



**Universidad
Zaragoza**



EFFECTIVIDAD DE CUATRO MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE CELO EN VACUNO DE CARNE

AUTOR

DAVID PUEYO CARRERA

DIRECTORAS

ALBINA SANZ PASCUA

ISABEL CASASÚS PUEYO

TUTOR

JESÚS YÁNIZ PÉREZ DE ALBÉNIZ

INGENIERO AGRONOMO

NOVIEMBRE 2017

INDICE GENERAL

| Página | |
|---|----|
| 1.-RESUMEN..... | 6 |
| 1.1-ABSTRACT | 7 |
| 2.- INTRODUCCIÓN | 10 |
| 3.- OBJETIVOS | 14 |
| 4.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 4.1.- CICLO REPRODUCTIVO DE LA VACA | 16 |
| 4.1.1.- ANATOMÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO | 16 |
| 4.1.2.- CICLO OVÁRICO..... | 18 |
| 4.1.3.- REGULACIÓN HORMONAL DEL CICLO OVÁRICO..... | 19 |
| 4.2.- COMPORTAMIENTO ESTRAL..... | 20 |
| 4.2.1 CONTROL Y DETECCIÓN DE CELO..... | 22 |
| 4.2.2.- MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ESTRO..... | 27 |
| 4.3.- SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y MANEJO DEL CICLO REPRODUCTIVO DE LA VACA..... | 33 |
| 4.3.1.- PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS UTILIZANDO PROSTAGLANDINA F _{2α} | 33 |
| 4.3.2.-PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO UTILIZANDO GnRH | 35 |
| 4.3.3.- PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DEL CELO UTILIZANDO PROGESTÁGENOS Y ESTRÓGENOS | 36 |
| 5.-MATERIAL Y MÉTODOS | 40 |
| 5.1.- DESCRIPCION DE LA FINCA EXPERIMENTAL | 40 |
| 5.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL | 42 |
| 5.3.- MÉTODOS DE SINCRONIZACION DE CELO | 44 |
| 5.4.- MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CELO | 46 |
| 5.5.- INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN | 50 |
| 5.6.- ANÁLISIS ESTADISTICO | 52 |
| 6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 55 |
| 6.1.- PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE LAS VACAS | 55 |
| 6.2.- DETECCIÓN DE CELO Y FERTILIDAD | 56 |
| 7.- CONCLUSIONES | 65 |
| 8.-AGRADECIMIENTOS | 67 |
| 9.- BIBLIOGRAFÍA..... | 69 |

| ÍNDICE DE FIGURAS | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Calendario de manejo y aprovechamiento de pastos por las vacas en función de su época de parto. | 41 |
| Figura 2. Escala de condición corporal (Lowman et al., 1976)..... | 43 |
| Figura 3. Esquema del protocolo de sincronización de celo e inseminación artificial utilizado..... | 45 |
| Figura 4. Dispositivo comercial Estroprotect®..... | 47 |
| Figura 5. Grafico del nivel hormonal durante el ciclo ovárico (Intervet, Compendium de reproducción animal, 2007)..... | 48 |
| Figura 6. Método de fijación cervical transrectal..... | 49 |
| Figura 7. Fechas de realización de los tratamientos reproductivos y de registro de celos mediante los distintos sistemas de detección. | 50 |

| ÍNDICE DE TABLAS | Página |
|---|--------|
| Tabla 1 Relación entre el número de vacas en celo y el promedio de montas (Hurnic et al., 1975)..... | 25 |
| Tabla 2: Escala de puntos para el registro de signos asociados al celo (Van Eerdenburg et al., 1996)..... | 46 |
| Tabla 3. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función del lote experimental (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3). Se presenta la media y error estándar (e.e.)..... | 54 |
| Tabla 4. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función del Tratamiento (CON o SIN BUSOL)..... | 55 |
| Tabla 5. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función de su estado fisiológico después de la inseminación artificial a tiempo fijo (vaca VACÍA o GESTANTE)..... | 55 |
| Tabla 6. Número de vacas detectadas en celo, falsos positivos y falsos negativos en función de los tres métodos utilizados; número de vacas con concentración plasmática de progesterona (P4) inferior a 0,5 ng/ml (compatible con la fase folicular); y número de animales gestantes según el diagnostico realizado 49 días después de la inseminación | 56 |
| Tabla 7. Puntuación asignada en el control visual del celo en función de las variables analizadas en el estudio..... | 57 |

| | |
|---|----|
| Tabla 8. Asociación de la proporción de vacas detectadas en celo mediante control visual (SI/NO) con las variables analizadas en el estudio, y con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO | 59 |
| Tabla 9. Asociación de la tasa de fertilidad con las variables analizadas en el estudio y con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO..... | 60 |
| Tabla 10. Efecto de las variables incluidas en los modelos finales de regresión logística analizados para los tres métodos de detección y para la fertilidad..... | 61 |

Resumen

1.-RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar la efectividad de cuatro métodos para la detección de celo en vacuno de carne, y determinar la relación de la expresión de celo detectada por dichos métodos con la fertilidad a la inseminación artificial. El trabajo se realizó en la Finca Experimental La Garcipollera, perteneciente al Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón. Se utilizaron 29 vacas nodrizas en lactación, que al inicio del ensayo llevaban de media 115 días postparto, a las que se aplicó un programa de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).

Los métodos de detección de celo comparados fueron: i) la observación visual realizada el día anterior y el día de la inseminación, mediante puntuación de signos del comportamiento primario y secundario de celo; ii) el dispositivo comercial ESTROTECT[®], adhesivo en la base de la cola que indica monta por otras vacas; iii) el medidor de actividad ALPRO[®], que compara los incrementos de actividad con la actividad basal de cada vaca; iv) la concentración plasmática de progesterona, de la cual valores inferiores a 0,5 ng/ml el día de la inseminación se consideraron compatibles con la fase estral. Se estudió el efecto del lote en el que estaban las vacas, la raza, la edad y el tratamiento (con o sin GnRH inicial) sobre la detección de celo y sobre la tasa de fertilidad obtenida. En distintos momentos se registraron el peso vivo de las vacas, su ganancia media diaria (GMD), la condición corporal (CC) y la producción de leche como posibles variables que pudieran afectar a la expresión de celo y a la fertilidad a la inseminación.

El análisis de progesterona plasmática indicó que el día de la inseminación todas las vacas estaban en la fase folicular del ciclo ovárico, a excepción de dos vacas que perdieron el dispositivo intravaginal liberador de progesterona y que no se sincronizaron. Este método se tomó como comprobación de la sincronización, ya que todas las vacas sometidas con éxito al programa de sincronización de celo se encontraban en la fase folicular adecuada.

El método de detección visual de celo por puntuación fue el más efectivo y no obtuvo ningún falso positivo, mientras que los métodos ESTROTECT[®] y ALPRO[®] dieron lugar a un 41 y un 38% de falsos positivos, respectivamente. El método de detección visual de celo por puntuación estuvo estrechamente asociado al tratamiento y

a la fertilidad, mostrando una mayor puntuación las vacas no tratadas con un análogo de la GnRH y las que posteriormente se quedaron gestantes.

En la comparativa de los métodos de detección, la detección visual y el EstroTECT[®] estuvieron muy correlacionados entre sí; sin embargo el método Alpro no obtuvo una buena correlación con el resto, influenciado posiblemente por los movimientos de los animales en las labores rutinarias de la explotación.

La fertilidad a la inseminación estuvo influenciada a nivel individual por la condición corporal de los animales, detectándose un efecto negativo del estado de carnes excesivo sobre la tasa de concepción de las vacas.

1.1-ABSTRACT

The aim of this study was to compare the effectiveness of four methods for the detection of oestrus in beef cattle, and to determine the relationship among the oestrus expression detected by these methods with fertility to artificial insemination. The assay was carried out in the La Garcipollera Research Station, belonging to Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (Gobierno de Aragón). Twenty-nine suckler cows were used during lactation, which showed a 115 day postpartum period at the beginning of the assay. A program of synchronization of oestrus and timed artificial insemination was applied.

The heat detection methods compared were: i) the visual observation carried out the day before and the day of the insemination, by scoring the signs of the primary and secondary oestrus behavior; ii) the commercial device ESTROTECT[®], adhesive on the base of the tail that indicates mount by other cows; iii) the ALPRO[®] activity meter, which compares the activity increases with the basal activity of each cow; iv) the plasma concentration of progesterone, which values lower than 0.5 ng/ml the insemination were considered compatible with the follicular phase. The effects of the pen of cows, the breed, the age and the treatment (with or without initial analogous of GnRH) on the oestrus detection were studied, and on the fertility rate as well.

At different times, cow live weight, average daily gain, body condition score and milk yield were recorded as potential factors that could affect the oestrus expression and fertility rate.

Plasma progesterone analysis indicated that on the day of insemination all cows were in the follicular phase of the ovarian cycle, with the exception of two cows that lost the intravaginal progesterone-releasing device and were not synchronized. This method was taken as a check of the synchronization, because all cows successfully submitted to the heat synchronization program were in the suitable follicular phase.

The method of oestrus visual detection by scoring was the most effective and did not obtain any false positive, whereas the ESTROTECT[®] and ALPRO[®] methods showed 41 and 38% of false positives, respectively. The method of oestrus visual detection by score was highly related to treatment and fertility, showing a higher score the cows not treated with a GnRH analogue and those that later became pregnant.

Comparing the detection methods, visual detection and ESTROTECT[®] were highly correlated. However, ALPRO[®] method did not obtain a good correlation with the other methods, possibly influenced by the cow management in the routine farm labour.

Fertility at insemination was influenced by the cow body condition score, showing a negative effect of excessive body condition on the conception rate of cows.

Introducción

2.- INTRODUCCIÓN

El vacuno español es un sector de gran importancia económica, representado el 16% de la producción final ganadera. Además, el sector de la vaca nodriza ayuda a fijar la población en el medio rural, siendo, en muchas áreas, la única actividad económica sostenible posible, también ayuda al mantenimiento del medio ambiente debido a que su sistema de producción se encuentra ligado al medio natural.

El censo total es de 6.588.000 animales, de los que 2.007.000 son vacas nodrizas y 825.000 vacas lecheras (MAPAMA, 2017). El 69% se encuentra geográficamente localizado en la Dehesa de Extremadura, Castilla y León, y Andalucía, y también en Galicia. En concreto la CCAA con mayor número de cabezas es Castilla y León, que alberga al 27% del censo (548.448 animales), seguida de Extremadura con el 22% de los animales (446.434 cabezas) y Andalucía con el 11% del censo total de nodrizas (214.548 animales). Destaca igualmente el número de animales localizados en el conjunto de la cornisa Cantábrica, un 26%% del censo total de nodrizas. A cierta distancia se sitúa Castilla la Mancha con el 5% del censo total, mientras que la suma de Aragón y Cataluña suponen el 6% del censo de vacas nodrizas en nuestro país.

En el conjunto nacional las explotaciones tienen un tamaño medio de 44 cabezas, con una media de edad de 6,75 años. El patrón de nacimientos presenta un incremento en primavera (marzo y abril) seguido de otro repunte en otoño (septiembre y octubre). Las vacas de carne suelen encontrarse en explotaciones que cuentan con una base territorial bastante importante y normalmente en regímenes claramente extensivos, aprovechando pastos herbáceos, arbustivos y forestales, complementados con forrajes y piensos en épocas de escasez. El producto final va a ser o bien el denominado pastero, animal vendido sin cebar a una explotación especializada, o el animal cebado para su comercialización, o bien animales vivos para la reproducción.

El sector del engorde de terneros en España es deficitario. Una de las razones son los bajos índices de fertilidad de las vacas nodrizas (64%, MAPAMA, 2011), y otra razón es el descenso en la cabaña ganadera lechera, que aporta menos crías al sector (Sanz et al., 2013). Según las estadísticas oficiales, la fertilidad media a nivel europeo es del 82,5% frente al 64,5% de fertilidad media en España (EUROSTAT, 2011). Esto pone de manifiesto que hay un importante margen de mejora en relación a este índice reproductivo. En nuestro país, la tasa anual de destete de terneros se encuentra en un

55% frente al 70% en las 9 explotaciones pertenecientes a la Red Nacional de Granjas Típicas para el sector de la vaca nodriza (RENGRATI, 2012). La producción media nacional, considerada como la relación entre el número total de terneros por vaca en su vida útil, es de 4,5 terneros. Estos datos contrastan con los objetivos de producción de toda explotación que son la obtención de un ternero por vaca y año, por lo tanto se evidencia una baja productividad del sector de vacas nodrizas. Con respecto a la edad media al primer parto, el 35% de los partos se producen en vacas en el tramo de edad entre los 2-3 años, un 24% en vacas entre 3-4 años y el 12% en animales entre el cuarto y quinto año de vida. Un 19% de los primeros partos se producen en animales que han sobrepasado los cinco años de vida.

Con esta situación se pone de manifiesto que es posible introducir cambios en el manejo del rebaño que permitan mejorar los índices reproductivos y productivos. Algunos de los cambios propuestos pasan por la aplicación rutinaria de buenas prácticas en la explotación ganadera, como serían la observación y registro de datos individuales, la planificación de cubriciones y parideras, la realización sistemática de diagnósticos de gestación y sanitarios o el manejo adecuado de los sementales (Sanz et al., 2016). Otros cambios más específicos incluirían la incorporación de tecnologías reproductivas en la explotación, como la sincronización de celos y la inseminación artificial.

La incorporación de la inseminación artificial presenta muchas ventajas para los productores de ganado vacuno de carne. En primer lugar, porque la aplicación de un programa de inseminación artificial en el total de los animales conlleva una gestión más técnica y controlada de la reproducción. Además, permite introducir en el rebaño una genética superior a un menor costo, un control más fácil de algunas enfermedades, un reinicio más rápido de la actividad ovárica, menos problemas de distocias al utilizar semen probado, y una mejora general de la fertilidad. En este sentido, Fernández-Novo y Santos (2017) indican que la implantación sistemática de un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo en vacuno de carne puede hacer que en un lote de 100 vacas se queden preñadas el 58% a la inseminación (media española según datos del Ministerio de Agricultura, 2016), y que el 42% restante esté disponible para los sementales, de tal forma que en 65 días se logran preñar el 90-95 % de las vacas.

También presenta algunas desventajas: se necesitan unas instalaciones mejor preparadas para facilitar el manejo de las operaciones que requieren los protocolos de sincronización e inseminación, que aumenta el número de manejos del ganado y por lo tanto la mano de obra, y que, a priori, tendría un mayor coste que la monta natural.

Esta técnica puede realizarse a celo visto, siendo necesaria una buena detección del celo para realizar la inseminación en el momento adecuado con respecto a la ovulación, o a tiempo fijo, aplicando previamente protocolos de sincronización del desarrollo folicular y de la ovulación que permitan realizar la inseminación en un momento dado en función del programa aplicado.

En los métodos en los que se necesita la detección de celo, la exactitud de esta detección se hace muy importante para obtener una buena tasa de concepción. La detección de celo se puede realizar de diversas formas, mediante medidores de actividad colocados en distintas partes del animal (podómetros, collares), dispositivos que detectan la presión sobre la cola, toros vasectomizados, medición de la conductividad eléctrica vaginal, observación visual del comportamiento de los animales, o análisis de progesterona en sangre o leche. Los diferentes métodos de detección conllevan distinto precio, frecuencia de registros, carga de trabajo, etc. por lo que es necesario elegir el que mejor se adecue a las circunstancias de cada explotación a la vez que permita garantizar el éxito de la inseminación.

