

CAPÍTULO XVII

MOMENTO ÓPTIMO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CELO NATURAL Y SINCRONIZADO EN BOVINOS

- I. INTRODUCCIÓN
- II. FACTORES QUE AFECTAN EL MOMENTO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
 - 1. Duración del ciclo estral y del celo
 - 2. Momento de ovulación
 - 3. Vida fértil del óvulo
 - 4. Vida fértil de los espermatozoides
 - 5. Transporte de los espermatozoides en el aparato genital femenino
 - 6. Transporte del Óvulo
 - 7. Condición del aparato reproductor femenino
- III. FERTILIDAD Y MOMENTO DE INSEMINACION DURANTE EL CELO NATURAL
- IV. ¿QUÉ MOMENTO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL ELEGIR?
- V. FERTILIDAD Y MOMENTO DE I.A. DURANTE EL CELO SINCRONIZADO
- VI. MOMENTOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.
 - 1. I.A. sistemática en momentos fijos (predeterminados).
 - 2. I.A. en relación con el momento del celo observado
- VII. ESTRATEGIAS Y MOMENTOS DE I.A. CON USO DE PGF2
- VIII. ¿POR QUÉ ES NECESARIA LA DETECCION DE CELO?
- IX. LITERATURA CITADA

Tomas Rodríguez Hernández

I. INTRODUCCIÓN

El momento óptimo de inseminación artificial se refiere al instante durante el cual el material seminal del macho es depositado en los genitales femeninos para que se realice la fecundación en forma exitosa. El hecho de que la ovulación en bovinos suceda a diferentes lapsos de tiempo, en relación con el inicio o final del celo, favorece que la unión del óvulo con el espermatozoide puede ocurrir a diferentes momentos después de la inseminación artificial.

Además, del tiempo de presentación de la ovulación, el momento óptimo de inseminación artificial es afectado por otra serie de factores, como son la duración del ciclo estral y del celo, la vida fértil y el transporte de los gametos como la condición del útero y del resto del aparato reproductor femenino. Establecer el momento óptimo de servicio permitirá reducir el número de servicios por concepción y el intervalo entre partos, producir más leche y más becerros nacidos, lográndose así una mayor eficiencia reproductiva y productiva.

Durante el celo sincronizado, la inseminación suele realizarse en relación con el celo observado, pero también los animales son servidos en forma sistemática en momentos fijos, independientes de la presentación del celo, por lo que no es necesario disponer de tiempo para la detección del celo. De esa forma se agrupan los servicios y se obtienen becerros de edad uniforme. No obstante, la fertilidad tiende a ser menor cuando se insemina en momentos predeterminados que durante el celo observado.

Una de las grandes limitantes en la fijación precisa del momento óptimo de inseminación está relacionada con el reconocimiento del inicio del celo, lo cual está muy asociado con la frecuencia y duración de las observaciones de la actividad sexual. Por ello, con el fin de complementar la observación visual del celo, se han desarrollado variadas tecnologías que facilitan y mejoran la precisión en la detección del celo, siendo algunas de ellas aplicables a nivel de finca en el país.

II. FACTORES QUE AFECTAN EL MOMENTO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Entre los factores más directamente relacionados con el momento óptimo de inseminación artificial podemos destacar están la duración del ciclo estral y del celo, momento de ovulación, vida fértil y transporte del óvulo y de los espermatozoides y la condición del aparato reproductor femenino. A esto se agrega, que los amplios rangos de fertilidad en los diferentes momentos de inseminación artificial pueden ser debidos al efecto combinado o acumulado de varios factores, entre los que se incluyen la frecuencia y duración de las observaciones y los métodos utilizados en la detección de celo.

1. Duración del ciclo estral y del celo

En la hembra bovina el ciclo estral ocurre cada 21 días, oscilando entre 17 y 25 días, atribuyéndose esa variación a edad, raza y estación climática, no obstante, un amplio porcentaje de animales no presentan celo dentro de este rango, lo cual significa ciclos estrales más cortos o más largos, admitiéndose que en estos casos

la concepción es más baja. En animales mestizos doble propósito tipo mosaico en Venezuela, se ha determinado medias del ciclo estral entre 21 y 29 días con un mode de 20-21d y un promedio de $21.3 \pm 2.4d$ [12].

Las fases del ciclo estral son: proestro, estro, metaestro y diestro. Cada una tiene una duración diferente; así el estro, caracterizado como el momento de mayor intensidad sexual y de aceptación de la monta, tiene una duración media que varía entre 14 y 18 horas en vacas y entre 11 y 16 en novillas, sin embargo, han sido reportadas amplias variaciones, tanto en duración como en intensidad del celo, siendo atribuidas a factores como la raza, edad, estación del año, temperatura ambiental, presencia del toro, nutrición y producción láctea. En áreas tropicales, el estro tiene una duración menor que el promedio observado en zonas templadas, con mayor manifestación de celo entre la 6:00 p.m. y 6:00 a.m. [2, 13]. También el celo es menos intenso y más corto en animales *Bos indicus* que *Bos taurus*. En ganado lechero europeo en ambientes cálidos, el estrés de calor afecta el ciclo estral y la ovulación, reduce la intensidad y duración del celo y en casos extremos se manifiesta el anestro [15, 19]. Para ganado Cebú se ha indicado que el celo dura entre 9,6 y 18,9 horas [34], mientras que en ganado mestizo doble propósito, en Venezuela, la duración del celo se ha estimado en $16,4 \pm 5,2$ horas [13]. Igualmente se ha señalado una relativa mayor duración del celo natural ($21,7 \pm 0,3$ horas) que el celo sincronizado ($19,8 \pm 0,7$ horas) con análogos de las prostaglandinas F2 [22]).

