependiendo de lo precoz que el diagnóstico de preñez con US sea realizado post IATF, algunas vacas no preñadas no serán identificadas y no podrán ser incluidas en un programa de resincronización precoz. Segundo y más importante, las vacas diagnosticadas preñadas precozmente después de la IAT tienen una más alta probabilidad de perder la preñez comparadas con las vacas a las cuales se les realiza más tardíamente el diagnóstico. Si las vacas diagnosticadas preñadas precozmente post IATF y que subsecuentemente pierden su preñez no son identificadas, la eficiencia reproductiva se reduce al extenderse el lapso entre el parto y la concepción que dará origen a un siguiente parto.

La seguridad de los resultados de preñez obtenidos utilizando US después de IATF fueron evaluados en un ensayo a campo. Este fue realizado en un rebaño de 877 vacas Holstein (Silva et al., 2006), y a lo largo de todo el estudio, el examen de preñez fue efectuado por un mismo veterinario 27 días después de la primera IATF post parto. Los resultados se clasificaron como: preñadas (**PG**)<sup>1</sup>; preñez cuestionable uno (**QP1**)<sup>2</sup>; preñez cuestionable dos (**QP2**)<sup>3</sup>; preñez perdida (**PL**)<sup>4</sup>; no preñada (**NP**)<sup>5</sup>. Los resultados obtenidos por US fueron comparados con los diagnósticos PG o NP basados en la detección de la glicoproteína asociada a la preñez (**PAG**) mediante ELISA en muestras de sangre tomadas al momento de realizar el US (Tabla 7). Las vacas en las que los resultados de US y PAG eran iguales se consideraron correctos, mientras que para las vacas en que no hubo resultados concordantes se les rechequeó la preñez por US 32 días después de la IAT. Éstos resultados demuestran que aunque la concordancia entre los diagnósticos por PAG y US a los 27 días post IATF fue aceptable, los obtenidos para QP1, QP2 y PL (23,9% de los resultados totales de US post IATF) fueron menos precisos que los

---

<sup>1</sup> (**PG**) = CL, fluido uterino normal, embrión visualizado

<sup>2</sup> (**QP1**)<sup>2</sup> = CL, fluido uterino normal, embrión no visualizado

<sup>3</sup> (**QP2**)<sup>3</sup> = CL, fluido uterino anormal, embrión no visualizado

<sup>4</sup> (**PL**)<sup>4</sup> = embrión inviable; no preñada

<sup>5</sup> (**NP**)<sup>5</sup> = no presencia de CL y/o fluido uterino

resultados para PG o NP. En base a ellos, la precisión del diagnóstico precoz utilizando US 27 días post IATF fue menor que cuando se realizó a los 30 días después de la IATF.

**Tabla 7.** Precisión de los resultados de preñez por ultrasonografía transrectal (US) realizada el día 27 o 39 después de una inseminación a tiempo fijo (IATF) (adaptado de Silva et al., 2006).

US Score	Precisión 27 d después IAT				Precisión 39 d después IAT			
	Frecuencia % (n)		Incorrecto % (n)		Frecuencia % (n)		Incorrecto % (n)	
PG	17.3	(1903)	2.7	(328)	47.8	(1321)	0.1	(631)
QP1	19.9	(1903)	10.0	(372)	1.3	(1321)	5.9	(17)
QP2	3.4	(1903)	56.7	(60)	0.0	(0)	0.0	(0)
PL	0.6	(1903)	18.2	(11)	1.5	(1321)	0.0	(16)
NP	58.7	(1903)	1.9	(1112)	49.4	(1321)	0.3	(644)