Objetivos

3.- OBJETIVOS

1. Comprobar el grado de sincronización del protocolo de inseminación artificial aplicado.
2. Comparar la efectividad de cuatro métodos de detección de celo.
3. Analizar la relación de la expresión de celo detectada mediante los distintos métodos con la fertilidad.

Revisión Bibliográfica

4.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

4.1.- CICLO REPRODUCTIVO DE LA VACA

La vaca tiene un ciclo sexual que presenta una duración de 21 días como promedio, pudiendo variar entre los 18 y los 24 días, tomando como 0 el día en el que se produce el estro.

En cuanto a la gestación, ésta tiene una duración de 279-290 días, tras la que se produce el anestro postparto (intervalo desde el parto hasta la primera ovulación) que depende del tiempo que requiera el animal para que tenga lugar la involución uterina. Dicha involución habitualmente tiene una duración de entre 40 y 50 días, aunque este periodo de tiempo puede verse afectado por diversos motivos, tanto endógenos (raza, producción de leche) como exógenos (estación del año, alimentación o presencia de un ternero lactante). La primera ovulación posparto no suele ir acompañada de comportamiento de celo, lo que se conoce como celo silencioso.

4.1.1.- ANATOMÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO

El sistema reproductor femenino es un conjunto de órganos que se encuentra asentado en la cavidad pélvica. Este está formado por el útero, los ovarios, las trompas de Falopio, el cérvix, la vagina, la vulva y las estructuras que las sostienen. A continuación, se procede a describir cada una de las partes que lo componen:

-El **útero** es un órgano muscular hueco cuya pared suele tener un grosor de 3-20 mm y consta de tres capas: la más externa o serosa, la capa muscular o miometrio y la capa más interna o endometrio que posee las carúnculas, zonas especializadas que hacen de punto de unión para la placenta durante la gestación. En cuanto a su morfología, el útero consta de un cuerpo que por su parte anterior se divide en 2 cuernos. Dichos cuernos uterinos poseen una curvatura lateral y descendente. Durante la gestación, el útero aumenta de tamaño y el feto queda alojado en uno de los cuernos dependiendo del ovario en el que se haya producido la ovulación.

-Los **ovarios** están situados en los extremos de cada cuerno uterino, a los que se unen directamente a través del ligamento ancho. Tienen forma oval y su tamaño depende del estadio de la vida reproductiva del animal. La estructura del ovario la forman la médula ovárica que se localiza en la región central del ovario. Esta región está formada por tejido conjuntivo (tejido que contiene numerosos vasos arteriales, venales o linfáticos, además de fibras nerviosas) y la región cortical o zona ovigenea, zona que contiene folículos en diferentes fases de desarrollo así como cuerpos lúteos en desarrollo o maduros o en atresia. Entre estas estructuras se encuentra el estroma ovárico que está constituido por fibroblastos y fibrocitos; este tejido al condensarse en torno a los folículos constituirá las tecas. Las principales funciones del ovario son la producción de gametos femeninos (ovocitos) y determinadas hormonas (estrógenos, progesterona, inhibina, oxitocina, etc.). Ambas funciones se encuentran reguladas por el hipotálamo y la hipófisis.

-Las **trompas de Falopio** u oviductos son dos conductos flexuosos que van desde el ovario hasta el extremo de los cuernos uterinos. Están formados por tres regiones especializadas y funcionalmente diferentes: el infundíbulo, la ampolla y el istmo. La función primordial del oviducto es el transporte de los ovocitos y los espermatozoides hasta la ampolla, que es el lugar donde se producirá la fecundación. Y más tarde, el transporte del cigoto hasta el útero.

-El **cérvix**, también conocido como cuello uterino, es un órgano tubular de pared gruesa y rígida. Forma una barrera entre el medio externo y el interno que es el útero. El lumen o canal cervical es convoluto y normalmente está cerrado excepto en el parto; también durante el estro se dilata ligeramente para facilitar el transporte del espermatozoide.

-La **vagina** se extiende desde el cérvix a la abertura exterior de la vulva y presenta una pared vaginal resistente y elástica, cuyo epitelio cambia de color según el estadio del ciclo. Las células cercanas al cérvix producen mucosa y son particularmente activas durante el estro. La uretra o tracto urinario se abre en el suelo de la vagina.

4.1.2.- CICLO OVÁRICO

Como ya se ha comentado anteriormente, el ciclo ovárico tiene una duración promedio de 21 días con un intervalo que va desde 18 a 24 días. Durante el transcurso del ciclo ovárico, los ovarios sufren una serie de cambios según: las olas de crecimiento folicular, ovulación, crecimiento y regresión del cuerpo lúteo. Estos cambios se encuentran regulados por diversas hormonas procedentes de distintos órganos como son el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios o el útero.

En el ciclo sexual de la vaca podemos distinguir cuatro fases: proestro, estro, metaestro y diestro. También se dan algunas ocasiones en las que el animal no tiene ningún tipo de actividad cíclica. Dichos periodos se denominan anoestro o anestro. Seguidamente se procede a describir en detalle cada una de las fases enumeradas en este apartado hasta el momento:

-Proestro:

Fase que precede al celo, caracterizada por un incremento de la actividad del sistema reproductivo. En él se produce un crecimiento folicular y regresión del cuerpo lúteo del ciclo previo; el útero aumenta de tamaño, el endometrio está congestionado y edematoso y sus glándulas presentan una actividad secretora. La mucosa vaginal está hiperémica y el número de capas celulares que forman su epitelio se incrementa (Arthur et al., 1991).

-Estro:

Momento del ciclo en el que la hembra acepta al macho. El comienzo y final de este periodo son momentos perfectamente detectables en el ciclo estral y, por tanto, utilizables como puntos de referencia para determinar la duración del mismo. La duración media del celo es de 15 horas, aunque el rango de tiempos puede llegar a estar comprendido entre 2 y 30 horas (Webster, 1993). Durante esta fase las glándulas del útero, el cérvix y la vagina secretan abundante cantidad de moco limpio y transparente. La ovulación se produce unas 12 horas después de la finalización del estro.

Durante el proestro y el estro hay crecimiento folicular en ausencia del cuerpo lúteo funcional, siendo los estrógenos producidos por los folículos las hormonas que en mayor cantidad se producen en el ovario. El proestro y estro son conocidos conjuntamente como la fase folicular del ciclo ovárico.

-Metaestro:

Fase en que las células de la granulosa del folículo se transforman en células luteales a partir de las cuales se forma el cuerpo lúteo. En esta fase se reducen las secreciones de las glándulas uterinas, cervicales y vaginales.

-Diestro:

Periodo de tiempo en que el cuerpo lúteo es funcional y, durante el cual, produce gran cantidad de progesterona. En este momento desaparece la hiperplasia e hipertrofia de las glándulas uterinas y el cuello uterino se contrae. Las secreciones del tracto genital son escasas y pegajosas. Además la mucosa vaginal adquiere una coloración pálida.

-Anoestro:

Periodo en que el sistema reproductor permanece “en reposo”. El crecimiento folicular es mínimo, el cuerpo lúteo, aunque identificable, está en regresión y no es funcional. Las secreciones presentes en el tracto genital son escasas y pegajosas, el cuello uterino está cerrado y la mucosa vaginal tiene una coloración pálida.

4.1.3.- REGULACIÓN HORMONAL DEL CICLO OVÁRICO

El sistema nervioso central recibe información del medio ambiente del animal y la transmite a las gónadas a través del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal. El hipotálamo y la hipófisis además de sintetizar hormonas, también se comportan como órganos diana creando un sistema de retroalimentación homeostático.

En el hipotálamo las células endocrinas producen la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH), que tiene la función de estimular en la adenohipófisis la secreción de la Hormona Foliculoestimulante (FSH) y de la Hormona Luteinizante (LH). Tanto la GnRH como la FSH y LH se liberan de forma pulsátil.

La GnRH tiene su origen en dos centros hipotalámicos diferenciados: el centro tónico que mantiene unos niveles constantes de GnRH y el centro cíclico que solamente se activa como respuesta a la elevación de los niveles de estrógenos.

Por otro lado, la FSH es la encargada de estimular el crecimiento y maduración del folículo, mientras que la LH, en la teca interna del folículo, estimula la síntesis de androstenodiona a partir del colesterol.

Posteriormente, la androstenodiona se convierte en testosterona que en las células de la granulosa del folículo se aromatiza, bajo la influencia de la FSH, a Estradiol 17β . El estradiol ejerce un efecto de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo y la hipófisis, aumentando la frecuencia de los pulsos de GnRH. Por encima de un nivel umbral el hipotálamo responde con una descarga de GnRH. Dicha descarga induce una liberación de LH que inicia la ovulación. Otro efecto principal del estradiol es la inducción de los síntomas de celo. Las células de la granulosa secretan otra hormona llamada Inhibina que inhibe de forma selectiva la síntesis y liberación de FSH, por lo que controla el desarrollo de otros folículos.

Tras la ovulación, la cavidad del folículo ovulado es invadida por las células que derivan de la granulosa y de la teca interna del folículo y los restos del folículo se reorganizan bajo la influencia de la LH formando el cuerpo lúteo. Este cuerpo lúteo es un órgano secretor encargado de la secreción de progesterona y oxitocina.

Otra de las hormonas que tiene una especial importancia en el ciclo hormonal de las vacas es la progesterona, ya que es la principal hormona responsable del mantenimiento de la gestación. Esto se debe a que la progesterona disminuye la descarga pulsátil de GnRH, lo que impide nuevas ovulaciones. Además, la progesterona prepara el endometrio para la nidación del embrión en caso de fecundación.

Si el ovocito liberado del folículo durante la ovulación no es fertilizado el animal no recibirá la señal de gestación del embrión, por lo que alrededor del día 16 después de la ovulación el endometrio del útero no gestante liberará prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$).

Dicha $PGF_2\alpha$ es luteolítica, lo que significa que inicia la regresión del cuerpo lúteo. Como consecuencia de esta regresión del cuerpo lúteo, se reduce la concentración de progesterona en sangre, y desaparece el bloqueo ejercido por la progesterona sobre la liberación de GnRH. Esto da lugar a una nueva fase folicular y a que se desarrolle un nuevo folículo preovulatorio.

4.2.- COMPORTAMIENTO ESTRAL

El estro o celo es un conjunto de signos fisiológicos y de comportamiento que tiene lugar antes de la ovulación. Tiene una duración que varía entre 4 y 24 horas, con tendencia a que su aparición sea más corriente por las noches (Diskin et al. 2000). Durante el celo la hembra se muestra intranquila y mucho más activa. Generalmente se

acepta que el criterio más seguro para saber si una vaca o una novilla está en celo es que acepta ser montada por otra (Koelsch, 1993). También la vaca en celo intentará montar a sus compañeras y a la vez éstas mostrarán interés por ella, por ejemplo, apoyando la barbilla sobre la zona dorsal con objeto de inspeccionar su posible receptividad a ser montada. Si la vaca que es montada no está en celo se moverá y se volverá a cornear a la vaca que la monta. Una respuesta positiva a la monta dura unos cinco segundos (Spahr, 1989). Frecuentemente se confunde el concepto de celo no detectado con los celos silentes o subestro sin embargo el celo no detectado se refiere a la situación en que la vaca presenta síntomas del celo pero no son detectados por el ganadero, mientras que los celos silentes o subestro se refieren a aquellas vacas que no muestran síntomas de celo (King et al., 1976). Estudios realizados constatan que en el celo correspondiente a la tercera ovulación posparto y ovulaciones siguientes el 100% de las vacas muestran síntomas de celo. En la primera ovulación solo el 50% muestran síntomas de celo y en la segunda el 94% (Roche et al., 1989).

Se detallan a continuación los signos fisiológicos y de comportamiento que se dan durante el estro:

- Aumento de la secreción de moco en cérvix y vagina. Esto conduce a otro signo evidente y común del estado de estro, que es la pérdida de moco que sale de la vagina y que puede adherirse al rabo. Si el moco no es transparente o está descolorido puede que sea un signo de infección vaginal, con lo que la vaca no estará necesariamente en celo (Diskin et al.2000).
- A veces, especialmente en épocas frías, se puede ver como emana vapor de la parte trasera de la vaca cuando está en estro. Esto es el resultado de una elevación de la temperatura corporal unida a un aumento de la actividad o a los cambios fisiológicos del estro.
- El pH vaginal también fluctúa durante el ciclo estral, siendo el valor más bajo 7.32, en el momento del estro (Zartman 1983).
- Si se separan los labios de la vulva se puede ver una inflamación y color rojo más intenso en el momento del celo que en otras.
- Durante un corto periodo de tiempo, después de la cubrición, la vaca mantiene la cola levantada y el dorso arqueado; en caso de que no haya podido observar el

momento de la monta, dicha postura indica que la cubrición ha tenido lugar (Webster, 1993).

- Unos días después de haber finalizado el estro, a menudo se ve una salida de sangre por la vagina o que se adhiere a la piel, alrededor de la vulva o en la cola. Muchas veces el ganadero piensa que la vaca no está gestante si sangra, pero la realidad es que esta hemorragia metaéstrica es independiente de la inseminación y la concepción.

- Otros signos de que la vaca ha sido montada:

- Suciedad en ancas y flancos.
- Pelo apelotonado en el comienzo del rabo, puede que algunas zonas se encuentren carentes de pelo y la piel pelada y sanguinolenta.
- Restos de saliva o signos de haber sido lamidos sus flancos por sus compañeras.

-Otros cambios de comportamiento:

- Agresividad.
- Mugidos.
- Inquietud.
- Labio retorcido o flehmen, este gesto es exhibido por la vaca en celo o por otras vacas que estén interesadas en ella.

4.2.1 CONTROL Y DETECCIÓN DE CELO

La detección del celo en bovinos es una técnica de gran importancia en los programas de inseminación artificial, ya que una mala detección provoca importantes pérdidas económicas debido a que se reduce la tasa de concepción y por tanto se alarga el intervalo entre partos. Por otra parte, el intervalo transcurrido entre el parto y el primer celo es un indicador de la fertilidad de la vaca de cara a concebir la próxima gestación, cuanto más pronto se presente el celo son esperables mejores resultados reproductivos (Thatcher et al., 1982). Es importante que todos los celos observados se detecten en su comienzo antes del momento óptimo para la cubrición. Esto también nos

permite prever el momento en que ocurrirá un celo posterior y mejorar así los porcentajes de detección de las vacas acíclicas (Holmes, y Wilson, 1989).

La expresión de la conducta de estro puede variar en la intensidad y en la duración por diversos factores como el número de parto, el clima, la nutrición o la producción lechera, etc. (Yániz et al., 2006). No obstante, son los factores asociados con la efectividad con que se ejecuta la técnica de detección de celos los que afectan principalmente la eficiencia y/o la exactitud del diagnóstico (conocimiento de los signos y síntomas de una hembra en celo, elección del lugar de detección, momento y tiempo de observación y frecuencia de observación, entre los más importantes).

Para disminuir los errores en la detección de celos es necesario conocer los principales factores que la afectan, que se pueden agrupar en aquéllos asociados con la capacidad del animal para expresar el celo y aquéllos relacionados con la calidad con que se ejecuta la técnica de detección de celos (factor humano).