2. Momento de ovulación

La ovulación abarca la maduración progresiva del folículo ovárico que culmina con el rompimiento de sus paredes y la liberación del óvulo maduro. Se presenta en el bovino entre 25–30 horas después de la iniciación del estro, en la fase de metaestro. Sin embargo, se han encontrado rangos de 2 a 26 horas en vacas y entre 2 2/3 y 18 horas en novillas [30]. Al considerar como referencia fisiológica la finalización del estro, se han determinado valores de 10 a 15 horas en vacas y de 11 horas en novillas, existiendo diferencias debido a período climático, régimen nutricional, manejo y raza. Además podemos agregar, que la ovulación en bovinos puede ser influida negativamente por daños psíquicos como el temor o físicos como maltratos en relación con el momento de la inseminación artificial. Por el contrario, influye positivamente un buen trato al animal durante el servicio, la adecuada manipulación del tracto reproductivo y la presencia de toros [20]. Así mismo, el masaje manual del clítoris o del útero después de la inseminación reduce en más de 4 horas el intervalo del inicio del estro hasta la oleada ovulatoria de LH, acortando en 4 horas el lapso de inicio del estro a la ovulación [33].

Aún cuando la manifestación del celo y la ovulación son actividades fisiológicas altamente relacionadas pueden ocurrir desajustes que determinan la presentación del celo sin ovulación o de un celo ovulatorio sin manifestación psicológica de comportamiento (celo silencioso).

3. Vida fértil del óvulo

El período de permanencia máximo durante el cual el óvulo es capaz de ser fecundado y desarrollarse, es lo que se conoce como vida fértil del óvulo. Numerosas investigaciones han sido realizadas con el fin de determinar el tiempo en

que el óvulo del bovino, luego de la deshincencia folicular, puede permanecer con vida fértil en el tracto genital esperando a los espermatozoides que lleguen y lo fecunden [24]. Se ha demostrado que el tiempo de vida fecundante del óvulo bovino es de 12 a 24 horas. La pérdida de la viabilidad de los óvulos es gradual por lo que durante su envejecimiento tienen capacidad para ser fertilizados normalmente, pudiendo o no implantarse; la implantación puede generar embriones no viables que mueren durante el desarrollo de la gestación de la hembra bovina. La disminución de la fertilidad o de la capacidad de producir embriones viables en el óvulo comienza entre 6 y 8 horas post-ovulación, la cual, sin duda, es más rápida que en el espermatozoide [24].

4. Vida fértil de los espermatozoides

La vida fértil de los espermatozoides es de 30 a 48 horas siendo muy breve en la vagina y mucho más prolongada en el cuello uterino. De allí que al igual que el óvulo, el envejecimiento del espermatozoide puede causar mortalidad embrionaria temprana, luego de la fertilización.

La duración de la motilidad y de la capacidad fertilizante de los espermatozoides está determinada por la calidad del semen, por el número de espermatozoides que alcanzan la vagina, el útero y el oviducto y por el tiempo que han tardado a su paso por cada uno de dichos órganos, así como por el grado de dilución sufrido por el semen al mezclarse con los fluidos de tales órganos; igualmente, también influye la situación endocrina de la hembra y el consecuente estado funcional del tracto femenino [41].

5. Transporte de los espermatozoides en el aparato genital femenino

En la mayoría de los mamíferos, el transporte de los espermatozoides es rápido, y estos llegan al oviducto poco después de la inseminación artificial en un tiempo que en bovinos se ha estimado en 4,3 minutos [46]. La mayor concentración de espermatozoides se encuentra en el lugar de deposición seminal; la cantidad de espermatozoides disminuye rápidamente en dirección ovárica, de manera que pocas células llegan al lugar de encuentro gamético en los oviductos [24]. La movilización espermática está afectada positivamente por temperaturas entre 41 y 42°C y disminuye por el aumento de viscosidad de la dilución del semen, y por incremento del número y edad de las células [39]. En su movilización, los espermatozoides tienen que invertir algunas horas en el aparato genital femenino, antes de adquirir la capacidad de fecundar al óvulo; este fenómeno conocido como capacitación dura alrededor de seis horas y en condiciones naturales ocurre en el oviducto [6,17].

Para el transporte de los espermatozoides, las contracciones de la musculatura del aparato reproductivo de la hembra desempeñan un papel muy importante, pero también puede estar involucrada la actividad secretora del tracto reproductivo femenino y la motilidad espermática [8]. Las contracciones se incrementan en el útero por unos momentos luego de la monta y cerca del final del celo y pueden ser estimuladas por la presencia del macho, la monta natural, el masaje del clítoris y de los genitales femeninos, aunque el miedo y el estrés pueden disminuir las contracciones, debido al incremento de adrenalina que afecta la acción de

la oxitocina [6, 18]. Otros factores que pueden influenciar la movilización espermática incluyen el lugar de colocación del semen, la cantidad y condición de los espermatozoides y momentos del estro. Además, los factores físico-químicos e inmunológicos en la vagina y en el cuello uterino al momento de la inseminación desempeñan un importante papel en la supervivencia del espermatozoide y en su movilización hasta el útero y oviducto [17, 21].

6. Transporte del Óvulo

Luego de la ruptura del folículo, el óvulo es atrapado en la superficie ovárica por el infundíbulo y conducido hasta la ampolla del oviducto donde ocurre la fertilización. El transporte del óvulo en el oviducto se realiza mediante contracciones musculares, movimiento de los cilios y la actividad secretora del epitelio, mecanismos que están regulados por el balance estrógeno-progesterona. Al momento de llegar el óvulo al sitio de fertilización, los espermatozoides se encuentran esperándolo; sin embargo, la movilización del óvulo puede fallar en diferentes puntos: ya que puede quedarse en el folículo o caer en la cavidad peritoneal [8].

7. Condición del aparato reproductor femenino

El momento adecuado de inseminación no indica solamente el tiempo conveniente durante el ciclo estrual para alcanzar la exitosa unión del óvulo y de la célula espermática, sino que implica también óptimas condiciones cíclicas del tracto reproductivo femenino que afectan la probabilidad de que la hembra bovina llegue a concebir [39]. Al instante de realizarse la inseminación, los genitales femeninos deben estar libres de enfermedades y luego del parto el útero debe haberse recuperado completamente. En ambiente uterino alterado debido a infecciones puede ocurrir la muerte de los gametos masculinos y femeninos como del óvulo recién fertilizado.