## 6. Optimización de los Protocolos Resynch

Puesto que en el protocolo Resynch los resultados en fertilidad en vacas sin CL presente a la primera inyección de GnRH o PGF<sub>2α</sub> son inferiores que los obtenidos en vacas con CL (Fricke et al., 2003), los tratamientos alternativos orientados a incrementar la fertilidad tomando en cuenta el estado del ciclo estral al inicio del protocolo Resynch pueden en conjunto mejorar mucho más una estrategia de resincronización. Para optimizar la fertilidad de Resynch IAT, Bartolome et al. (2005) asignó las vacas a tratar según el estado de su ciclo estral (e.g., diestro, metaestro proestro, anovular, o quístico) al momento del diagnóstico de no preñez realizado por US y palpación a los 30 días post IA (d 0). Las vacas en diestro fueron resincronizadas usando Resynch (n=156) o Quicksynch Modificado (PGF<sub>2α</sub>, d 0; ciproionato de estradiol [ECP], d 1; AI a celo detectado [AIDE], d 2; y Ovsynch en el d 4 si no se detectó celo; n=142), mientras que las vacas en metaestro fueron sincronizadas utilizando Resynch (n=68), Heatsynch (GnRH, d 0; PGF<sub>2α</sub>, d 7; ECP, d 8; AIDE, d 9; o IAT, d 10; n=62), o GnRH + Resynch (GnRH, d 0; Resynch, d 8; n=64). Para vacas en diestro, P/AI 55 d post IA fue similar para Resynch (24%) y Quicksynch Modificado (26%). Para vacas en metaestro, P/IA 55 d post IA fue mayor para GnRH + Resynch (25%) que para Heatsynch (13%). Para las vacas con ovarios quísticos (n=97), P/IA 55 d post IA fue mayor con GnRH + Resynch (27%) que con Resynch (19%). Así la asignación del tratamiento Resynch en base a la estimación del estado del ciclo estral o la presencia de ovarios quísticos incrementó la fertilidad en este estudio.

Otra estrategia para optimizar la fertilidad de Resynch e IAT ha sido determinar el intervalo óptimo después IAT y el inicio del protocolo Resynch basado en supuestos relativos a la fisiología del ciclo estral (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 2006b). Suponiendo que un ciclo estral dura de 21 a 23 d, la iniciación de Resynch 32 a 33 d tras la IAT debe garantizar que la primera inyección de GnRH en el protocolo Resynch se aplique entre los días 5 a 12 del ciclo estral, etapa del ciclo en la cual un CL debe estar presente y que resulta en una mayor fecundidad cuando el protocolo Ovsynch es iniciado (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000). A pesar de esta lógica, a un 16% a 22% de las vacas les falta un CL el 33 d tras IAT (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 1995e) esto sugiere que en las vacas existe una significativa “deriva biológica” en las etapas del ciclo estral después de una sincronización utilizando Resynch + Ovsynch e IAT. La razón de esta deriva biológica entre las vacas incluye la variación normal en la duración del ciclo estral, la incidencia de las pérdidas de preñez que ocurren después de los 24



d tras la IAT y el subsecuente retorno al celo, y/o a la pérdida de sincronía entre Presynch + Ovsynch.

Después de una IATF, en cualquier grupo de vacas, ocurre una normal variación biológica en la presentación de los celos siguientes, una aproximación alternativa para reducirla puede ser pre-sincronizar las vacas antes de la iniciación del protocolo Resynch. En un estudio preliminar (Silva et al., no publicado), se efectuó el diagnóstico de preñez el día 31 después de un programa inicial de IATF. Las vacas con un diagnóstico negativo (n=593) se asignaron al azar en uno de dos tratamientos Resynch. Un grupo recibió la primera inyección de GnRH del protocolo Resynch 32 días después del servicio previo. El otro grupo fue pre sincronizado utilizando una sola inyección de PGF<sub>2α</sub> 34 días después de la anterior IATF, y recibieron la primera inyección de GnRH del protocolo Resynch 12 días más tarde (Presynch + Resynch). Los resultados preliminares muestran un aumento de la fertilidad en el protocolo Resynch IATF debido al pre sincronización tanto en vacas primíparas como multíparas (Tabla 8). Interesantemente, este efecto de la pre sincronización sobre la fertilidad del protocolo Resynch IAT es de similar magnitud que el reportado para Presynch + Ovsynch (Moreira et al., 2001; Navanukraw et al., 2004). Aunque Presynch + Resynch mejoraron la fertilidad en los programas de IATF comparada con un intervalo de 32 días estándar para Resynch, el intervalo total a la IATF se incremento en 14 días. Se necesita investigación adicional para determinar si el efecto en la tasa de preñez es superior al obtenido con la utilización de un programa estándar de Resynch con IATF a los 32 días.