Factores asociados con la capacidad del animal para expresar el celo

Los errores relacionados con la capacidad del animal para expresar el celo son significativamente de menor importancia que los que se le atribuyen al factor humano 10% (Diskin et al., 2000). No obstante, es importante conocer las características relacionadas con la conducta de celo, la intensidad de las mismas, el tiempo y frecuencia en que un animal la manifiesta y los factores que pueden modificar esa conducta de celo.

El reconocimiento del cambio de conducta y de la aparición de síntomas en el animal en celo permite evitar errores en la detección, principalmente las asociadas con la calidad en la detección de celos. Si bien la principal característica de un animal con conducta de celo es la actitud de aceptar la monta, se deben reconocer otros que pueden presentarse durante el periodo de celo, como también aquéllos que se visualizan en las hembras que están por entrar o que ya han pasado el celo.

Es importante tener en cuenta que la expresión de síntomas de un animal en celo pueden presentar grandes variaciones entre individuos. Un animal puede mostrar el celo de manera fuerte, intermedia o débil, asociado a una larga, intermedia o corta duración del mismo (Glauber, 1993). Otra característica propia del animal que puede influir en la

eficiencia o seguridad de la detección de celos es el tiempo en que una hembra se deja montar en cada monta, el cual es de tan solo 2,5 a 8 segundos (Shipka, 2000; Xu et al. 1998). La frecuencia de montas también presenta una importante variación registrándose valores de 1 a 50 montas (Dransfield et al. 1998; Senger, 1994; Shipka, 2000). Existen varios factores que influyen en la capacidad del animal para expresar el celo, como es el espacio en el establo, la superficie del suelo, cojeras, número de parto, el número de animales en celo al mismo tiempo, la producción lechera, tratamientos hormonales (Diskin et al., 2000; Yániz et al. 2006).

- Espacio en el establo: las vacas deben de tener un espacio suficiente para permitir que interaccionen con otras vacas. Si la densidad es demasiado alta la expresión de las señales de estro se reduce por lo que se hace más difícil la detección de celo. Espacios pequeños o demasiado grandes para la observación no son recomendables.
- Producción lechera: la producción de leche y la expresión del celo son fenómenos antagónicos. La expresión de los signos de celo es menor en los animales que más rinden.
- Superficie del suelo: a las vacas no les gustan las superficies duras como el hormigón para expresar los signos de celo. Prefieren las superficies con hierba o superficies sucias o con paja limpia. La actividad de monta se redujo a la mitad cuando las vacas se mantuvieron en superficies de hormigón con respecto a las que se mantuvieron en superficies más blandas, y la duración de estro se redujo en un 25% (Britt et al., 1986). También en superficies resbaladizas a las vacas les disgusta ser montadas.
- Cojeras: vacas con problemas de cojeras, patas o que tienen una conformación más débil exhiben menos síntomas de celo y, sobre todo, el signo más inequívoco de celo que es ser montada. Esto es debido a que estos animales se encuentran más tiempo descansando.
- Número de vacas en celo o celo por simpatía: el número de vacas que se encuentran simultáneamente en celo tiene un gran impacto en la actividad de la manada y sobre todo en el promedio de montas a cada vaca (Tabla 1).

Tabla 1. Relación entre el número de vacas en celo y el promedio de montas (Hurnick et al., 1975)

| Número de vacas simultáneamente en celo | Promedio de montas por vaca |
|---|-----------------------------|
| 1 | 11,2 |
| 2 | 36,6 |
| 3 | 52,6 |
| 4+ | 49,8 |

- Número de parto: un incremento en el número de parto está asociado a un descenso en la actividad de celo. Roelofs et al. (2005) demostraron que cuando se cuantifican los signos primarios y secundarios de comportamiento de estro usando un sistema de puntuación, las vacas primíparas obtenían una mayor puntuación del comportamiento estral en comparación con las múltiparas. Aunque signo de referencia en el comportamiento estral, que es dejarse montar por otras vacas, aumenta con el número de partos (Orihuela, 2000).
- Tratamientos hormonales: la administración de progesterona en los tratamientos de sincronización de celo provoca un aumento de los receptores de estradiol hipotalámico durante la fase luteal y por lo tanto un aumento de la sensibilidad al estradiol (Blache et al., 1994). Esto resulta positivo en la expresión específicos de estro. En el caso de los tratamientos con prostaglandina 2 α no se encuentran diferencias en la expresión de celo (Roelofs et al., 2005).

Factores asociados con la técnica con la que se realiza la detección de celo

En un estudio realizado en vacas Holstein durante el postparto, se pudo establecer la importancia de efectuar la técnica correctamente; se evaluó la detección de celos por observación visual comparado con una evaluación mediante transmisores por radioteleimetría. El parámetro intervalo parto-primera monta para el grupo con transmisor y para el grupo con observación visual fue de 40 y 48 días, respectivamente.

El porcentaje de vacas detectadas en celo a la primera, segunda y tercera ovulación para el grupo con transmisor fue de 60, 88 y 93%, respectivamente; mientras que para el grupo con observación visual fue de 5, 50 y 67%, respectivamente. Estos resultados demuestran que muchos de los errores en la detección por observación visual están asociados con una reducida expresión de la conducta de celo (Shipka, 2000). Los estudios permiten concluir que normalmente la observación visual presenta una serie de limitaciones que se traducen en una baja tasa de detección de celos.

Algunas de las limitaciones más importantes son:

- Desconocer cuales son los síntomas verdaderos de celo: algunos síntomas merecen una confianza mayor que otros. Con excepción de algunas vacas que muestran el comienzo de sus celos montando a otras vacas, el síntoma de mayor confianza es el reflejo de inmovilidad cuando son montadas por otras vacas (Koelsch, 1993).
- Problemas derivados del tamaño de la explotación: muchos investigadores están de acuerdo en que a medida que aumenta el tamaño de la explotación disminuye la eficacia de la detección de celos (Peters, 1991). En las grandes explotaciones la vaca pierde su individualidad, de tal forma que los pequeños cambios en su comportamiento pueden pasar desapercibidos para el ganadero. En las grandes explotaciones con un considerable incremento de la mecanización la relación hombre/animal disminuye considerablemente (Heersche y Nebel, 1994).
- La relativamente corta duración del celo: aunque la duración media del celo es de 14,5 horas (Diskin et al., 2000), el 20% de las vacas tiene un periodo de celo menor a seis horas. Además, dada la tranquilidad y reducción de actividad de la granja durante las horas nocturnas, hay muchas vacas que muestran la sintomatología del celo por la noche (Arthur et al., 1991).
- El tipo de explotación: cuando las vacas se explotan en grandes extensiones, o por el contrario en espacios reducidos, esto puede impedir que las vacas en celo puedan montar a otras vacas o que puedan ser objeto de sus atenciones (Koelsch, 1993). Un área adecuada de la explotación debe destinarse para mejorar la posibilidad del diagnóstico de los celos (Etgen et al., 1987).

4.2.2.- MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ESTRO

La detección de celo puede ser ayudada por varios métodos, unos se basan en la medición de actividad (podómetros o collares), otros detectan cuando una vaca es montada (Estrotec, Kamar...), otros miden la temperatura o niveles hormonales (Roelofs et al., 2010).

a) OBSERVACIÓN VISUAL

La observación visual es el método más tradicional. El éxito de este método depende de tres factores: el tiempo pasado en la observación, la capacidad del técnico de identificar los signos y la capacidad de la vaca para expresar los signos de celo. La detección suele depender de la observación de una respuesta postural a ser montada. Así, para una buena detección es necesario:

- Identificación clara de los animales individuales mediante marcas, collares y crotales en las orejas que puedan ser leídos a una distancia razonable.
- Iluminación adecuada que favorezca la identificación.
- Un registro permanente de la identidad de la vaca en el momento de la observación.
- Mantenimiento de una rutina regular de al menos tres observaciones de 20-30 minutos en el transcurso de 24 horas, que pueden ser en momentos en los que lo animales no son molestados (Hafez, 1996), Diskin et al. (2000) recomiendan 5 observaciones diarias para una buena identificación de celos.
- Superficies apropiadas con espacio suficiente y suelo en buen estado que permita a las vacas expresar su comportamiento de estro.
- Un registro de todos los periodos de estro, incluso anteriores a la fecha de la primera cubrición.

Un buen sistema para la observación es el realizado por Van Eerdenburg (2006). En este sistema no solo se tiene en cuenta cuando una vaca es montada, sino que se evalúan otros signos como la descarga de moco, la mayor actividad o el comportamiento social hacia otras vacas. Todos estos factores reciben una puntuación y cuando supera los 50 puntos, la vaca se considera en celo.

b) MÉTODOS COMPLEMENTARIOS DE DETECCIÓN DE CELO

Existen diversos métodos que permiten disminuir los errores en la detección visual del celo. Si bien la elección de un método de ayuda dependerá de las características de cada explotación, es importante considerar que algunos de ellos traen consigo un coste adicional para su implementación, ya sea por su valor económico, modificación del manejo normal del establecimiento, etc. Asimismo, es importante considerar que dichos métodos no necesariamente deben ser utilizados para reemplazar el método tradicional de detección sino para complementarse con el mismo.

b.1) MÉTODOS BASADOS EN LA MEDICIÓN DE ACTIVIDAD

La hembra en celo incrementa su actividad motora significativamente; por lo que se han diseñado dispositivos que se colocan detrás del miembro posterior, por encima del corvejón (podómetros) o en el cuello del animal (collares) que guardan información sobre dicha actividad. Sobre la base de un cálculo matemático se compara la actividad registrada en un período determinado con la actividad de períodos anteriores (nivel basal de actividad); cuando dicha diferencia se hace significativa se determina que la hembra presenta celo. Se ha indicado que las mejores posibilidades de concepción por lectura de un dispositivo de podómetro se dan entre las 6 y 17 horas después del incremento de la actividad motora; mientras que el tiempo óptimo se estimó a las 12 horas (Maateje et al., 1997).

Los podómetros son un método preciso para detectar el celo en vacas. Sin embargo, tienen algunas limitaciones. Este sistema es menos eficaz en explotaciones con vacas amarradas (Felton et al., 2012; Sakaguchi et al., 2007) ya que las vacas no pueden mostrar el aumento de actividad del mismo modo que si lo muestran las que están sueltas.

El sistema de podómetros funciona en tiempo real, por eso en vacas que pasten en el campo también presenta dificultades en las salidas de datos hacia la antena de recepción. El resultado de esto es un lapso entre el celo y la salida de la lectura, lo que causa un retraso en la detección de celo. Hay que tener en cuenta que los resultados pueden dar falsos positivos si se dan casos de diferencias significativas en la distancia recorrida al pasto cada día (Sakaguchi et al., 2011).

Otros posibles fallos de este método como son los falsos negativos, que pueden ser causados por una menor lectura del podómetro. Esta menor lectura puede ser causada por una cojera, altas temperaturas, producción lechera o el mayor número de partos (López-Gatius et al., 2005). En resumen, los podómetros tienen una eficacia de entre el 52% al 92% según el sistema presente en la explotación (Sakaguchi et al., 2011).

b.2) MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MONTA

Estos métodos de detección de monta se encuentran disponibles debajo diferentes formas comerciales, como son Estrotect[®], Kamar[®], pintura en la grupa, etc. También hay a la venta dispositivos electrónicos de detección de monta como son HeatWatch[®] y Mountcount[®]. Estos métodos trabajan con el principio de que una vaca que es montada es una vaca que está en celo. Según el estudio de Van Eerdenburg (2002) entorno al 50 % del rebaño no es montado.

ESTROTECT[®]

Funciona como una confirmación visual de que una vaca ha sido montada. Estrotect[®] es un pequeño parche, aproximadamente 8 x 3 cm con un adhesivo en la parte de abajo y una capa de color en la parte superior. El Estrotect[®] se adosa en la grupa y cuando la vaca es montada, la superficie del Estrotect[®] es frotada y pasa a tener un color rojo brillante. También tiene limitaciones, cuando el Estrotect[®] se pierde causa un falso negativo, además, en las explotaciones en las que tienen instalados cepillos automáticos, estos pueden provocar falsos positivos.

KAMAR[®]

El detector Kamar[®] es un sistema que necesita que la vaca sea montada al menos 3 segundos para que se active la capsula. Esta capsula cambia de color de blanco a rojo. Se coloca en la misma posición que el Estrotect[®], y del mismo modo su pérdida provoca un falso negativo. Otro factor que puede provocar un falso negativo es que si en un rebaño solo hay una vaca en celo al mismo tiempo, la duración del celo será más corta y menos intensa (Roelofs et al., 2010).

PINTURA EN LA GRUPA

La aplicación de pintura en la base de la cola y sacro es una versión simple y barata de los anteriores casos. Esta pintura desaparece por frotamiento cuando una vaca está en condiciones de ser montada. Si la superficie pintada se agrieta o forma escamas deberá ser pintada de nuevo (Webster, 1993). Es un método sencillo que tiene también limitaciones, los cepillos automáticos pueden causar problemas porque la pintura es fácil de eliminar. También el tiempo puede causar problemas ya que con la lluvia la pintura se puede lavar.

CÁPSULA DETECTORA DE MONTA

El método de la cápsula detectora de monta se basa en un tubo de vidrio o plástico que contiene un colorante el cual se encuentra dentro de una pequeña bolsa plástica transparente y el conjunto está adosado a una tela adhesiva. Dicha tela es la que se adhiere a la grupa; una vez que el animal ha sido montado se rompe el tubo y el colorante queda contenido en la bolsa plástica (Arthur et al., 1991). En la actualidad también se pueden encontrar dispositivos de características similares con la diferencia que el colorante es quimioluminiscente por lo cual se puede visualizar de día y de noche con una mejora en los resultados obtenidos (Marcantonio, 1998).

HEATWATCH[®]

Heatwatch[®] es un sistema electrónico que detecta la monta. Se coloca pegado sobre la grupa y envía al receptor información sobre la identificación de la vaca, la duración de la monta y el número, fecha y hora de cada monta. El sistema considera que una vaca está en celo cuando ha sido montada por lo menos tres veces en un periodo de tiempo de 2 a 4 horas. El mayor problema del Heatwatch[®] es que se pierda el parche causando falsos negativos. También como en los podómetros tiene una limitación en las vacas que pastan, ya que la información que transmite si se rebasa una distancia no llega al receptor en el momento exacto.

MOUNTCOUNT®

Es un sistema similar al Heatwatch® pero en este caso no se encuentra vinculado a un ordenador. En su lugar el aparato tiene una serie de luces que avisan al ganadero. Cuando en un periodo de 4 horas una vaca es montada al menos 3 veces una luz empieza a parpadear. También incorpora otra luz que avisa del momento óptimo para la inseminación, ésta comienza a parpadear 4 horas después de que haya detectado el celo. Este sistema es fácil de interpretar y no necesita mucha instalación, sin embargo requiere de la observación visual del ganadero al menos 2 veces al día.

ANIMALES MARCADORES

Dentro de los métodos de ayuda por medio de animales marcadores, se encuentran aquéllos que permiten la cópula como los toros vasectomizados o vacas tratadas con andrógenos (Holy, 1983). Se ha establecido que el toro logra mayor estímulo para buscar la monta cuando ya existen dentro del grupo comportamientos de monta entre hembras, dado que su estímulo es preferentemente visual (Geary et al. 1992). De todas maneras es importante tener en cuenta que la utilización de toros puede provocar una inhibición de las hembras para mostrar el celo y que en muchos casos los machos se quedan montando a una o dos hembras sin tener en cuenta al resto (Kilgour et al., 1977). Además de estos inconvenientes se suma el riesgo de propagar enfermedades venéreas dentro de la explotación.