Se ha indicado que la involución uterina ocurre generalmente entre 25 y 50 días post-parto, presentándose la primera ovulación entre 15 y 45 días luego del parto (celo silencioso), generalmente antes del primer celo post-parto. En ganado lechero puro (Holsten y Pardo Suizo), evaluado en Venezuela, se ha determinado que el primer celo post-parto aparece entre 32,5 y 59,6 días [36], mientras que en animales mestizos doble propósito varía de 108 a 146 días (12). El celo post-parto, además del manejo, condiciones climáticas y tipo racial, también está influenciado por algunos problemas que afectan la expresión o la observación de celos, ya sea de tipo orgánico como la inactividad o atrofia ovárica o de tipo funcional como los celos silenciosos o celos normales no detectados [12].

La involución uterina puede ser afectada por alteraciones del periparto tales como: distocia, retención de membranas fetales, metritis, hipocalcemia, cetosis y parto gemelares. Al alterarse el proceso de involución se puede retrasar el reinicio de la actividad cíclica post-parto, lo que determina atraso en el intervalo parto-concepción (días vacíos). A ello se agrega, que el estrés del parto, inicio de la lactación y el amamantamiento ejercen un bloqueo endocrino sobre el reinicio de la actividad ovárica, alargando igualmente el intervalo parto-concepción [15, 28].

Como norma práctica se ha recomendado que las vacas no deben cubrirse antes de 50 días después del parto [14]. Además, se ha señalado que por razones

de producción, cuando se desean reducir los intervalos entre partos, lo mejor es servir las vacas en celo a partir de 40 días después del parto, aunque cabe esperar una tasa de concepción baja [39]. La comparación de vacas inseminadas al primero, segundo y tercer celo post-parto que correspondían a 40, 67 y 104 días determinaron porcentajes de preñez de 55,5; 62,5 y 57,1, respectivamente [35].

III. FERTILIDAD Y MOMENTO DE INSEMINACIÓN DURANTE EL CELO NATURAL

Para la determinación del mejor momento de inseminación artificial en bovinos, se han empleado diferentes rangos de tiempo que oscilan entre 0 y 48 horas luego del inicio del celo, observándose notables diferencias en relación con la tasa de concepción. Diversos estudios evidencian mejores resultados de fertilidad cuando se han inseminado las hembras bovinas entre 0 y 6 horas, 6 a 12, 12 a 24 e incluso entre 28 a 31 horas del celo manifiesto [3, 7, 29, 36, 44]. En una amplia comparación de momentos de inseminación han determinado valores de fertilidad de 20,0, 56,5, 58,4, 62,8, 65,7, 65,9 57,0 y 46,0% para los servicios entre: 3, 5-8, 9-15, 16-20, 22-27, 28-31, 32,35 y 36-40 horas después del inicio del celo [29]. Otros resultados sugieren que los mejores momentos de inseminación se ubican entre 16 y 31 horas después del inicio del celo, obteniéndose una fertilidad bastante aceptable para los momentos de I.A. entre 5 y 35 horas, luego del comienzo del celo.

En varias regiones de Venezuela y con distintos genotipos, se han encontrado, igualmente, variaciones de fertilidad a diferentes momentos de inseminación artificial, obteniéndose, las mejores respuestas en animales inseminados en el rango de 12 a 18 horas del celo observado (Cuadro 1). La comparación de fertilidad de tres momentos (0-2, 6-8 y 12 horas del inicio del celo) dentro de grupos genéticos [36], determinó que en Holstein y mestizos lecheros *Bos taurus* la mejor fertilidad se observó en inseminaciones realizadas a 12 horas del celo; por el contrario en animales mosaico Criollo-Cebú la mejor respuesta se obtuvo en los momentos de 6 a 8 y a 12 horas después del celo observado (Cuadro 2). En estos estudios, la fertilidad para momentos cercanos al inicio del celo presentan valores adecuados, los cuales se corresponden con datos reportados, bajo condiciones subtropicales de Estados Unidos, en Texas [3] y en Florida [9], quienes señalaron valores de fertilidad superiores o ligeramente menores cuando el momento de inseminación es a hora comparado con la inseminación a 12 horas después del celo.

La relación entre inseminación artificial, antes y después de la ovulación con la fertilidad, también ha sido estudiada, encontrándose que el porcentaje de concepción es mayor cuando la I.A. es realizada antes que después de la ovulación, lográndose las mejores respuestas entre 7 y 24 horas antes del proceso ovulatorio [1, 44]) y una la máxima fertilidad con inseminaciones efectuadas de 13 a 18 horas antes de la ovulación. Al realizar la inseminación artificial 6 horas antes o después de la ovulación, la fertilidad tiende a ser más baja [1, 24].

Por lo antes descrito, puede señalarse que cuando una hembra bovina es servida al inicio del celo y mucho antes de la ovulación, los espermatozoides van a estar relativamente envejecidos al instante de encontrarse con el óvulo para la fer-

Cuadro 1
Fertilidad en bovinos a diferentes momentos de inseminación artificial en Venezuela