**Tabla 8.** Preñeces por IA (P/IA) 66 d post IAT (IAT) en protocolo Resynch iniciado 32 días post primera IATF (Resynch) o un protocolo Resynch pre sincronizado (Presynch + Resynch) (Silva et al., no publicado).

		Tratamiento				
		Resynch	Presynch + Resynch			
Primíparas	Multíparas	Primíparas	Multíparas	Tratamiento	Parto	Interacción
23.8	25.2	35.0	31.6	0.02	0.69	0.50

## 7. Cumplimiento del Protocolo es Clave.

La base fisiológica de los protocolos hormonales que permiten la inseminación a tiempo fijo como Ovsynch y Presynch, han sido extensivamente investigados y continúan siendo un tópico de activa investigación entre los científicos lecheros que estudian la biología reproductiva, y los escenarios fisiológicos dirigidos a reducir o simplificar estos protocolos o los mecanismos por los cuales éstos protocolos pueden mejorar la reproducción han sido reexaminados y comunicados (Cordoba and Fricke, 2002; Navanukraw et al., 2004).

Tanto la investigación científica como la evidencia anecdótica dan sustento a la idea que Ovsynch y Presynch trabajan bien para las vacas de alta producción manejadas bajo sistemas en confinamiento en Norte América. Muchos factores afectan el rendimiento reproductivo, y muchos asesores han observado un amplio rango de respuestas entre rebaños que han adoptado exactamente un mismo protocolo. La reducción del rendimiento en estos protocolos rara vez se debe a las respuestas fisiológicas de vacas individuales al protocolo hormonal, pero la mayoría de las veces pueden ser atribuidas a causas propias de cada lechería. Para obtener éxito con éstos protocolos hormonales, cada granja tiene que desarrollar un sistema para administrar

correctamente las inyecciones en las vacas correctas y los días correctos, luego subsecuentemente IA las vacas correctas. Un protocolo estándar Presynch/Ovsynch para presentar vacas al primer servicio requiere que cada vaca individual reciba 5 inyecciones consecutivas en un apropiado esquema de inyecciones. Fallas en la administración de alguna de estas 5 inyecciones reduce dramáticamente o completamente la probabilidad de concepción a la primera IA a tiempo fijo y como último resultado genera una demora en el logro de la preñez. Para un lechería que logra obtener una precisión de un 95% en el protocolo de inyección para cada día (e.g., 95% de las vacas que deben ser inyectadas lo son), en promedio aproximadamente una de cada cuatro vacas no podrá completar exitosamente el protocolo de 5 inyecciones del esquema Presynch/Ovsynch (e.g.,  $0.95 \times 0.95 \times 0.95 \times 0.95 \times 0.95 = 0.77$ ). Así, nada menos que un 100% de ajuste al protocolo debe ser considerado aceptable. Por lo tanto, lecherías que no puedan obtener cerca de un 100% de cumplimiento con los protocolos deben considerar otros métodos para incrementar la tasa de servicios como la detección visual de celos y el uso de ayudas para la detección de los mismos.

## 8. Conclusiones

Aunque el acoplamiento del diagnóstico de no preñez con la decisión de rápidamente reiniciar los servicios de IA pueden mejorar eficiencia reproductiva al disminuir el intervalo entre servicios de IA, la mortalidad embrionaria y el efecto del estado fisiológico post servicio pueden limitar la efectividad de las estrategias de Resynch rápido presentadas acá. Así, una estrategia Resynch aconsejable es pre tratar a todas las vacas con GnRH 7 d antes del diagnóstico de preñez, o sea, 32 a 33 d después de la IATF, identificar en el diagnóstico a las vacas que fallaron en la concepción a la IATF y aplicarles PGF<sub>2α</sub> 39 a 40 d después de la IATF y completar el protocolo Resynch. Esta recomendación se basa en datos que muestran que aplicación precoces de Resynch; a los 19 o 26 d después de la IATF no reditúan con una gran fertilidad (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 2006) y la noción que el diagnóstico de preñez debe retrasarse el mayor tiempo posible después de la IATF y durante Resynch garantizar que el resultado del diagnóstico utilizando US no se confunda con las subsecuentes perdidas de preñez (Silva et al., 2006). Una ventaja práctica de aplicar Resynch en un intervalo 32 a 33 d es que el número de semanas entre la IATF y el protocolo siempre resulta en un número par y por consiguiente es más fácilmente implementado en rebaños que practican el diagnóstico de preñez cada quince días. Finalmente, y a pesar que la pre sincronización aumenta la fertilidad en Resynch e IATF, se necesita más investigación para determinar si esta estrategia mejora la tasa de preñez de 21 días, en comparación con la recomendación de utilizar Resynch 32 a 33 d después de la IATF.