Por otra parte, se encuentran los animales marcadores que no pueden llevar a cabo la cópula. Si bien no tienen el riesgo de propagar enfermedades venéreas, tienen la desventaja que, en el caso de toros, hay que realizar cirugía para desviar o amputar el pene, y en el caso de las hembras, hay que realizar un tratamiento hormonal, lo cual también supone un riesgo y un costo adicional, salvo que se utilicen hembras ninfómanas (Holy, 1983).

b.3) MÉTODOS DE AYUDA NO VISUALES

Existen otros métodos que se denominan “no visuales” al no estar relacionados con cambios en la conducta, sino que detectan cambios en procesos fisiológicos como cambios en la temperatura corporal (Fordham et al., 1988; Kyle, et al., 1998),

resistencia eléctrica vaginal (Scipioni et al., 1999; Smith et al., 1989) o perfiles de progesterona en sangre o leche (Moore et al., 1991).

La temperatura corporal de la vaca está comprendida entre 38 y 39 °C, pero durante el ciclo sexual cambia. Antes del estro la temperatura baja, sube en el momento del estro y se estabiliza pasada la ovulación. Cuando la vaca sale en celo su temperatura aumenta entre 0,3 y 1,1 °C. Este cambio de temperatura es muy variable y de corta duración así que es difícil de medir. Esto significa que para una detección eficaz se debe hacer una medición al día por lo menos para establecer un registro con el que predecir el momento de estro. Además también se puede ver influenciado por otros problemas de salud de la vaca como las infecciones.

La detección de celo utilizando la resistencia eléctrica vaginal se basa en que la mucosidad secretada por las células caliciformes, presentes en el cuello uterino, varía en cantidad, viscosidad y composición. Esta variación depende del equilibrio de las hormonas gonadales (Mac Donald 1981). En la actualidad existen aparatos que realizan una medición automática de la resistencia eléctrica vaginal pero se deben realizar al menos dos mediciones diarias sobre un periodo de tiempo para poder establecer un registro que permita determinar con exactitud el momento de estro (Rorie et al., 2002).

La medición de progesterona (P4), ya sea en el suero sanguíneo o la leche de los animales, es una técnica de campo que no solo se utiliza en la investigación científica y, en la práctica, se utiliza con el propósito de evaluar fertilidad, detectar el celo, manejo reproductivo o respuesta a determinados tratamientos entre otros propósitos (Hoffman et al., 1978).

Existen kits de uso comercial para la cuantificación hormonal mediante la técnica ELISA en laboratorio. Para este análisis las muestras de sangre se deben extraer en tubos Vacutainer con heparina litiada para la posterior extracción del plasma sanguíneo mediante centrifugación, que puede congelarse a -20°C para conservarlas hasta su análisis en el laboratorio.

Si bien dichos métodos plantean una alternativa sumamente interesante, aún no se ha logrado un uso masivo ya que en algunos casos no es práctica su implementación, el costo es demasiado alto y/o la eficiencia o la exactitud de detección no es adecuada.

4.3.- SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y MANEJO DEL CICLO REPRODUCTIVO DE LA VACA.

La Inseminación Artificial (IA) es una de las técnicas reproductivas de mayor impacto en la producción ganadera. Sin embargo, la necesidad de observar celo al menos dos veces por día sin importar las condiciones climáticas, época del año, o vacaciones y otras actividades que debe hacer el personal en una explotación ganadera hacen que se pierda eficiencia en esta actividad rutinaria y se comprometa considerablemente la productividad del sistema. La modificación de los ciclos para que todas las hembras presenten celo en un período breve de tiempo es el objetivo que ha estimulado el desarrollo de numerosas líneas de investigación. Desde el descubrimiento de las hormonas de la reproducción, el hombre ha pretendido controlar la actividad reproductiva. La utilización de la ultrasonografía para estudiar el efecto de distintos tratamientos hormonales sobre la dinámica folicular en el bovino llevó al desarrollo de protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación. Existen numerosos protocolos de sincronización de celos y ovulaciones y cada uno de ellos tiene sus ventajas e inconvenientes. Es importante tener un conocimiento profundo de la fisiología reproductiva del bovino para determinar cuál es el método más adecuado para los distintos ambientes y animales con los que se trabaja.

4.3.1.- PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS UTILIZANDO PROSTAGLANDINA F_{2α}

La PGF_{2α} se puede utilizar para inducir la luteolisis o la regresión del cuerpo lúteo (CL) en el ganado. Fueron Lauderdale (1972), Liehr et al. (1972) y Rowson et al. (1972) los que demostraron el efecto luteolítico de la prostaglandina. Lauderdale et al., en 1977, comprobaron que la dosis efectiva para producir luteolisis en el ganado es 25 mg de PGF_{2α} administrada por vía intramuscular, y que se podía inyectar a intervalos de 11 a 14 días (Lauderdale et al., 1981). En este mismo estudio, Lauderdale et al. (1981), evaluaron la administración simple o doble de PGF_{2α}. El porcentaje de novillas de carne detectadas en celo durante los siguientes 5 días tras la última inyección PGF_{2α} fue

significativamente mayor tras la doble inyección (64% vs. 17%, respectivamente). En novillas lecheras se observó un resultado similar (73% vs 12%).

Una limitación del uso de la $PGF_{2\alpha}$ para la sincronización del estro es que su eficacia depende exclusivamente de la presencia de un CL. En consecuencia, no tendrá éxito si tenemos animales en anestro o novillas prepúberes en el grupo que va a ser sincronizado (Short et al., 1990; Patterson et al., 1992). A partir de estos primeros estudios, la utilización de $PGF_{2\alpha}$ se ha generalizado en el mundo, aplicada sola o en combinación con otras hormonas.

Se describen a continuación los tratamientos a partir de Prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Lane et al., 2008):

-Doble aplicación de prostaglandina en la totalidad de los animales

El método tradicional de utilización de las prostaglandinas con el objetivo de sincronización de celos prevé la utilización de dos dosis de hormona aplicada con un intervalo de 12 a 14 días. La primera aplicación en rebaños cíclicos induce el efecto luteolítico que se da en el 60% de las vacas, y con la segunda aplicación de prostaglandina se induce el estro a la totalidad de los animales. A partir de las 48 horas de la segunda aplicación se comienza a detectar celo y permite inseminar durante 2 a 3 días.

-Doble aplicación de Prostaglandina con inseminación después de la primera y segunda dosis

Este método consiste en una variante del procedimiento descrito anteriormente utilizado para inseminar vacas que entran en celo después de la primera aplicación de prostaglandina. Los animales se observan después de la primera aplicación durante doce días. Los que no se detectaron en celo reciben una segunda dosis de prostaglandina y de 48 a 96 horas después se inseminan cuando muestren el celo. A pesar de la economía de la hormona, tiene como desventaja en relación al método original la observación de un periodo más largo de celos.

-Aplicación única de prostaglandina después de un periodo de observación de celos

Este protocolo se basa en la observación de celos de las vacas en un periodo de 7 días e inseminación de las verificadas en celo, aplicándose al séptimo día una dosis de prostaglandina en todas las vacas que no ciclaron. El periodo de observación de siete

días debe dar tiempo para que todas las vacas en el momento del segundo tratamiento se encuentren en diestro.

Dado que estos protocolos no controlan el momento de la ovulación, la detección del estro es obligada y por tanto solo resultan eficaces cuando los porcentajes de detección son buenos.

4.3.2.-PROTOSCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO UTILIZANDO GnRH

Los protocolos de tratamiento con GnRH han sido utilizados en gran medida durante los últimos años para la Inseminación Artificial a tiempo fijo (IATF) de bovinos de carne (Geary et al., 2001) y leche (Pursley et al., 1995). Estos protocolos están basados en la combinación de GnRH y PGF_{2α} y son conocidos como Ovsynch y Co-Synch. Consisten en una inyección de GnRH seguida de PGF_{2α} 7 días más tarde y una segunda inyección de GnRH 48 horas después del tratamiento con PGF_{2α}. En los protocolos Co-Synch, las vacas son inseminadas a tiempo fijo al momento de la segunda GnRH (Geary et al., 2001), mientras que en los protocolos Ovsynch, las vacas son inseminadas a tiempo fijo 16 h después de la segunda GnRH (Pursley et al., 1995). Varios estudios demuestran que los protocolos Ovsynch producen tasas de preñez similares a las que se obtienen en las vacas que fueron sincronizadas con PGF_{2α} e inseminadas 12 h después de detectado el celo (Burke et al., 1996, De la Sota, 1998, Pursley et al., 1995, Thatcher et al., 2006).

El protocolo Ovsynch y sus variantes han demostrado ser muy sensibles al estadio fisiológico de la hembra con la que se trabaja. Este protocolo ha resultado en una fertilidad aceptable en vacas lecheras (Burke et al., 1996; Pursley et al., 1997) y de carne (Geary et al., 1998; Martinez et al., 2002) que están ciclando. Pero los porcentajes de preñez han sido bajos en novillas (Pursley et al., 1997) y muy variables en vacas con cría (Geary et al., 1998), sobre todo debido a los bajos porcentajes de concepción que se obtienen en vacas en anestro. Se ha demostrado que se pueden incrementar los índices de preñez en vacas en anestro (Pursley et al., 2001) y en novillas (Martinez et al., 2002) si se coloca un dispositivo intravaginal liberador de progesterona entre los días 0 y 7.

Por lo tanto, la elección de este protocolo de IATF va a depender de la categoría de animales y del estado de ciclicidad del rebaño.

4.3.3.- PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DEL CELO UTILIZANDO PROGESTÁGENOS Y ESTRÓGENOS

El nombre genérico de los progestágenos incluye un grupo de compuestos que son similares a la progesterona (P4). La progesterona exógena suprime las pulsaciones de LH, por lo que se atresia el folículo dominante y se evita el estro y la ovulación. Dentro de estos compuestos podemos citar los progestágenos de administración oral como el acetato de melengestrol (MGA), los implantes subcutáneos de norgestomet y los dispositivos intravaginales con P4. Con la irrupción en el mercado de las PGF_{2α}, los progestágenos dejaron de usarse en algunos sistemas debido a que con los tratamientos de 14 días (para esperar la regresión "natural" del CL) se obtenía una buena sincronía de celos pero baja fertilidad (Macmillan et al., 1993). Actualmente el uso de acetato de melengestrol y el de norgestomet se encuentran prohibidos en España por el Real Decreto 2178/2004 del 12 de noviembre de 2004.

-Protocolo a partir de la utilización de dispositivos intravaginales.

Actualmente en el mercado se encuentran disponibles diferentes tipos de dispositivos intravaginales los cuales contienen concentraciones variadas de progesterona, como por ejemplo tenemos: CIDR-B[®] (1,9 g de progesterona), PRID DELTA[®] (1,55 g de progesterona), etc. La mucosa vaginal absorbe aproximadamente 0,5 a 0,6 mg de progesterona al día, determinándose de esta forma el bloqueo hipotalámico-hipofisiario.

Tratamientos largos de progesterona (14 a 16 días) provocan una disminución de la fertilidad debido al desarrollo de folículos persistentes (Savio et al., 1993). Se han obtenido mejores resultados con tratamientos de corta duración (7 a 9 días) pero con una disminución de la sincronización del estro (Odde, 1990). Desde su inicio los

dispositivos intravaginales se han utilizado junto a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ para mejorar la sincronización. Lucy et al., (2001) demostraron que cuando en el tratamiento concurren PRID y $\text{PGF}_{2\alpha}$ se produce una mejora en la sincronización frente a la utilización de solo $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Estos protocolos también se utilizan para la mejora de los protocolos de sincronización que utilizan GnRH como es Ovsynch. El dispositivo PRID se coloca el día del tratamiento con GnRH y se retira en el día 7 junto con la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Diversos trabajos coinciden en que hay una mejor respuesta a los tratamientos de sincronización cuando la prostaglandina se administra 48 horas antes de la retirada del dispositivo vaginal (Penny et al., 1997; Gyawu et al., 1991).

En vacas no cíclicas o anéstricas una administración de gonadotropina corionica equina (eCG) en el momento de la retirada del dispositivo PRID favorece la inducción y sincronización del estro.

Material y Métodos

5.-MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- DESCRIPCION DE LA FINCA EXPERIMENTAL

Las experiencias descritas en este proyecto han sido desarrolladas en la finca experimental de La Garcipollera, propiedad del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón. Esta explotación se encuentra situada en Bescós de la Garcipollera, término municipal de Jaca (Pirineo oscense), a 945 m de altitud. El clima es propio de un valle de montaña, con inviernos largos y muy fríos con temperaturas medias de 4°C, veranos cortos con temperaturas medias de 20°C y una precipitación anual de 1000 l/m².

El rebaño experimental de la finca consta de 200 vacas nodrizas, de las que 140 son de raza Parda de Montaña y 60 de raza Pirenaica. La reposición proviene de la propia finca y es criada en las instalaciones del CITA en Montañana (Zaragoza).

La raza Pirenaica es una raza autóctona de fomento, representativa del ganado originario del País Vasco, Navarra, Pirineo aragonés y catalán, explotada inicialmente por su triple actitud carne-leche-trabajo, que durante los últimos 150 años ha experimentado distintos periodos de expansión y de regresión. En la década de los 60, conscientes del peligro de extinción de la raza, comenzó un programa de mejora orientado hacia la producción de carne en Navarra, objetivo que se extendió a otras comunidades con la creación de diversas Asociaciones autonómicas de Criadores de Ganado Vacuno Pirenaico. En la actualidad, el programa tiene el doble objetivo de mejorar sus cualidades maternas y el carácter cárnico (Altarriba, 2011). De acuerdo con el Sistema Nacional de Información de Razas (ARCA, 2016), el censo de la raza en Aragón a final de 2016 era de 3139 cabezas (de las cuales 1560 se corresponden a hembras reproductoras), distribuidas en 48 ganaderías.

La raza Parda de Montaña se explota en España desde hace más de un siglo. Originalmente se introdujo para mejorar la producción lechera de las vacas autóctonas, y absorbió en buena parte a las razas locales. Actualmente se utiliza en su mayor parte como vaca nodriza, debido al abandono del ordeño y a su orientación hacia la producción de terneros para su posterior cebo. La raza Parda de Montaña fue reconocida

como raza autóctona de fomento en el año 2012 (Orden AAA/251/2012). Los objetivos de su plan de mejora genética se centran en la mejora de la aptitud reproductiva y capacidad maternal de las vacas (incluyendo el crecimiento predestete de los terneros) y la mejora de sus características cárnicas, manteniendo su adaptación a diversos sistemas de explotación (Villalba y de la Fuente, 2012). En la actualidad, es también objeto de un proyecto para incrementar su eficiencia productiva que implica una mejor gestión sanitaria y reproductiva de los rebaños (Casasús et al., 2015). Según recoge ARCA, a final de 2016 su censo en Aragón era de 21545 cabezas (de las que 15251 eran vacas adultas), distribuidas en 398 explotaciones.

Ambas razas han sido exhaustivamente caracterizadas en las condiciones de explotación de la montaña aragonesa, tanto en los resultados productivos de las vacas a lo largo del año (Casasús et al., 2002; Sanz et al., 2003; Alvarez-Rodríguez, 2009), como en los rendimientos de sus terneros en lactación y cebo o recría en diversas condiciones (Villalba et al., 2000; Blanco 2007; Rodríguez-Sánchez, 2016).