Horas dps. del inicio del celo	Observ. N°	Fertilidad %	Región (Referencia)	Tipos Raciales
Menor de 6	132	39,4	Edo. Zulia [14]	Mestizos
6-12	592	47,3		<i>Bos indicus</i>
12-18	458	63,5		y <i>Bos taurus</i>
18-24	197	56,3		
Mayor de 24	62	37,1		
0 - 2	203	49,9	Edo. Monagas [36]	Mos. Criollo-Cebú
6 - 8	207	47,1		Mestizo Lechero <i>Bos taurus</i> y Holstein
12	136	55,1		
0 - 2	25	40,0	Edo. Bolívar [34]	Holstein y Mestizos
6 - 8	25	52,0		Pardo Suizo x Cebú
12 - 14	25	60,0		
18 - 20	25	32,0		
0	65	62,5	Edo. Aragua [7]	Holstein
12	80	68,3		
0	91	58,2	Edo. Mérida [7]	Jersey y Criollo
12	105	85,1		
0	15	33,3	Edo. Yaracuy [38]	Novillas
12	11	45,4		Brahman
24	12	25,0		

tilización; por el contrario, si los animales son inseminados mucho tiempo después de haber finalizado el celo, puede darse el caso que el óvulo puede no estar totalmente viable al unirse al espermatozoide. En ambas situaciones pueden ocurrir fallas de fertilización o posteriormente, mortalidad embrionaria, las cuales son indicativos de que la inseminación no se realizó en los momentos más óptimos para lograr una buena fertilidad.

Cuadro 2
Fertilidad en tres momentos de inseminación después del inicio del celo en mosaico criollo-cebu, holstein y mestizos *Bos-taurus*

Horas después del inicio del celo	Tasa de Fertilidad (%)		
	Mosaico Criollo-Cebú	Holstein	Mestizos Bos Taurus
0 - 2	48,4	44,5	53,7
6 - 8	49,0	33,6	49,2
12	23,4	55,1	63,4

Fuente: Rodríguez Hernández et al [36].

IV. ¿QUÉ MOMENTO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL ELEGIR?

Para propósitos prácticos de inseminación artificial se ha establecido la regla antes del mediodía o pasado el mediodía (am/pm-pm/am) o regla mañana-tarde (Cuadro 3), la cual ha sido usada exitosamente a través del mundo. Esta norma recomienda que las hembras bovinas observadas en celo en la mañana sean inseminadas en la tarde o en la noche del mismo día, mientras que animales que muestran estro en la tarde o noche serían servidas en la mañana del día siguiente. Esto equivale a realizar la inseminación en un rango aproximado de 7 a 15 horas, luego del celo observado. Es posible, que en muchos casos se realice el servicio antes o después del rango señalado anteriormente; a ello se agrega que la inseminación se efectúe antes del inicio o mucho después de terminado el período estral, debido a la imprecisión en la detección del celo, afectándose las posibilidades de concepción.

Cuadro 3
Inseminación artificial según regla A.M. - P.M [45]

Manifestación del celo	Momento adecuado de inseminación artificial	Momento tardío para buenos resultados
En la mañana	Tarde o noche del mismo día	Día siguiente
En la tarde o en la noche	Antes del medio día del día siguiente	Luego de las 2 p.m. del siguiente día

Los resultados obtenidos en diferentes momentos de I.A. en ganado vacuno, particularmente los encontrados en Venezuela (Cuadros 1 y 2), señalan que existen “rangos de momentos de I.A. de mayor fertilidad” ubicados entre 6 y 24 horas después del celo manifiesto y “rangos de momentos de I.A. de menor fertilidad” situados entre 0 y 6 horas y luego de 24 horas del inicio del celo. Posiblemente, por ello se ha cuestionado la existencia de un momento óptimo de inseminación [16]. La amplitud en los diferentes rangos para realizar la inseminación artificial y su relación con la fertilidad, debería ser considerada en situaciones en los cuales se dificulte el ajuste de la inseminación, según la regla am- pm. En esos casos específicos (días feriados, horas nocturnas, etc.), la inseminación podría realizarse en las primeras horas del inicio o al final del celo, esperándose posiblemente una tasa de fertilidad menor que si se inseminara 12 horas después de la observación del celo. En aquellos casos, en los que se espera una mayor posibilidad de concepción, la doble inseminación es recomendable con un primer servicio entre 6 y 10 horas, mientras que el segundo servicio se efectuaría en el lapso de 12 a 18 horas, ambas después del inicio del celo.

Uno de los problemas que se pueden presentar en cualquier explotación de ganado vacuno está relacionado con animales próximos a entrar en celo, según los registros, pero que sólo muestran signos débiles y celos silencioso. En estos casos, cabe la alternativa que al detectarse alguna manifestación fisiológica secundaria del celo (secreción de mucus a través de la vagina, vulva inflamada, raspados en la parte posterior, inquietud o se logre detectar un folículo maduro

a la palpación rectal, etc.) el animal sea inseminado con alguna posibilidad de éxito, tomando en consideración el amplio rango de fertilidad desde el inicio hasta más allá del final del celo.

V. FERTILIDAD Y MOMENTO DE I.A. DURANTE EL CELO SINCRONIZADO

En la sincronización del celo se han usado diferentes métodos o protocolos hormonales, en los cuales los compuestos fundamentales han sido los progestágenos, progesterona y las prostaglandina F2 alfa y sus análogos. La inseminación artificial se ha realizado en diferentes momentos del celo observado y en forma sistemática o a ciegas, en momentos predeterminados.

En vacas, 5 días después del celo, se forma un cuerpo lúteo que produce progesterona. Esta estructura ovárica es destruida 12 días después por la acción de la PGF2 generada en el útero, lo que determina que los niveles de progesterona en la sangre bajen considerablemente hasta su nivel basal. Posteriormente, bajo el estímulo del factor liberador de gonadotropinas del hipotálamo (GnRH), la FSH y LH de la hipófisis actúan sobre el ovario produciendo desarrollo y maduración folicular, secreción de estrógenos, ovulación y el desarrollo del cuerpo lúteo, fenómenos que suceden en forma cíclica. Con la sincronización del celo los procesos hormonales y fisiológicos se modifican, permitiendo que un número determinado de animales, manifiesten celo y ovulación en forma simultánea y dentro de lapsos cortos, siendo servidos en pocos días. La técnica permite agrupar las pariciones, reducir el intervalo entre parto y obtener becerros uniformes en edad, lo cual es de mucha utilidad en ganaderías de carne y doble propósito.