## 9. Literatura Citada

- Bartolome, J. A., A. Sozzi, J. McHale, P. Melendez, A.C.M. Arteché, F. T. Silvestre, D. Kelbert, K. Swift, L. F. Archbald, and W. W. Thatcher. 2005. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows. II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology*. 63:1628-1642.
- Chebel, R. C., J. E. P. Santos, R. L. A. Cerri, K. N. Galvao, S. O. Juchem, and W. W. Thatcher. 2003. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology* 60:1389-1399.

- Chenault, J. R., J. F. Boucher, K. J. Dame, J. A. Meyer, and S. L. Wood-Follis. 2003. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2039-2049.
- Cordoba, M. C. and P. M. Fricke. 2002. Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy by synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 85:1752-1763.
- Fricke, P. M. 2002. Scanning the future – Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:1918-1926.
- Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *J. Dairy Sci.* 86:3941-3950.
- Fricke, P. M., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 50:1275-1284.
- Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, and K. Kot. 1996. Minireview: Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55:1187-1194.
- Jobst, S. M., R. L. Nebel, M. L. McGilliard, and K. D. Pelzer. 2000. Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , gonadotropin-releasing hormone, and timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:2366-2372.
- Lucy, M. C., S. McDourall, and D. P. Nation. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:495-512.
- Melrose DR. 1979. The need for, and possible methods of application of, hormone assay techniques for improving reproductive efficiency. *Br. Vet. J.* 135:453-459.
- Meyer, J. P., R. P. Radcliff, M. L. Rhoads, J. F. Bader, C. N. Murphy, and M. C. Lucy. 2004. Factorial analysis of timed AI (TAI) protocols for synchronization of first and second insemination in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):256.
- Momont, H. W., and B. E. Seguin. 1984. Influence of day of estrous cycle on response to  $PGF_{2\alpha}$  products: implications for AI programs for dairy cattle. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Congr. Anim. Reprod. and AI*, University of Illinois, Urbana-Champaign, IL. June 10-14.
- Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000a. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78:1568-1576.
- Moreira, F., C. A. Risco, M. F. A. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, and W. W. Thatcher. 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Navanukraw, C., D. A. Redmer, L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, and P.M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:1551-1557.
- Pursley, J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
- Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J.S. Ottobre, H. A. Garverick, and L. L. Anderson. 1997b. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.

- Silva, E. B. P., R. A. Sterry, D. Kolb, N. Mathialagan, M. F. McGrath, J. M. Ballam, and P. M. Fricke. 2006. Accuracy of pregnancy diagnosis in Holstein cows using transrectal ultrasonography based on a serum pregnancy associated glycoprotein (PAG) ELISA. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):204.
- Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2006a. Effect of interval from timed AI to initiation of resynchronization of ovulation using Ovsynch on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:2099-2109.
- Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2006b. Treatment with GnRH after first timed AI improves fertility in noncycling lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:4237-4245.
- Stevenson, J. S., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and S. Z. El-Zarkouny. 2003. Conception rates of dairy cows following early not-pregnant diagnosis by ultrasonography and subsequent treatments with shortened Ovsynch protocol. *Theriogenology* 60:475-483.
- Studer E. 1969. Early pregnancy diagnosis and fetal death. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 64:613-617.
- Vasconcelos, J.L.M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078.