En la Finca Experimental de la Garcipollera el manejo general de los animales es el típico de las explotaciones pirenaicas. En función de los recursos alimenticios aprovechables a lo largo del año, el manejo se basa en tres periodos: uno de estabulación invernal, otro de pastoreo en puerto durante el verano y el último de pastoreo en áreas boscosas o praderas de fondo de valle en épocas intermedias (Revilla, 1997).

En cuanto al manejo reproductivo, los partos se concentran en dos épocas: una en otoño (partos del 15 de septiembre al 15 de diciembre) y otra en primavera (partos del 1 de febrero al 30 de abril). Estos dos periodos de partos se corresponden a su vez con dos épocas de cubriciones de aproximadamente tres meses cada una, que se inician 90 días después de la fecha de inicio de los partos. En función de su estado fisiológico, el calendario de aprovechamiento de pastos y el periodo de estabulación difiere entre las vacas de las dos épocas de parto (Figura 1).

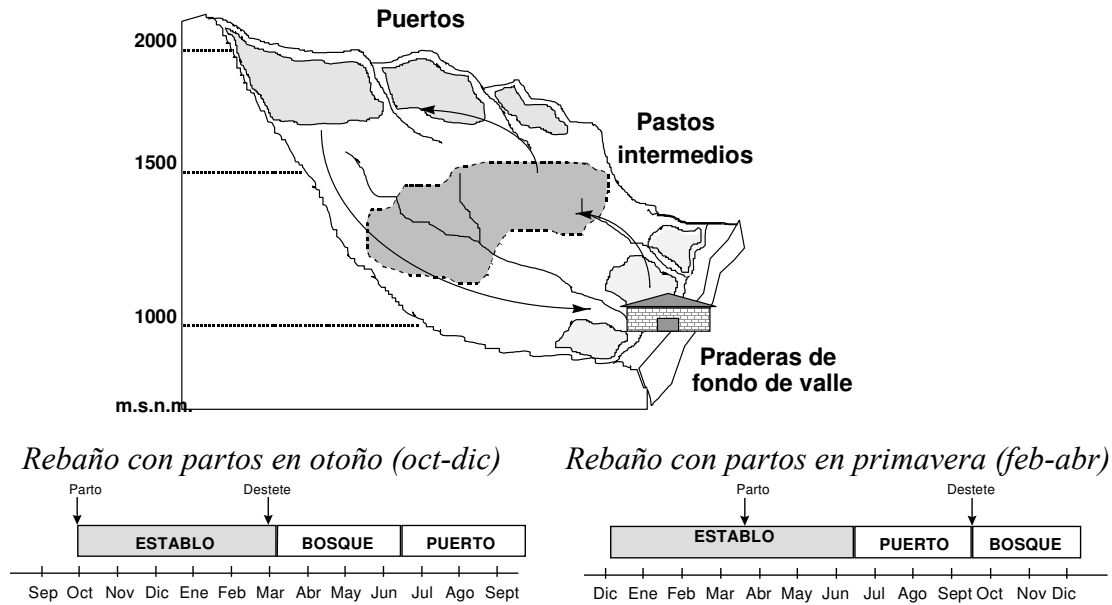


Figura 1. Calendario de manejo y aprovechamiento de pastos por las vacas en función de su época de parto.

Las cubriciones se realizan habitualmente por monta natural con toros de la misma raza que las vacas. Sin embargo, en el marco de un programa de control sanitario tras un brote de una enfermedad de posible transmisión horizontal a través de la monta (Esteban-Gil et al., 2017), durante la etapa de estabulación del año 2010-2011 (objeto del presente proyecto) todas las cubriciones se realizaron mediante inseminación artificial. Dada la ubicación de la explotación y la dificultad de contar con un veterinario para realizar la inseminación a celo visto, se optó por realizar un programa de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo. Para mantener el calendario habitual de partos se realizaron cuatro tandas de inseminación, en función de la época de parto de las vacas: dos de ellas en las vacas con partos en otoño (16 de diciembre (n=82) y 11 de febrero (n=71)) y dos en las vacas con parto en primavera (15 de abril (n=61) y 26 de mayo (n=76)).

5.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en los meses de enero a marzo del año 2011. De un grupo más numeroso de vacas en tratamiento de sincronización de celos e inseminación artificial, para la realización de este estudio se utilizaron 29 vacas lactantes de raza Parda de Montaña (n=22) y Pirenaica (n=7) con parto en otoño (fecha media de parto

17-oct-2010 \pm 15 días, peso medio al parto 573 \pm 69 kg). De las 22 vacas de raza Parda 7 eran primíparas, mientras que las de raza Pirenaica eran todas adultas.

Las vacas se encontraban repartidas en tres corrales de manejo contiguos (2 corrales para las vacas de raza Parda de Montaña y uno para las vacas de raza Pirenaica), debido a un ensayo centrado en las terneras hijas de estas vacas, que por tanto no afectó al manejo de las vacas utilizadas en el presente estudio.

Las vacas recibieron durante toda la lactación una mezcla completa seca comercial (Cooperativa Santa Orosia, Jaca, Huesca) compuesta por heno de alfalfa (30%), paja de cebada (24%), cebada (16%), gluten feed (8,4%), pulpa de cítricos (6%), palmiste (6%), melaza de caña (6%), girasol (3%) y complementos vitamínicos-minerales (0,6%). La mezcla presentó un contenido en proteína bruta de 12,49% PB, un 22,48% de fibra bruta y su valor energético se estimó en 7,6 MJ EM/kg MS. El nivel de alimentación se ajustó en función de las necesidades nutritivas de los animales, para cubrir sus necesidades de mantenimiento y una producción lechera estimada de 8 kg/d en las vacas de raza Parda de Montaña y 6 kg/d en las de raza Pirenaica, con lo que recibieron 12 y 11 kg/d de ración en fresco, respectivamente. Al mantenerse estabuladas en grupo, para garantizar que cada animal ingería su ración correspondiente las vacas recibieron la dieta en comederos equipados con cornadizas autotrabantes.

Los terneros permanecieron en cubículos adyacentes a los parques de las vacas y tuvieron acceso a sus madres para amamantar durante dos periodos diarios de 30 min (a las 8:00 y a las 15:00 horas).

Para una posterior evaluación de su posible repercusión de los rendimientos productivos de las vacas sobre su fertilidad se analizaron la variación de la condición corporal y el peso de la vaca desde el parto hasta su cubrición, así como su producción lechera. La condición corporal se registró en el momento del parto y días antes de la inseminación artificial (9/2/11). El método utilizado para evaluar la condición corporal fue el método de Lowman et al. (1976), que se basa en la estimación del recubrimiento muscular y de grasa de determinadas partes del cuerpo a partir de la vista y el tacto (Figura 2). La escala va de 0-5 aunque presenta puntos intermedios a intervalos de 0,25 unidades para una determinación más exacta.

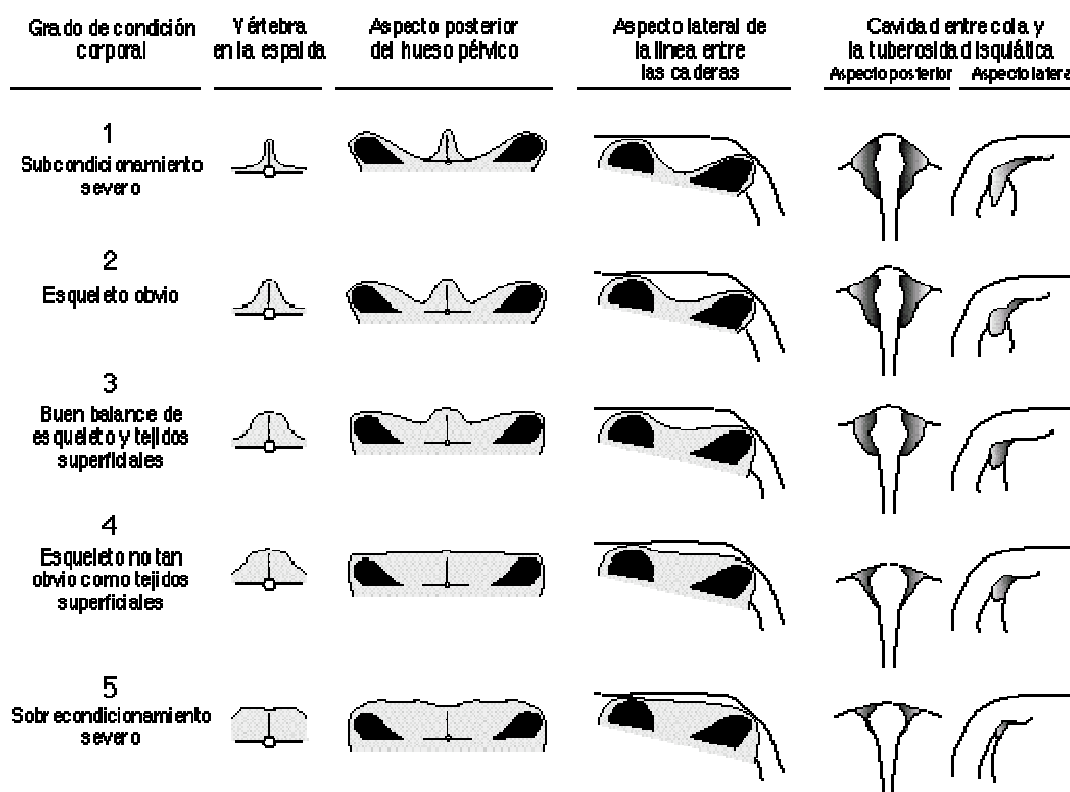


Figura 2. Escala de condición corporal (Lowman et al., 1976)

El peso de las vacas se registró en el momento del parto y posteriormente el 15 de diciembre, 15 de febrero y 14 de abril, para después calcular la ganancia media diaria en los dos meses previos y los dos posteriores a la inseminación artificial.

Para estimar la producción de leche de las vacas se realizó un ordeño mensual mediante la técnica descrita por Le Du et al. (1979), con administración de oxitocina y ordeño completo. La calidad de la leche se determinó mediante infrarrojos (Milkoscan 4000TM; Fosselectric Ltd., Hillerod, Dinamarca) durante los cinco meses que duró la lactación (se presenta el dato medio en la lactación completa). La producción de leche corregida al 3.5% de grasa y 3.2% de proteína se calculó mediante la fórmula oficial para la leche corregida en energía según describieron Casasús et al. (2004).

5.3.- MÉTODOS DE SINCRONIZACION DE CELO

El método utilizado para la sincronización de celos fue el método Ovsynch, al que se añadió en el tratamiento un dispositivo intravaginal de progesterona y una inyección de PMSG, para favorecer el reinicio de la actividad ovárica, debido a que como todas las vacas del presente estudio se encontraban amamantando a sus terneros

cabía la posibilidad de que se encontraran en anestro. Se testaron además dos variantes en el tratamiento, un programa convencional con la primera administración de GnRH en el momento de la colocación del PRID y otro alternativo sin esta administración, con el objetivo de comprobar que el ahorro económico ligado a la supresión de este tratamiento no suponía una disminución de la efectividad del método de sincronización, debido a que tres meses después del parto todas las vacas deberían estar cíclicas.

Los compuestos administrados en el tratamiento de sincronización fueron:

- Buserelina, es un análogo de la GnRH, el producto usado es Busol[®] (INVESA, Barcelona, España) 0,004 mg/ml en forma de acetato de buserelina. Su modo de administración fue intramuscular.
- Dispositivo intravaginal liberador de progesterona (P4), el producto usado es PRID[®] ALPHA (CEVA, Barcelona, España), hecho a base de elastómero de silicona y contiene 1,55 mg de progesterona.
- Prostaglandina (PGF_{2α}), el producto usado es Enzaprost[®] (CEVA), es una solución de 5 mg/ml a base de Dinoprost que es una prostaglandina F_{2α}.
- Gonadotropina coriónica equina (eCG o PMSG), el producto usado es Folligon[®] (Intervet, Salamanca, España), que se encuentra como gonadotropina sérica liofilizada en frascos de 500, 1000 y 5000 UI y su diluyente.

El tratamiento comenzó el día 0 (28 de enero) con la inyección de 2,5 cc de Buserelina y la colocación de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (PRID). Este dispositivo se retiró 12 días más tarde, a la vez que se administró una dosis de 500 UI de PMSG. Dos días antes de la retirada del PRID, es decir, en el día 10, se inyectó una dosis de 2 cc de PGF_{2α}. En el día 14 (10 de febrero) se realizó una segunda administración de 2,5 cc de Buserelina a las 8 h de la mañana y la inseminación artificial a partir de las 15 h (Figura 3).

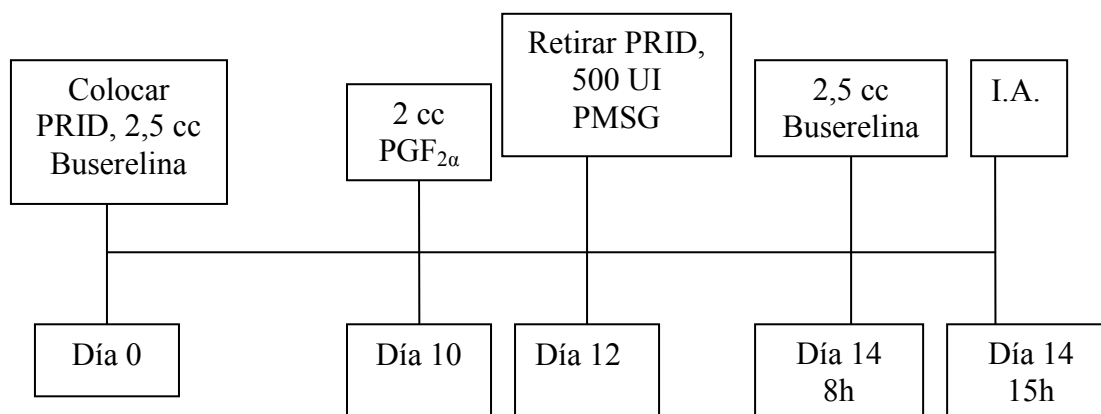


Figura 3. Esquema del protocolo de sincronización de celos e inseminación artificial utilizado.

5.4.- MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CELO

Se utilizaron simultáneamente cuatro métodos para la detección de celo en las 29 vacas del estudio: observación visual, registro mediante el medidor de actividad ALPRO[®], dispositivo comercial ESTROTECT[®] y análisis del nivel plasmático de progesterona. Los momentos en los que se realizaron los distintos registros se resumen en la Figura 7.

a) Observación visual

La observación se realizó durante un periodo de una hora en tres ocasiones: dos veces durante el día anterior a la inseminación (a las 13 y a las 17 h) y en la mañana del día de la inseminación (a las 10 h). El registro se realizó con un observador entrenado en cada lote en control, siguiendo la metodología descrita por Van Eerdenburg et al. (1996) en la que se le asigna un número diferente de puntos según el comportamiento mostrado por el animal (Tabla 2). Cuando la suma de puntos durante un periodo de observación supera los 50, se considera que el animal está en estro.