El uso de prostaglandinas F2 y sus análogos, como clorprostenol y dinoprost en la sincronización del celo es debido a que causan regresión del cuerpo lúteo. Estos productos, solamente son efectivos entre los días 6 y 16 del ciclo estral cuando el cuerpo lúteo está presente. Su aplicación es mediante inyecciones en una dosis o en doble dosis a intervalos de 10–4 días, seguida por la manifestación del celo entre 2 y 5 días post-tratamiento, presentándose una mayor proporción de hembras en celo entre 48 y 72 horas, luego de la aplicación hormonal.

La utilización de progesterona y progestágenos en el control del ciclo estral, se debe a su efecto inhibitorio sobre la liberación cíclica de FSH y LH. Entre los productos utilizados se incluyen norgestomet, acetato de melengestrol (MGA), PRID y CIDR, administrándose como aditivos en el alimento, inyecciones, implantes subcutáneos y dispositivos vaginales, durante lapsos no mayores de 14 días, aunque para mantener una fertilidad aceptable estas sustancias no deben ser mantenidas por más de 8 a 12 días [28]. Luego del tratamiento, el celo se manifiesta en mayor proporción 2 a 3 días después.

La prostaglandina F2 y sus análogos más la progesterona y progestágenos se han aplicado en diferentes combinaciones hormonales, a fin de hacer más efectiva la sincronización de la ovulación y la fertilidad. Estas han incluido: Prostaglandina F2 más progestágenos y GnRH, progestágenos y estrógenos y

progestágenos con estrógenos y prostaglandina F₂. La utilización de estrógenos como el estradiol conjuntamente con progestágenos estimula la destrucción del cuerpo lúteo, incrementando el número de animales sincronizados y disminuyendo la variación en la presentación del celo [5]. Además, la eficiencia de los progestágenos en la sincronización y fertilidad se puede mejorar antes o después de terminado el tratamiento con la aplicación de agentes luteolíticos (PG2 y análogos). Por otro lado, la mayor efectividad de la prostaglandina F₂ cuando se administra entre los días 10 al 15 del ciclo estral sugiere su uso después de 17 días del retiro del progestágeno [23, 28].

En la combinación con prostaglandina F₂, la GnRH aplicada al inicio del tratamiento sincroniza la oleada folicular, lo cual provoca luteinización del folículo dominante con independencia de la existencia de un cuerpo lúteo o no y el desarrollo de una nueva onda folicular 2 a 3 días más tarde; 7 a 9 días después provoca la regresión del cuerpo lúteo mediante la aplicación de PGF₂ [27, 42].

La sincronización del celo con estos compuestos se hace tanto en novillas como en vacas, sin embargo, en vacas que están criando se recomienda la separación de la cría, debido al efecto de bloqueo parcial del amamantamiento sobre la actividad reproductora. En los diferentes métodos que usan progestágenos y PGF₂, descritos en el cuadro 4, la separación del becerro se realiza por lapsos de tiempo que oscilan entre 48 y 72 horas, luego de la finalización o retiro del progestágeno o de la última aplicación de la PGF₂ [42].

VI. MOMENTOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Durante el celo sincronizado el momento de inseminación artificial se ha realizado a momentos fijos predeterminados y durante el celo observado.

1. I.A. sistemática en momentos fijos (predeterminados).

Esta se lleva a cabo, sin detección del estro en períodos cortos de tiempo dentro del rango de mayor probabilidad de ocurrencia de la ovulación, lo cual depende del método o protocolo hormonal empleado (Cuadro 4). En el caso de doble dosis de PGF₂, la ovulación ocurre mayormente al tercer día luego del tratamiento [26], mientras que al usar doble dosis de GnRH mas una dosis de prostaglandina F₂ (método ovsynch), la ovulación se presenta entre 24 y 32 horas luego de la segunda dosis de GnRH [31].

En varios estudios con PGF₂ y syncromate B se han obtenido bajos valores de fertilidad comparados con I.A. a celo observado con o sin tratamiento hormonal. Esto puede estar relacionado con el número de animales que ovulan antes o después del rango establecido para el momento de inseminación artificial. En todo caso existe gran variación en los porcentajes de concepción en relación con los diferentes métodos empleados (Cuadro 4).

Cuadro 4
Fertilidad en momentos fijos de inseminación (I.A. sistemática)
en relación con el celo sincronizado usando diferentes métodos hormonales

Métodos Hormonales	Tratamiento	Momento Fijo de I.A. Post-Tratam.	Fertilidad (%)
Syncromate B	Implante de progesterona e inyección de estrógeno al inicio, retiro del implante el día 10	48 – 54 horas post retiro del implante	36 – 43
MGA y PGF2 α	Consumo de MGA por 14 días. El día 17 aplicar PGF2 α	60-72 horas post PGF2 α	—
GnRH y PGF2 α	GnRH al inicio, 7-9 días después inyectar PGF2 α	48 – 60 horas post – PGF2 α	50 – 80
GnRH, Norgestomet y PGF2 α	GnRH al inicio más implante de norgestomet por 9 días. Luego PGF2 α y 48 horas después GnRH.	16 horas post segunda GnRH	59
Ovsynch	GnRH al inicio, PGF2 α 7-9d dps; luego de 48 horas aplicar GnRH.	0, 8, 16, 24 y 32 horas post 2 ^{da} GnRH	35 – 57
PGF2 α	Una dosis con cuerpo lúteo presente. Dos dosis a intervalo de 10 – 14 días.	72 – 96 post tratamiento	21 – 75

Fuente: Corah et al [4], Geary et al [11], Larson [23], Pursley et al [31], Thatcher et al [42], Thompson et al [43], Yamada et al [47].

2. I.A. en relación con el momento del celo observado

Se han usado los momentos de 0 a 12 horas de la manifestación del celo o inseminación según la regla mañana–tarde. El momento de I.A. a 12 horas del celo observado ha sido el más utilizado.