Tabla 2: Escala de puntos para el registro de signos asociados al celo (Van Eerdenburg et al., 1996).

| SIGNOS DE CELO | PUNTUACION |
|---|------------|
| OTROS SIGNOS | |
| Descarga de flujo vaginal | 5 |
| Berrear | 5 |
| Inquietud | 5 |
| Oler la vulva de otra vaca | 10 |
| Apoyar la barbilla en otras vacas | 15 |
| SIGNOS DE MONTA | |
| Montada por otras vacas pero no se queda quieta | 10 |
| Monta a otras vacas por detrás | 35 |
| Montar a otras vacas por delante | 45 |
| Reflejo de inmovilidad al ser montada | 100 |

b) Método ALPRO[®]

El método de detección de celo ALPRO[®] (DELAVAL, Tumba, Suecia) consta de un transponder que mide los aumentos de actividad de la vaca observados durante el celo con respecto a la actividad basal en el manejo habitual. Estos transponders se equipan en las vacas con un collar de nylon. La información recogida se transmite a partir de unas antenas que se deben colocar a una distancia no mayor a 30 metros del lugar donde se encuentran los animales, a una centralita conectada a un ordenador equipado con un programa que procesa la información. Los patrones individuales de actividad se determinan cada 4-5 horas para establecer una línea de base o de la actividad normal. Los datos registrados incluyen el número de identificación de la vaca, el número del transponder y la hora de aumento de la actividad sobre la línea base de cada vaca. El procesador clasifica el incremento de actividad en verde, amarillo o rojo, (siendo el rojo el de mayor incremento de la actividad), por comparación con los valores mínimos históricos de actividad para cada vaca. El sistema ALPRO[®] determina el inicio del estro por el aumento de actividad y muestra la hora de inicio del estro.

Los collares con el transponder se colocaron en todas las vacas al menos una semana antes del inicio del protocolo de sincronización de celos, para que el programa estableciera la actividad normal o línea de base. Este sistema se mantuvo activo hasta después del diagnóstico de gestación del 31 de marzo, de forma que pudiera registrar un

eventual retorno en celo tras la inseminación a los 21 días (aproximadamente el 3 de marzo) o a los 42 días (24 de marzo).

c) El método ESTROTECT®

El dispositivo ESTROTECT® Heat Detector (Dairymac, Wickham Hampshire, Reino Unido) es una etiqueta autoadhesiva que se adosa transversalmente sobre la superficie de la grupa de la vaca (zona sacra, entre la cadera y la base de la cola). Cuando la vaca es montada por otra vaca la superficie plateada del sello se desprende, quedando la base del parche de color rojo brillante, e indicando que la vaca ha sido montada, y que posiblemente se encuentre en celo. A mayor grado de raspado de la etiqueta y más visible sea el color rojo, más avanzado será el estado del celo y más improbable un falso celo (Figura 4).

Estos dispositivos se colocaron en todas las vacas 2 días antes de la inseminación, a la vez que se realizó el manejo de retirar el PRID y la administración de PMSG. La observación de estos parches se hizo a la vez que se hizo la detección de celo por observación visual (registro el día anterior a la inseminación a las 13 y a las 17 h y en la mañana del día de la inseminación a las 10 h).



Figura 4. Dispositivo comercial EstroTECT®

d) Detección del nivel plasmático de progesterona

El método de detección de celo por el nivel plasmático de progesterona se basa en el cambio de concentración de progesterona en sangre que experimenta la vaca durante su ciclo ovárico.

El día en que la vaca se encuentra en la etapa de estro, la concentración de progesterona es la mínima, inferior a 0,5 ng/ml (Figura 5). A partir de este día y gracias a la formación del cuerpo lúteo el nivel de progesterona comienza a aumentar. Si no se produce la fecundación del ovocito, la concentración de progesterona comenzará a disminuir a partir del día 16 tras el estro, coincidiendo con la liberación de $\text{PGF}_2\alpha$ por parte del endometrio del útero. Si se produce la fecundación del ovocito la concentración de P4 irá en aumento debido a su producción por parte del cuerpo lúteo y más tarde por la placenta.

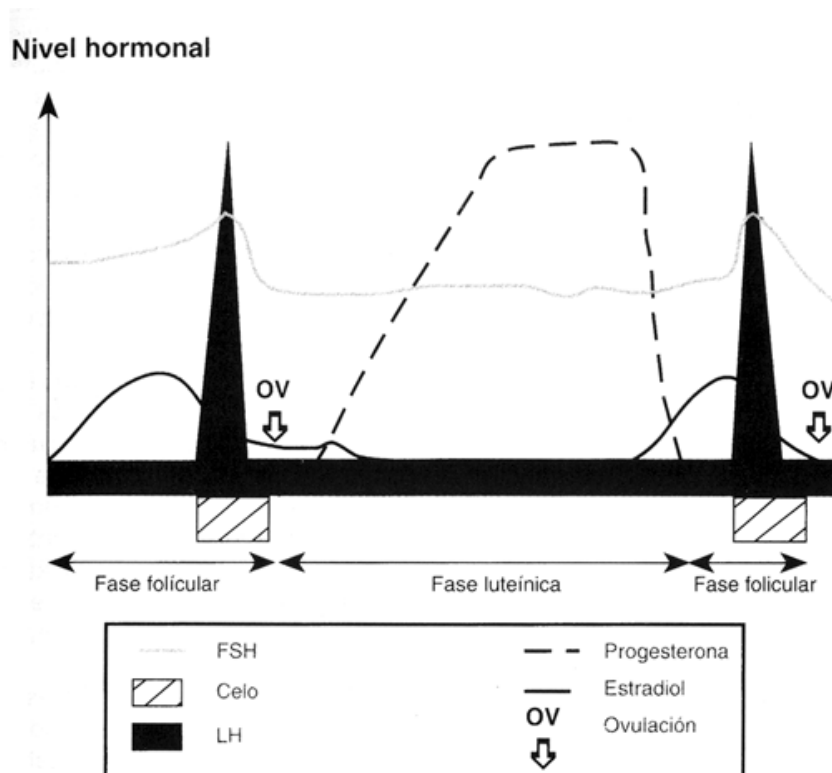


Figura 5. Gráfico del nivel hormonal durante el ciclo ovárico (Intervet, Compendium de reproducción animal, 2007).

En este ensayo se realizaron extracciones de sangre para la determinación de progesterona el día anterior a la inseminación y el día de la inseminación (días 9 y 10 de

febrero, extracción a las 8:00). La muestra de sangre se tomó de la vena caudal o coccígea, a partir de tubos Vacutainer que contenían heparina litiada. Las muestras se centrifugaron durante 12 minutos a 3000 r.p.m., y posteriormente se extrajo el plasma y se congeló a -20°C hasta su posterior análisis.

El análisis del contenido plasmático en Progesterona se realizó mediante un test ELISA, de acuerdo con las instrucciones del kit comercial (Ridgeway Science, Lydney, Reino Unido). La sensibilidad del análisis fue de 0,27 ng/ml, y los coeficientes medios de variación entre e intra-análisis fueron de 10,4 y 8,0%. Se consideró que la actividad ovárica y luteal (ciclicidad) se iniciaba cuando se detectó la primera elevación de progesterona por encima de 0,5 ng/ml.

5.5.- INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

La inseminación artificial se realizó el día 10 de febrero a partir de las 15 horas. Todas las inseminaciones fueron realizadas por el mismo técnico, mediante el método de fijación cervical transrectal (Figura 6). El semen usado estaba congelado en pajuelas. Todas las vacas fueron inseminadas con toros de su misma raza.

El diagnóstico de gestación se realizó el 31 de marzo, 49 días después de la inseminación, mediante ecografía transrectal (ecógrafo Aloka SSD-500V, equipado con una sonda lineal de 7.5 MHz; Aloka, Madrid, España), identificando la vesícula amniótica y el crecimiento fetal.

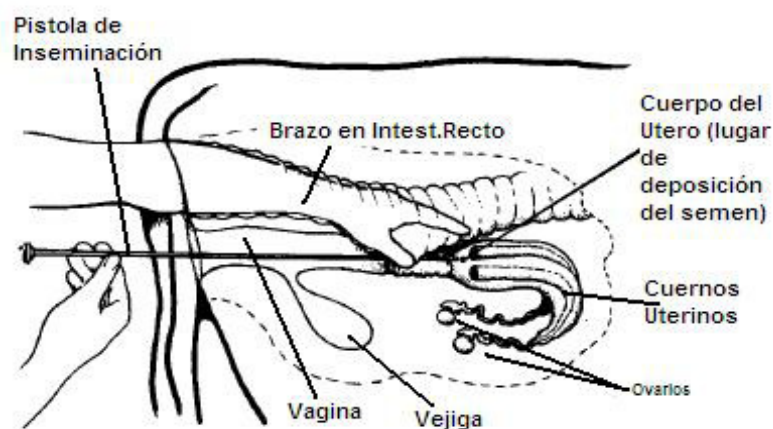


Figura 6. Método de fijación cervical transrectal.

| Fecha | 21-ene | 28-ene | 8-feb | 9-feb | 10-feb | 31-mar |
|----------------------------|----------|-------------------------|------------|------------|--------|--------------------------|
| Días con respecto a la IA | -21 | -14 | -2 | -1 | 0 | 49 |
| Tratamientos reproductivos | | Sincronización de Celos | | | I.A. | Diagnóstico de Gestación |
| Detección de celo | | | | | | |
| • Observación visual | | | | 13 h, 17 h | 10 h | |
| • ALPRO | registro | | | | | |
| • ESTROTECT | | | colocación | registro | | |
| • Determinación P4 | | | | P4 | P4 | |

Figura 7. Fechas de realización de los tratamientos reproductivos y de registro de celos mediante los distintos sistemas de detección.

5.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos del ensayo se analizaron con el programa JMP (versión 12.0.01; SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.). Los parámetros productivos de las vacas (días postparto (DPP), peso vivo (PV) al parto y el día de la inseminación, condición corporal (CC) el día de la inseminación, ganancia media diaria (GMD) en los dos meses previos a la inseminación y producción media de leche en lactación) se analizaron mediante modelos lineales generalizados con el procedimiento GLM (análisis de varianza por el método de mínimos cuadrados). Se realizaron diversos modelos considerando de manera individual los efectos fijos del Lote (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3), el Tratamiento de sincronización (CON BUSOL o SIN BUSOL) y el resultado diagnóstico de gestación por ecografía realizado 49 días tras la inseminación artificial (VACÍA o GESTANTE).

Se calculó la proporción de vacas detectadas en celo con cada uno de los métodos estudiados, y también la proporción de falsos negativos y falsos positivos de los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO en relación al método de referencia elegido finalmente de celo visual por puntuación. A continuación, se realizó un análisis de varianza por el método de mínimos cuadrados de los siguientes factores de variación de la puntuación de celo visual: Lote (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3), Tratamiento (CON BUSOL o SIN BUSOL), grupo de Edad (MULTÍPARA o PRIMÍPARA) y el resultado diagnóstico de gestación (VACÍA o GESTANTE).

Se realizaron tablas de contingencia para valorar, con un test de Pearson, la asociación de la proporción de vacas detectadas por celo visual con los efectos del Lote (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3), el Tratamiento (CON BUSOL o SIN BUSOL), el grupo de Edad (PRIMÍPARA o MULTÍPARA), así como con los resultados de los otros métodos de detección de celo (ESTROTECT, ALPRO) y con la tasa de fertilidad. Así mismo, se realizaron tablas de contingencia para valorar la asociación de la tasa de fertilidad con los mismos parámetros anteriores, además del toro (semen de 6 machos diferentes).

Finalmente, se analizó mediante regresión logística el efecto de los factores Lote (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3), Tratamiento (CON BUSOL o SIN BUSOL) y grupo de Edad (MULTÍPARA o PRIMÍPARA) junto con la condición corporal de las vacas en el momento de la inseminación sobre la proporción de vacas detectadas en celo con los tres métodos

evaluados (VISUAL, ESTROTECT, ALPRO) y sobre la fertilidad obtenida. También se analizó el efecto de la raza y de la ganancia media de peso de las vacas durante los dos meses previos a la inseminación artificial, pero en ningún caso fue significativo por lo que se eliminó de los modelos.

Resultados y Discusión

6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1.- PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE LAS VACAS

De los 29 animales que se estudiaron, 4 perdieron el PRID ALPHA en el periodo de los 12 días que duró el tratamiento de progesterona, aunque en los análisis realizados de progesterona en sangre sólo 2 de esos 4 animales diferían en los perfiles de concentración en sangre (<0,5 ng/ml) compatibles con una fase folicular.

A continuación se resumen los parámetros productivos de los animales en función del lote experimental (Tabla 3), en función del tratamiento de sincronización (Tabla 4) y en función de la fertilidad al diagnóstico ecográfico de gestación (Tabla 5). En estas tablas se han descrito los días postparto (DPP), el peso vivo (PV) el día del parto y el día de la inseminación, la condición corporal (CC) el día de la inseminación, la ganancia media diaria (GMD) en los dos meses previos a la inseminación y la producción media de leche de las vacas durante la lactación.

Tabla 3. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función del lote experimental (LOTE 1, LOTE 2 o LOTE 3). Se presentan la media y el error estándar (e.e.).

| | LOTE 1 | | LOTE 2 | | LOTE 3 | | p |
|---|--------|-------|--------|-------|--------|-------|------|
| | media | e.e. | media | e.e. | media | e.e. | |
| Número animales | 10 | | 12 | | 7 | | |
| DPP, d | 114 | 5 | 113 | 5 | 120 | 2 | 0,59 |
| CC a la IA | 2,71 | 0,07 | 2,85 | 0,10 | 3,09 | 0,18 | 0,10 |
| PV parto, kg | 564 | 23 | 579 | 20 | 576 | 28 | 0,89 |
| PV a la IA, kg | 567 | 27 | 572 | 20 | 590 | 33 | 0,83 |
| GMD 2 meses previos a la IA, kg | -0,058 | 0,051 | -0,149 | 0,046 | 0,029 | 0,043 | 0,06 |
| Producción de leche corregida por energía, kg/d | 7,00 | 0,88 | 8,10 | 0,65 | 5,83 | 0,76 | 0,13 |

Ninguno de los factores de los animales fue diferente en función del lote (Tabla 3) o del tratamiento (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función del Tratamiento (CON o SIN BUSOL).

| | CON BUSOL | | SIN BUSOL | | p |
|---|-----------|-------|-----------|-------|------|
| | media | e.e. | media | e.e. | |
| Número animales | 19 | | 10 | | |
| DPP, d | 115 | 3 | 116 | 5 | 0,80 |
| CC a la IA | 2,93 | 0,10 | 2,73 | 0,03 | 0,17 |
| PV parto, kg | 572 | 17 | 575 | 18 | 0,92 |
| PV a la IA, kg | 580 | 20 | 563 | 19 | 0,58 |
| GMD 2 meses previos a la IA, kg | -0,071 | 0,042 | -0,080 | 0,036 | 0,89 |
| Producción de leche corregida por energía, kg/d | 6,47 | 0,65 | 7,9 | 0,46 | 0,15 |

Tabla 5. Parámetros productivos de las vacas nodrizas, en función de su estado fisiológico después de la inseminación artificial a tiempo fijo (vaca VACÍA o GESTANTE).

| | VACÍA | | GESTANTE | | p |
|---|--------|-------|----------|-------|------|
| | media | e.e. | media | e.e. | |
| Número animales | 15 | | 14 | | |
| DPP, d | 115 | 4 | 115 | 4 | 0,91 |
| CC a la IA | 2,99 | 0,11 | 2,72 | 0,06 | 0,04 |
| PV parto, kg | 573 | 18 | 573 | 19 | 0,98 |
| PV a la IA, kg | 580 | 21 | 568 | 20 | 0,70 |
| GMD 2 meses previos a la IA, kg | -0,075 | 0,034 | -0,074 | 0,052 | 0,99 |
| Producción de leche corregida por energía, kg/d | 7,07 | 0,60 | 6,88 | 0,78 | 0,53 |

En la Tabla 5 se observa que las vacas vacías mostraron una condición corporal mayor que las gestantes, siendo éste el único parámetro afectado por el estado fisiológico de los animales.