Se ha reportado igualmente que cuando se utiliza una combinación de las alternativas anteriores, la inseminación artificial se inicia al momento del celo observado inmediatamente después del tratamiento hormonal, extendiéndose hasta el inicio del periodo del momento fijo del servicio. Posteriormente los animales que no hallan mostrado celo se servirán dentro del momento fijo establecido para cada combinación o método hormonal (Cuadro 4).

VII. ESTRATEGIAS Y MOMENTOS DE I.A. CON USO DE PGF2 α

La prostaglandina F2 y sus análogos son las sustancias más usadas para la sincronización del celo en bovinos. Para su aplicación se han desarrollado varios planes o estrategias, con y sin detección del celo [17, 23, 26]. En principio, la prostaglandina F2 se puede aplicar luego de determinar un cuerpo lúteo por palpación

rectal, realizándose posteriormente la inseminación artificial a celo observado dentro de los 5 y 6 días posteriores o en forma sistemática en momento fijo.

La primera estrategia consiste en realizar la detección de celo durante 5 a 6 días y realizar la I.A. a celo observado. Al siguiente día (día 6 ó 7), a los animales que no mostraron estro se les inyecta PGF2 . Estos animales deberán tener cuerpo lúteo formado o estar en etapa de regresión del cuerpo lúteo próximos a presentar un celo natural. La observación de celo se continuará por 5 a 6 días luego de la PGF2 y la I.A. se efectuará al celo observado o en el momento predeterminado.

Otra estrategia consiste en inyectar todos los animales con PGF2 e inserminación al celo observado durante 5-6 días. Entre los animales tratados, los que están entre 0-5 días no tienen cuerpo lúteo formado y por lo tanto no responderán a la PGF2. A estos animales se les aplica una segunda dosis de PGF2 , 10-14 días después de la primera inyección. Igualmente, se realiza la I.A. al celo observado durante 5-6 días o en momentos fijos predeterminados.

La última estrategia consiste en aplicar una doble dosis de prostaglandina F2 en intervalos de 10-14 días; en esta alternativa, no se realiza la detección de celo luego de la primera inyección. Al instante de aplicarse la segunda dosis de PGF2 , todos los animales tratados con la primera inyección tendrán un cuerpo lúteo formado. La I.A. se realizará al celo observado durante los siguientes 5-6 días o en forma sistemática en momentos fijos.

La inseminación artificial a celo observado, podrá realizarse preferentemente 12 horas después de la manifestación del celo o según la regla mañana-tarde. La I.A. en momento fijo se efectuará sin detección de celo entre 72 y 96 horas luego del tratamiento hormonal con una o dos dosis de PGF2 , pudiéndose utilizar una o dos inseminaciones. En el primer caso, el servicio podría realizarse a las 80 horas, mientras que con dos inseminaciones, la primera se podría efectuar a 72 horas y la segunda a 90-96 horas, luego del tratamiento hormonal.

VIII. ¿POR QUÉ ES NECESARIA LA DETECCIÓN DE CELO?

El establecimiento del momento óptimo de I.A. requiere de la determinación del inicio del celo, ya que las fallas en la detección de la actividad sexual resultan en largos intervalos entre partos, pérdidas en producción de leche y menor número de animales nacidos. Por ello, el estro deberá ser identificado en forma segura y precisa; al mismo tiempo deberán determinarse los animales que ciclan normalmente y los no cíclicos. El anestro, principal problema que afecta la reproducción en rebaños mestizos que utilizan la I.A. en Venezuela, está muy relacionado con problemas en la detección del celo [12].

Un programa de detección de celo deberá considerar la frecuencia, duración, hora y continuidad de las observaciones, un personal capacitado con conocimientos sobre el comportamiento del celo y la utilización de medios auxiliares que complementen la observación visual. La variación en intensidad y duración del celo indican que mientras mayor sea el número de observaciones diarias, más posibilidad habrá de determinar, en forma más precisa y segura el inicio del celo.

A ello se agrega que las observaciones deberían realizarse con durante un tiempo de 20 a 30 minutos. En condiciones tropicales, donde los animales presentan celos más cortos es recomendable establecer entre 3 y 4 observaciones diarias. Los momentos de observación podrán ser muy temprano en la mañana, a mediados de la mañana, al final de la tarde y antes de la media noche, es decir, cada 6 horas, enfatizando los cuidados cuando se trata de celos sincronizados. La ventaja de la detección de celo en animales bajo programa de sincronización, radica en que se conoce cuales animales deben observarse y cuando pueden venir en celo.

En Venezuela, se ha determinado que los momentos de mayor porcentaje de celo en ganado mestizo doble propósito ocurrieron entre 10:00 p.m. y 4:00 a.m. (38%), 6:00 p.m. a 6:00 a.m. (56%) y entre 6:00 a.m. y 12:00 m (32%). Con tres periodos de observación, la detección de celo fue de 72% y con cuatro de 84%, mientras que con dos observaciones ocasionales solamente 54% de animales se encontraron en celo [12].

Los problemas de detección del celo relacionados con el animal incluyen: celos silenciosos y cortos, celos nocturnos y ciclos estrales más cortos y largos que lo normal. Esto puede estar atribuido a fallas humanas y técnicas relacionadas con un bajo número de observaciones, chequeos en horas inapropiadas, reducido tiempo de observación y fallas de continuidad, particularmente, los fines de semana, días feriados y durante la noche.

Con relación a los signos de celo, se acepta que el comportamiento más seguro para saber si una hembra bovina presenta celo, es que permita la monta por otras hembras o machos. No obstante, pueden ser de gran ayuda los signos secundarios como intentos de montar a otras hembras, mugidos o bramidos, intranquilidad, mayor movilidad, elevación de la raíz de la cola, presencia de mucus en la vulva, vulva hinchada y húmeda, etc. Estas evidencias pueden variar en duración e intensidad presentándose antes, al momento y luego de finalizar el celo.