6.2.- DETECCIÓN DE CELO Y FERTILIDAD

Los resultados referentes al número de vacas detectadas en celo mediante los diversos métodos de detección y la proporción de falsos positivos y falsos negativos en relación al método de detección visual se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Número de vacas detectadas en celo, falsos positivos y falsos negativos en función de los tres métodos utilizados; número de vacas con concentración plasmática de progesterona (P4) inferior a 0,5 ng/ml (compatible con la fase folicular); y número de animales gestantes según el diagnóstico realizado 49 días después de la inseminación.

| | Nº vacas + / total (%) | Nº FALSOS + / total (%) | Nº FALSOS -/ total (%) |
|--|------------------------|-------------------------|------------------------|
| CELO_VISUAL | 11/29 (38%) | - | - |
| CELO_ESTROTECT | 23/29 (79%) | 12/29 (41%) | 0/0 (0%) |
| CELO_ALPRO | 18/29 (62%) | 11/29 (38%) | 4/29 (14%) |
| Fase folicular del ciclo (P4 <0,5 ng/ml) | 27/29 (93%) | | |
| Fertilidad | 14/29 (48%) | | |

En este estudio se estableció como uno de los métodos de detección de celo el análisis de progesterona en sangre, considerando que una concentración de P4 menor a 0,5 ng/ml antes de la inseminación era compatible con la fase folicular. Cuatro vacas perdieron el PRID ALPHA en un momento indeterminado antes del establecido para su retirada, dos de ellas presentaron una concentración plasmática de progesterona superior a 0,5 ng/ml y las otras dos inferior a 0,5 ng/ml. Por tanto, este análisis mostró que, a nivel hormonal, el tratamiento sincronizó al 93% de los animales (Tabla 6).

Una vez revisados los resultados, se estableció el método de detección VISUAL como método de referencia para el cálculo de la proporción de falsos negativos y falsos positivos detectados por los demás métodos de detección de comportamiento de celo (ESTROTECT y ALPRO). En la Tabla 6 se observa el número de vacas a las que se ha detectado el celo en cada método de detección con respecto al total de vacas, además de la fertilidad final obtenida en la inseminación.

El registro del comportamiento de celo por detección VISUAL indicó que únicamente 11 de las 29 vacas sincronizadas (38%) expresaron conducta estral (Tabla 6). Si comparamos los resultados del análisis de progesterona (donde el 93% de las vacas tenían una concentración menor 0,5 ng/ml) con los resultados de la detección visual podemos concluir que aunque estas vacas se encontraban en la fase folicular no todas mostraron los signos de celo.

El método ESTROTECT presentó la mayor tasa de detección de celo (79%), aunque la comparación con la detección visual indicó que el 41% de los celos detectados fueron falsos positivos, si bien no se detectó ningún falso negativo. En esta misma línea Van den Berg (2014) a partir de Estrotect obtuvo un 47% de falsos positivos. Sin embargo, Bonato et al. (2012) observaron que los falsos positivos detectados entre el método Estrotect y la observación visual fueron similares, con solo un 5,5% y un 5,9% de falsos positivos respectivamente.

El método ALPRO indicó que el 62% de las vacas se encontraban en celo, pero fue el método que más registros falsos obtuvo (38% falsos positivos y 14% falsos negativos). En el estudio de Holman et al. (2017) en el que comparaban varios métodos de detección de celo, los podómetros y Kamar fueron los métodos que más falsos positivos obtuvieron. Sin embargo, Nelson et al. (2017) obtuvieron mejores resultados con su sistema medidor de actividad que con la detección visual.

En la Tabla 7 se muestra la relación de diversas variables relativas al animal y al manejo con la puntuación obtenida mediante el método de detección VISUAL.

Tabla 7. Puntuación asignada en el control visual del celo en función de las variables analizadas en el estudio.

| Variable dependiente | Clases | n | CELO_VISUAL (puntos*) | Prob > F |
|-----------------------------|---------------|----------|------------------------------|--------------------|
| Lote | LOTE 1 | 10 | 93,9 | 0,448 |
| | LOTE 2 | 12 | 49,2 | |
| | LOTE 3 | 7 | 76,2 | |
| Tratamiento | CON BUSOL | 19 | 38,1 | 0,037 |
| | SIN BUSOL | 10 | 108,1 | |
| Edad | MULTÍPARA | 22 | 82,2 | 0,603 |
| | PRIMÍPARA | 7 | 63,9 | |
| Fertilidad | GESTANTE | 14 | 106,0 | 0,048 |
| | VACÍA | 15 | 40,2 | |

*: valor máximo de 226 puntos.

El LOTE experimental en el que estaban las vacas no tuvo efecto sobre la puntuación de celo visual ($P=0,448$). En su revisión sobre la detección de estro en vacas, Diskin y Sreenan (2000) describían que uno de los factores que condicionan la expresión de celo es la proporción de vacas en celo presentes en el grupo de animales, conocido como “celo por simpatía”. En el presente estudio, no se pudo detectar dicho

efecto sobre la puntuación media obtenida en la detección visual del celo, quizá porque no se realizaron los 5 controles visuales que recomiendan los autores a lo largo del día.

En nuestro estudio se observó una relación significativa del TRATAMIENTO ($P=0,037$), dado que las vacas no tratadas con un análogo de la GnRH obtuvieron una puntuación muy superior, mostrando celo de manera más contundente que las tratadas. Colazo et al. (2011) demostraron que solo el 25% de los animales tratados con GnRH en el inicio del protocolo IATF ovularon. En otro estudio, López Helguera et al. (2017) demostraron que no era necesaria la administración de GnRH en animales cíclicos para obtener los mismos ratios de preñado. También en un artículo editado por la federación de cooperativas Select Sires Inc. (2014) apuntan a que esa inyección de GnRH inicial reduce o suprime la expresión del celo, al causar la ovulación temprana del folículo en desarrollo antes de que puedan producirse los picos de estrógenos que inducen el comportamiento de celo. Por todo esto cabe considerar que al encontrarse las vacas ya cíclicas (115 días postparto de media de inicio el protocolo) la administración de Busol tuvo un efecto negativo sobre la expresión de celo.

La variable EDAD (Primíparas vs. Multíparas) no tuvo un efecto en el control de celo visual. Sin embargo, en un estudio de Yániz et al. (2006), en el que puntuaban los signos primarios y secundarios del estro, obtuvieron mayores puntuaciones las vacas primíparas que las multíparas.

En nuestro estudio, el método de detección VISUAL POR PUNTUACIÓN estuvo relacionado con la tasa de FERTILIDAD ($P=0,048$), mostrando mayor puntuación de celo los animales que luego se diagnosticaron como gestantes. Esto hace pensar que los animales que muestran con mayor intensidad el celo tienen mayor probabilidad de quedar gestantes en la inseminación. Peralta et al. (2005) obtuvieron una mayor tasa de preñez en los animales detectados mediante el sistema HeatWatch que los detectados por la observación visual (70% vs. 59%, respectivamente), aunque cabe resaltar que la observación visual no se realizó por el método de puntuación de Van Eerdenburg (1996) sino de una manera categórica de forma que solo la vaca que era montada se consideraba en celo (reflejo de inmovilidad).

En la Tabla 8 se presenta la relación de los resultados mediante el control VISUAL (SÍ/NO) con las variables LOTE, TRATAMIENTO, EDAD y FERTILIDAD, así como con los resultados obtenidos con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO.

Tabla 8. Asociación de la proporción de vacas detectadas en celo mediante control visual (SÍ/NO) con las variables analizadas en el estudio, y con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO.

| Variable dependiente | Clases | n | CELO_VISUAL categórico (%) * | | P |
|-----------------------|-----------|----|---------------------------------|------|-------|
| | | | SÍ | NO | |
| Lote | LOTE 1 | 10 | 13,8 | 20,7 | 0,84 |
| | LOTE 2 | 12 | 17,2 | 24,1 | |
| | LOTE 3 | 7 | 6,9 | 17,2 | |
| Tratamiento | CON BUSOL | 19 | 17,2 | 48,3 | 0,075 |
| | SIN BUSOL | 12 | 20,7 | 13,8 | |
| Edad | MULTÍPARA | 22 | 27,6 | 48,3 | 0,757 |
| | PRIMÍPARA | 7 | 10,3 | 13,8 | |
| Fertilidad | GESTANTE | 14 | 24,1 | 24,1 | 0,195 |
| | VACÍA | 15 | 13,8 | 37,9 | |
| CELO_ESTROTECT | SÍ | 23 | 37,9 | 41,4 | 0,031 |
| | NO | 6 | 0,0 | 20,7 | |
| CELO_ALPRO | SÍ | 18 | 10,3 | 37,9 | 0,891 |
| | NO | 11 | 13,8 | 37,9 | |

* A partir de una puntuación > 50 puntos se consideró que la vaca mostraba celo.

Al igual que en el análisis de la detección visual por puntuación, ni el LOTE experimental ni la EDAD de la vaca tuvieron ningún efecto sobre la detección categórica del celo mediante observación visual.

El efecto del TRATAMIENTO sobre la detección visual descrita anteriormente también se detectó, aunque en este caso fue sólo una tendencia ($P=0,075$), que podría deberse a la pérdida de información y variabilidad por reducir la detección a sólo un sí o un no.

Con respecto a la comparación de los métodos de detección VISUAL Y ESTROTECT, ambos estuvieron muy asociados ($P=0,031$). Jiménez et al. (2007) también obtuvieron unos resultados similares entre la detección de celos de forma visual o con ESTROTECT, siendo la efectividad sólo un 2% menor en el segundo método.

La detección de celo mediante los collares ALPRO no se asoció a la detección VISUAL ($P=0,891$). El método ALPRO fue el método con peor resultado, posiblemente

debido a que el movimiento de estos animales en las labores rutinarias de la granja afectó a su comportamiento, y por lo tanto, a la eficacia en la detección de celo mediante la medición de su actividad.

En la Tabla 9 se resume la relación de la tasa de fertilidad con las variables LOTE, TRATAMIENTO, EDAD y TORO, así como con los resultados obtenidos con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO.

Tabla 9. Asociación de la tasa de fertilidad con las variables analizadas en el estudio, y con los métodos de detección de celo ESTROTECT y ALPRO.

| Variable dependiente | Clases | n | Fertilidad (%) | | P |
|-----------------------|-----------|----|----------------|-------|-------|
| | | | GESTANTE | VACÍA | |
| Lote | LOTE 1 | 10 | 6,9 | 27,6 | 0,035 |
| | LOTE 2 | 12 | 31,0 | 10,3 | |
| | LOTE 3 | 7 | 10,3 | 13,8 | |
| Tratamiento | CON BUSOL | 19 | 34,5 | 31,0 | 0,517 |
| | SIN BUSOL | 10 | 13,8 | 20,7 | |
| Edad | MULTÍPARA | 22 | 31,0 | 44,8 | 0,757 |
| | PRIMÍPARA | 7 | 17,2 | 6,9 | |
| Toro | 6 toros | 29 | - | - | 0,446 |
| CELO_ESTROTECT | SI | 23 | 41,4 | 37,9 | 0,411 |
| | NO | 6 | 13,8 | 6,9 | |
| CELO_ALPRO | SI | 18 | 24,1 | 37,9 | 0,195 |
| | NO | 11 | 24,1 | 13,8 | |

Se consideró la posible influencia del semen utilizado en la inseminación (6 toros diferentes) sobre la fertilidad, pero no se observó una relación significativa, como tampoco se observó influencia del TRATAMIENTO o de la EDAD de las vacas sobre la fertilidad. Por el contrario, el LOTE experimental sí influyó en la fertilidad ($P=0,035$), efecto que no pudo explicarse con los parámetros considerados en este análisis. Por ello, finalmente se realizó un análisis de regresión logística, que permitió evaluar el efecto conjunto de todas las variables anteriormente estudiadas junto con la condición corporal de las vacas el día de la inseminación (Tabla 10). Igualmente, se analizó el efecto de dicha condición corporal sobre los resultados obtenidos en los métodos de detección de celo VISUAL, ESTROTECT y ALPRO. En la Tabla 10 se muestra la significación de las variables incluidas en los cuatro análisis de regresión logística realizados.

Tabla 10. Efecto de las variables incluidas en los modelos finales de regresión logística analizados para los tres métodos de detección de celo y para la fertilidad.

| Variable dependiente | Clases | n | P | | | |
|----------------------|-----------|----|-------------|----------------|------------|------------|
| | | | CELO VISUAL | CELO ESTROTECT | CELO ALPRO | Fertilidad |
| CC a la IA | Continua | 29 | 0,644 | 0,682 | 0,098 | 0,003 |
| Lote | LOTE 1 | 10 | 0,951 | 0,064 | 0,020 | 0,003 |
| | LOTE 2 | 12 | | | | |
| | LOTE 3 | 7 | | | | |
| Tratamiento | CON BUSOL | 19 | 0,066 | 0,076 | 0,307 | 0,237 |
| | SIN BUSOL | 12 | | | | |
| Edad | MULTÍPARA | 22 | 0,494 | 0,559 | 0,170 | 0,545 |
| | PRIMÍPARA | 7 | | | | |

Los resultados obtenidos en el análisis de regresión logística del método de detección VISUAL de nuevo pusieron en evidencia la existencia de un efecto del tratamiento sobre la detección de celo visual, de acuerdo con los resultados observados en el análisis de asociación de celo VISUAL por puntuación (Tabla 7), aunque en este caso fue una tendencia ($P=0,066$). Por otro lado, no se observó ningún efecto de la condición corporal, el lote o la edad de las vacas sobre este parámetro.

En línea con el modelo anterior, el tratamiento también mostró una tendencia ($P=0,076$) a influir en los resultados obtenidos con el método de detección de celo ESTROTECT.

Con relación al método ALPRO, el LOTE fue un factor de riesgo que afectó a la detección de celo mediante este sistema, y que podría asociarse a una sincronía de actividades dentro de cada lote de vacas manejado como un único grupo para las labores rutinarias de la granja. La condición corporal, el lote o la edad de las vacas no fueron factores de riesgo para la detección de celo mediante el método ALPRO.

Finalmente, el análisis de regresión logística detectó un efecto significativo del LOTE sobre la tasa de fertilidad, al igual que se observó en el análisis de asociación mostrado anteriormente (Tabla 9). En este caso, la fertilidad también se vio influida por la CONDICIÓN CORPORAL de las vacas registrada el día de la inseminación. Como se indica en la Tabla 3, la nota media de condición corporal no fue significativamente distinta entre los tres lotes. Sin embargo, en la Tabla 5 se observa que las vacas que resultaron gestantes tenían una condición corporal menor que las vacas que quedaron

vacías (2,72 vs. 2,99 respectivamente, $P=0,04$). Este resultado estaría de acuerdo con otros autores, que relacionan un estado corporal excesivo con una reducción de la fertilidad (Funston et al., 2012).