En la detección del celo, además de la observación visual, se han utilizado medios auxiliares como toros intervenidos quirúrgicamente y hembras y novillos androgenizados, usados como retajos; parches marcadores colocados en la base de la cola de la vaca, collares marcadores colocados bajo los maxilares de los retajos, evaluación de progesterona en sangre o leche para confirmar la actividad ovárica, determinación de folículos y cuerpos lúteos por palpación rectal, pedómetros colocados en las vacas que registran la actividad del animal y permiten predecir el celo, sonda vaginal para determinar la proximidad del celo mediante la medición de la resistencia eléctrica del mucus cervical, dispositivos que analizan la variación del olor perineal y uso de circuitos cerrados de televisión y sensores, entre otros. La detección de celo puede ser complementada con uso de registros que incluyan la fecha del servicio y del celo. Es recomendable utilizar tipos de identificación que faciliten la observación de los animales en celo a cierta distancia y en horas nocturnas y el uso de buenos registros de predicción del próximo celo que permitan una revisión diaria para identificar cuáles animales están próximos a entrar en celo, con el fin de hacer un seguimiento más cuidadoso.

En conclusión, este trabajo permite clarificar lo complejo que es determinar el momento óptimo de I.A. y al mismo tiempo la importancia que tiene para un programa de mejora todo incremento de la fertilidad en la ganadería bovina.

IX. LITERATURA CITADA

- [1] Aschabacher, P.W., Smith, V.R. and Stone, V.H. 1956. Observations on fertility following insemination at three stages of the same estrus. *J. Anim. Sci.* 19: 952.
- [2] Baca Fuentes, J.R. 1998. Comportamiento reproductivo de vacas *Bos taurus x Bos indicus* bajo programas de inseminación artificial a estro sincronizado y natural en condiciones del trópico seco de Costa Rica. *Vet. Mex.* 29: 67.
- [3] Broadway, J.L. 1973. Optimum time of artificial insemination of bovine species at various times of year. M.S. Thesis, Texas A&M University. College Station. Texas. 27 p.
- [4] Corah, L.R.; Larson, L.R. and Viker, S.V. 1992. Eficacy of timed insemination following MGA/PG synchronization in yearling beef heifers. *J. Anim. Sci.* 70: 43 (Suppl 1).
- [5] Dailey, R.A., Jaimes, R.E., Inskeep, E.K., Washburn, S.P. and Price, J.C. 1983. Synchronization of estrus in dairy heifers with prostaglandin F₂ alfa with or without estradiol benzoate. *J. Dairy Sci.* 66:881.
- [6] Einarson, S. 1980. Site, transport and fate of inseminated semen. In 9th International Congress on Animal Reproduction and A.I. I:147.
- [7] Fenton, F.R. y Martínez, N. 1980. Momento óptimo para la inseminación artificial en dos zonas climáticas de Venezuela. *Prod. Anim. Trop.* 5:281.
- [8] Fernández, S. y Valencia, J.. 1986. Transporte de gametos y fertilización. En *Reproducción de animales domésticos*. Limusa. México. pp. 99-112.
- [9] Fields, M.J., Warnick, C.C., Wise, T., Bass, J. and Koger, M. 1975. A reevaluation of artificial insemination in beef cattle *J. Animal Sci.* 40:119.
- [10] Foote, R.H. 1978. Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.* 58:248.
- [11] Geary, T.W.; Downing, E.R., Lefever, D.G., Whittier, J.C, Nett, T. and Niswender, G. 1997. Pregnancy rates of cows synchronized with synchromate or the ovsynch protocol and time inseminated. *J. Anim. Sci.* 75:107 (Suppl 1).
- [12] González-Stagnaro, C. 1992. Fisiología reproductiva en vacas mestizas de doble propósito. En *Ganadería mestiza de doble propósito*. C. González-Stagnaro y E. Soto Belloso (ed). Ed. Astrodata Maracaibo. pp. 155-187.
- [13] González-Stagnaro, C., Goicochea, J. y Ramírez, L. 1992. Integración de la determinación de progesterona en programas de diagnóstico y control de la reproducción en vacas mestizas. En *Ganadería mestiza de doble propósito*. C. González-Stagnaro y E. Soto Belloso (ed). Ed. Astro Data Maracaibo. pp. 205 - 231.
- [14] González-Stagnaro, C., Goicochea, J., Madrid, N. 1999. Momento de inseminación en vacas y novillas mestizas. *ITEA. (ESPAÑA)*. 20:675.
- [15] González-Stagnaro, C., Soto, E., Goicochea, J., González, R., Soto, G. 1989. Identificación de los factores causales y control del anestro, principal problema reproductivo en la ganadería doble propósito. Banco Consolidado. Caracas. 90 pp.
- [16] Gwazdauskas, F.C. 1978. The effect of time of insemination on conception rate in dairy herds. *Naab. Proc. 7th. Tech. Conf. Artif. Insem. Reprod.* p.p. 92-96.

- [17] Hafez, E.S.E. 1985. Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. Interamericana. Madrid. 599 pp.
- [18] Hawk, H.W. 1986. Transport and rate of spermatozoa after insemination of cattle. *J. Dairy. Sci.* 70:1487.
- [19] Her, E., Wolfenson, D., Flamebaun, I., Fulman, Y., Kaim, M. A. and Berman, A. 1988. Thermal productive and reproductive response of high yielding cows exposed to short - term cooling summer. *J. Dairy. Sci.* 71: 1085.
- [20] Holy, L. 1986. Bases biológicas de la reproducción bovina. Diana. México. 464 pp.
- [21] Hunter, R.M. 1981. Transport and storage of spermatozoa in the female tract *In* 9th International Congress on Animal Reproduction and A.I. Madrid. II:227.
- [22] Jaume, C.M., Leal, J.A., Pérez, Z., Bruschi, J.M., De Carvalho, M.R. de, Villas Novas, J.C. and Megale, F. 1981. Duration of oestrus and time of ovulation in cross breed Friesian x Cebú heifers with or without synchronization of oestrus *In* 9 International Congress on Animal Reproduction and A.I. Madrid Vol. 37.
- [23] Larson, B. 2000. Timed insemination of heifers following the MGA/prostaglandin estrous synchronization system. http://www.angus.org/journal/97_02feb/vet-call.htm.
- [24] Mc Donald, L.E. 1991. Endocrinología veterinaria y reproducción. Interamericana. Mc Graw Hill. México. 551 p.
- [25] Max, A., Witkoski, M., Jurka, P. and Boryczko, Z. 1994. Clinical and ultrasound graphic evaluation of ovarian structure and ovulation in heifers after luteolysis with PGF2. *Medycyna Weteryaryjna.* 50:276.
- [26] Morrow, D.A. 2000. Bovine estrous synchronization. <http://lam.vet.uga.edu/LAM/LM000025.HTM>.
- [27] Pedroso, R., Stable, J. y ORTIZ, R.. 1992. Mejoramiento de la fertilidad en vacas holstein repetidoras del celo mediante el uso de un análogo de LH --RF. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 15:177.
- [28] Pedroso, R. y Roller, F. 1997. Tecnologías para la regulación del ciclo estral, la superovulación y el diagnóstico precoz de la gestación en el ganado bovino., Revisión bibliográfica. *Rev. Cub. Reprod. Anim.* 23:1.
- [29] Pérez y Pérez, F. 1985. Reproducción animal, inseminación artificial y transplante de embriones. Científico Médica. Madrid. 897 p.
- [30] Plasse, D., Warnick, A.C. and Koger, M. 1970. Reproductive behavior of *Bos indicus* females in a subtropical environment. IV Length of estrous cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization and embryo survival in grade Brahman heifers. *J. Anim. Sci.* 30:63.
- [31] Pursley, J.R., Silcox, R. and Wiltbank. M.C. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss and sex ratio after synchronization of ovulation in lactating, Dairy cows *J. Dairy. Sci.* 81:2139.
- [32] Ramírez L.N. 1995. Factores que afectan el período vacío en vacas Carora y mestizas. En Manejo de la ganadería mestiza de doble propósito. N. Madrid y E. Soto (ed). Ed. Astrodata Maracaibo. pp. 467:485.
- [33] Randel, R.D., Short, R.E., Christensen, D.S. and Bellows, R.A. 1975. Effect of clitoral massage after artificial insemination on conception in the bovine. *J. Anim. Sci.* 40:1119.

- [34] Rodríguez Hernández, T. y Hernández, C. 1990. Efecto del momento de I.A. y temperatura rectal sobre la fertilidad en vacas. En VI Congreso Venezolano de Zootecnia. San Cristóbal. pp. 06.
- [35] Rodríguez Hernández, T. y Parra, N. 1979. Observaciones sobre la fertilidad en vacas servidas al primero, segundo y tercer celo post-parto. *Agronomía Tropical*. XXIX:251.
- [36] Rodríguez Hernández, T., Espinoza, J. and Verde, O. 1995. Efecto del momento de inseminación artificial, masaje clitorico, temperatura rectal y otros factores sobre la preñez en bovinos. *Zootecnia. Tropical*. 13:129.
- [37] Rodríguez Hernández, T., Fields, M.J., Warnick, A.C. y Thatcher, W.W. 1986. Fertilidad resultante de la ovulación sincronizada con PGF2 alfa y GnRH en bovinos. *Zootecnia Tropical* IV:3.
- [38] Quintero, E., Troconiz, J., Orta, C., Linares, T., Díaz, T. and Silva O. 1985. Fertilidad y perfil endocrino a más tiempo de inseminación en novillas Brahman. En I Jornadas Nacionales de Investigación en Reproducción Animal. Universidad del Zulia. Maracaibo Memoria Vol. II.
- [39] Salisbury, G.W., Vandemark, N.L. y Lodge, J.R.. 1978. Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovinos. Ed. Acribia. Madrid. 831 p.
- [40] Sawyer, G.J., Williamson, P.E., Draget, A. and Howell, G. 1990. Detection of oestrus by milk progesterone assay, visual observation and cervical mucus conductivity in oestrus synchronized dairy cow. *Proc Australian Society of Anim. Prod.* 18:352.
- [41] Smidt, T. D. y Ellendorf, F. 1972. Endocrinología y fisiología de la reproducción de los animales domésticos zootécnicos. Zaragoza. España. 395 pp.
- [42] Thatcher, W.W., Hansen, P.J., Plante, C., Badingan, R., Van Cleef, J., Danet, G., Desmoyer, J.D. and Savio, J.D. 1990. Understanding and exploiting the physiology and endocrinology of reproduction to enhance reproductive efficiency in cattle. *Proc. New Zealand. Society. Anim. Prod.* 50:109.
- [43] Thompson, K., Greiger, D.M., Lamb, G. and Stevenson, J. 1997. Effect of GnRH, PGF2 alfa and norgestomet on follicular maturation and ovulation in suckled beef cow. *J. Anim: Sci.* 75:228 (Suppl 1).
- [44] Trimberger, G.W. and DAVIS, H.P. 1943. Conception rate un dairy cattle by artificial inseminations at various stages of estrus. *Nebr. Agr. Exp. Sta. Res. Bul.* 129:1.
- [45] Trimberger, G.W. 1948. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebr. Agr. Exp. Sta. Res. Bul.* 151:1.
- [46] Vandemark, N.L. and Moeller, A.N. 1950. Spermatozoan transport in the reproductive tract of the cow *J. Dairy Sci.* 33: 390.
- [47] Yamada, K., Nako, T. and Mihara, N. 1999. Synchronization of ovulation and fixed time insemination for improvement of conception rate in dairy herds with poor estrus detection efficiency. *J. Reprod. Develop.* 45:51.
- [48] Zarkin, U.V. 1966. The effect of time of insemination on ovulation and on embryo viability. *Anim. Breed. Abst.* 35:613.