Conclusiones

7.- CONCLUSIONES

1. Tras la aplicación del protocolo de sincronización de celos, el 93% de las vacas tenía una concentración plasmática de progesterona compatible con una fase folicular, pero sólo un 38% de ellas mostró comportamiento de celo según el control visual por puntuación.
2. La detección de celo visual por puntuación fue el método más eficiente para valorar el comportamiento estral.
3. La expresión de celo detectada visualmente por puntuación estuvo estrechamente asociada al tratamiento sin GnRH inicial y a la fertilidad final.
4. El método de detección por el dispositivo ESTROTECT estuvo relacionado con la detección de celo visual.
5. El método de detección ALPRO fue el método que más registros falsos obtuvo (38% falsos positivos y 14% falsos negativos), por lo que no se consideraría un método de elección en las condiciones del presente trabajo.
6. La fertilidad a la inseminación estuvo influenciada a nivel individual por la condición corporal de los animales, detectándose un efecto negativo del estado de carnes excesivo sobre la tasa de concepción de las vacas.

Agradecimientos

8.-AGRADECIMIENTOS

Me gustaría dar las gracias:

A Albi y a Isabel por ofrecerme este proyecto sobre el sector vacuno que tanto me gusta; por haberme enseñado sobre esta parte de la ganadería que desconocía y que tanto puedo aprovechar en mi vida profesional; por tantos acentos corregidos; y sobre todo, porque después de seis años con el proyecto abandonado, me han apoyado y ayudado con las mismas ganas que el primer día.

A mi madre y a mi novia por insistirme tantas veces en que tenía que terminar el proyecto. A mi padre, mi tío y mi hermano por asumir la carga de trabajo en este tiempo que me he cogido de excedencia.

Al personal de la Garcipollera por su trabajo y su ayuda en la parte práctica del proyecto.

Al CITA por mantener una explotación de ganado vacuno con la que seguir investigando en la mejora de las razas, en su manejo y en la rentabilidad de las explotaciones.

A las entidades que han financiado este trabajo: INIA (proyectos de investigación RTA2010-00057, RTA2013-00059 y RZP2015-001), FEDER y Gobierno de Aragón.

Bibliografía

9.- BIBLIOGRAFÍA

- Altarriba J. (2011). "Programa de Mejora Genética de la Raza Bovina Pirenaica".
http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/autoctona-fomento/bovino/pirenaica/datos_reglamentacion.aspx
http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/autoctona-fomento/bovino/pirenaica/datos_reglamentacion.aspx. Fecha de consulta: 15 de octubre de 2017.
- Álvarez-Rodríguez J. (2009). "Mecanismos fisiológicos a través de los que la crianza del ternero actúa sobre la reproducción de la vaca nodriza". Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- ARCA (2016). Sistema Nacional de Información de Razas.
<http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/>
<http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/>. Fecha de consulta: 15 de octubre de 2017.
- Arthur, G. H., Noakes d. e.; Pearson, H. (1991). "Reproducción y obstetricia en veterinaria". 6ª edición. Interamericana McGRAW-Hill.
- Blache, D., Batailler, M., Fabre-Nys, C. (1994). "Oestrogen receptors in the preopticohypothalamci continuum : immunohistochemical study of the distribution and cell density during estrus cycle in the ovariectomized ewe". Journal Neuroendocrinol. 6:329–339.
- Blanco M. (2007). "Repercusión del destete precoz y la suplementación en lactación sobre las pautas de crecimiento y desarrollo de los terneros". Tesis doctoral. Universitat de Lleida.
- Britt J.H., Scott R.G., Amstrong J.D., Whitacre M.D. (1986). "Determinants of oestrus behaviour in lactating Holstein cows". Journal Dairy Science 69 2195-2202.
- Burke J.M., de la Sota R.L., Risco C.A., Staples C.R., Schmitt E.J.P., Thatcher W.W. (1996). "Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows". Journal Dairy Science 8, 1385- 1394.
- Bonato, G.B., Cunha, M.O., Santos, R.M. dos, Carneiro, L.C. (2012). "Eficiência do EstroTECT® na identificação de estros em vacas leiteiras mestiças, EstroTECT®

- efficiency in identifying estrus in crossbred dairy cows”. *Journal of Veterinary Research Animal Science* v. 49, n. 1, p. 19-23.
- Casasús I., Sanz A., Blanco, M., Villalba, D., Collantes-Fernández, E., Quintín, F., Hernández, M., Banzo, P., Macarulla, J.M. (2015). "Estrategias para la mejora de la eficiencia técnica en los rebaños de vacas nodrizas de raza Parda de Montaña". IX Congreso de la Federación Iberoamericana de Razas Criollas (FIRC-FEAGAS), Zaragoza, 19-21 de marzo: 163-165.
 - Casasús I., Sanz A., Villalba D., Ferrer R., Revilla R. (2002). “Factors affecting animal performance during the grazing season in a mountain cattle production system”. *Journal of Animal Science* 80: 1638-1651.
 - Casasús I., Sanz A., Villalba D., Ferrer R., Revilla R. (2004). “Intake capacity of two breeds of suckler cattle of different milk yield potential and validation of prediction models”. *Livestock Production Science* 89: 195-207.
 - De la Sota R.L., Risco C., Moreira F., Thatcher W.W., (1998). “Efficacy of a timed insemination program in lactating dairy cows during summer heat stress”. *Theriogenology* 49, 761-770.
 - Diskin M. G., Sreenan J. M. (2000) “Expression and detection of oestrus in cattle”. *Reprod. Nutr. Dev.* 40 (2000) 481-491, EDP Sciences.
 - Dransfield M. B. G., Nebel R. L., Pearson R. E., Warnick L. D. (1998). “Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system”. *Journal of Dairy Science* 81: 1874-1882.
 - Esteban-Gil A., Calvete C., Casasús I., Sanz A., Ferrer J., Peris M. P., Marcén-Seral J. M., Castillo J. A. (2017). “Epidemiological patterns of bovine besnoitiosis in an endemic beef cattle herd reared under extensive conditions”. *Veterinary Parasitology* 236: 14-21.
 - Etgen, W. G., James R. E., Reaves, P. M., (1987). “Dairy cattle feeding and management”. Chapter 2. Dairy herd records, Page 13-47. Jhon Wiley & sons. Inch.
 - Felton, C.A., Colazo, M.G., Ponce-Barajas, P., Bench, C.J. Ambrose, D.J. (2012). “Dairy cows continuously-housed in tie stalls failed to manifest activity changes during estrus”. *Canadian Journal of Animal Science* 92: 189-196.
 - Fernández-Novo A., Santos S. (2017). “La gestión reproductiva en vacuno de carne es una apuesta de futuro”. *Albeitar* 206:4-6.
 - Fordham, D., Rowlinson, P., Mccarthy, T. (1988). “Oestrus detection in dairy cows by milk temperature measurement”. *Research Veterinary Science*, 44: 366-374.

- Funston RN, Martin JL, Larson DM and Roberts AJ (2012). “Nutritional aspects of developing replacement beef heifers”. *Journal of Animal Science* 90, 1166–1171
- Geary T.W., Whittier J.C., Hallford D.M., MacNeil M.D. (2001). “Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols”. *Journal of Animal Science*, 79:1-4.
- Geary, T., Reeves, J. (1992). “Relative importance of vision and olfaction for detection of estrus by bulls”. *Journal Animal Science*, 70: 2726-2731.
- Glauber, C. (1993). “Detección de celos, factor esencial para una óptima eficiencia reproductiva en rodeos lecheros”. *Clínica y Reproducción Veterinaria*, 12: 2-5.
- Gyawu P., Ducker MJ, Pope G.S., (1991). “The value of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol in controlling the timing of oestrus and ovulation in dairy cows and allowing successful fixed time insemination”. *Br Veterinary Journal* 147:171–18.
- Hafez, E.S.E. (1996). “Reproducción e Inseminación Artificial en animales”. Mexico, Ed. Interamericana, McGraw-Hill.
- Heersche, G., Jr., and R. L. Nebel. (1994). “Measuring efficiency and accuracy of detection of oestrus”. *Journal of Dairy Science* 77:2754.
- Hoffman B., Rattemberg E., Gunzler O. (1978). “Fertility control in cattle by determining progesterone in milk fat”. *Current topics in veterinary medicine*. Vol. 1. Control of reproduction in the cow. 1ª ed., London, J.R. Sreenan. Pp 562-575.
- Holmes C. W., Wilson G. F. (1989). “Producción de leche en praderas”, Acribia,
- Holy, L. (1983). “Bases biológicas de la Reproducción bovina”. 1ª Ed.. Editorial Diana.
- Hurnick J.F., King G. J. (1975). “Estrus and related behaviour in postpartum Holstein cows”. *Journal Dairy Science* 55-68.
- Intervet (2007). “Compendium de reproducción animal”. Sinervia Uruguay.
- JIMÉNEZ-PÉREZ, F.; URDANETA, M.; GONZALEZ, R.; SANDOVAL, J.; URDANETA, M.; PARRA, A (2007). Evaluation of four methods for heat detection in dual purpose heifers. *Revista Científica (Maracaibo)*, v. 19, n. 4, p. 366-370,
- Kilgour, R., Skarsholt, B., Smith, J., Bremner, K., Morrison, M. (1977). “Observations on the behaviour and factors influencing the sexually active group in cattle”. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 37: 128-135.

- King, G. J.; Hurnik, J.F., Roberston, H.A., (1976). "Ovarian function and oestrus in dairy cows during early lactation". *Journal Animal Science* 42, 688-692.
- Koelsch, R. K., (1993). "Applications of activity, milk progesterone and hearth rate sensors for dairy reproduction management". *Dissertation Abstract International Sciences and Engineering*, 53;7 , 3624; abstract of thesis, Comell University. USA, 215 pp.
- Kyle, B., Kennedy, A., Small, J. (1998). "Measurement of vaginal temperature by radiotelemetry for the prediction of estrus in beef cows". *Theriogenology*, 49: 1437-1449.
- Lane, E. A., Austin, E. J., and Crowe, M. A. (2008). "Estrus synchronisation in cattle: current options following the EU regulations restricting use of estrogenic compounds in food-producing animals". *Animal Reproduction. Science* 109, 1–16.
- Lauderdale J.W. (1972). "Effects of PGF₂ α injection on pregnancy and estrous cycle of cattle". *Journal Animal Science* 35(Suppl. 1): 246. (Abstr.)
- Lauderdale J.W., McAllister J.F., Kratzer D.D., Moody E.L. (1981). "Use of prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) in cattle breeding". *Acta Veterinaria Scandinavia Supplement* 77:181-191.
- Le Du Y. L. P., Macdonald A. J., Peart J. N. (1979). "Comparison of two techniques for estimating the milk production of suckler cows". *Livestock Production Science* 6: 277-281.
- López-Gatius, F., Santolaria, P., Mundet, I., Yániz, J.L (2005). "Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows". *Theriogenology*. 63:1419–1429.
- Lowman B. G., Scott N. A., Somerville S. H. (1976). "Condition scoring suckler cows". *East of Scotland College of Agriculture, Bulletin no. 6*: 1-31.
- Lucy M.C., Billings H.J., Butler W.R., Ehnis L.R., Fields M.J., Kesler D.J., Kinder J.E., Mattos R.C., Short R.E., Thatcher W.W., Wettemann R.P., Yelich J.V., Hafs H.D. (2001). "Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF₂ α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers". *Journal Animal Science* 79:982–995.
- Maateje, K., Loeffler, S., Engel, B. (1997). "Predicting optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers". *Journal Dairy Science*, 80: 1098-1105.

- Mac Donald L.E. (1981). Reproducción y endocrinología veterinarias. Interamericana S.A. de C.V. México.
- Macmillan K.L., Peterson A.J. (1993). "A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR[®]-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates, and the treatment of postpartum anestrus". *Animal Reproduction Science* 33:1-25.
- Marcantonio, S. (1998). "Métodos auxiliares a la detección de celos. En: Detección de celo" Romage S.A. 24-28.
- Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Cook, B., Olson, W.O., Mapletoft, R.J. (2002). "The use of progestins for fixed-timed artificial insemination in beef cattle". *Theriogenology*; 57:1049-1059.
- Moore, A., Spahr, S. (1991). "Activity monitoring and an enzyme immunoassay for milk progesterone to aid in the detection of estrus". *Journal Dairy Science*, 74: 3857-3862.
- Nelson S. T., Haadem C. S., Nødtvedt A., Hessle A., Martin A. D. (2017). "Automated activity monitoring and visual observation of estrus in a herd of loose housed Hereford cattle: Diagnostic accuracy and time to ovulation". *Theriogenology* 87: 205-211.
- Odde, KG (1990). "A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci*". 68:817-830.
- Orihuela A. (2000). "Some factors affecting the behavioural manifestation oestrus in cattle". *Application Animal Behavioural Science* 70, 1-16
- Patterson D.J., Perry R.C., Kiracofe G.H., Bellows R.A., Staigmiller R.B., Corah L.R. (1992). "Management considerations in heifer development and puberty". *Journal Anim. Science* 70:4018-4035.
- Penny C.D., Lowman B.G., Scott N.A., Scott P.R. (1997). "Repeated oestrus synchrony and fixed-time artificial insemination in beef cows". *Veterinary Record* 140:496-498.
- Peralta O. A., Pearson R. E., Nebel R. L. (2005). "Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd". *Animal Reproduction Science* 87: 59-72.
- Peters, A. R. (1991). "Recent techniques for improving reproductive efficiency of livestock". *Proceeding of an international symposium. Vienna 15-19 April.* 423-436. (Cab abstracts).

- Pursley J.R., Mee M.O., Wiltbank M.C. (1995). "Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH". *Theriogenology* 44:915-923.
- Rengrati (2012). "Informe Nacional de Vacuno de Carne 2012.
- Revilla R. (1997). "Manejo de la reproducción en razas autóctonas explotadas en diferentes sistemas de producción". 1 Congreso Iberico Reproducao Animal, Estoril, Portugal, 66-85.
- Roche J.F. (1976). "Calving rate of cows following insemination after a 12-day treatment with silastic coils impregnated with progesterone". *Journal of Animal Science* 43:164–169.
- Rodríguez Sánchez J. A. (2016). "Repercusión de las pautas de crecimiento en ganado vacuno de carne sobre la productividad en hembras de reposición". Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Roelofs J., Lopez-Gatius F., Hunter R. H. F., Van Eerdenburg F., Hanzen C. (2010). "When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects". *Theriogenology* 74: 327-344.
- Roelofs J., Van Eerdenburg F.J.C.M., Soede N.M., Kemp B. (2005). "Various behavioural signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle". *Theriogenology*, 63:1366-77
- Rorie R. W., Bilby T. R., Lester T. D. (2002). "Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle". *Theriogenology* 57: 137-148.
- Sakaguchi, M. (2011). "Practical aspects of the fertility of dairy cattle". *Journal Reproduction Development* 57:17–33.
- Sakaguchi, M., Fujiki, R., Yabuuchi, K., Takahashi, Y., Aoki, M. (2007). "Reliability of estrus detection in Holstein heifers using a radiotelemetric pedometer located on the neck or legs under different rearing conditions". *Journal of Reproduction and Development* 53,819-828.
- Sanz A., Bernués A., Villalba D., Casasús I., Revilla R. (2003). "Factores de explotación asociados a la duración del anestro postparto en vacas nodrizas de razas Parda de Montaña y Pirenaica". *Spanish Journal of Agricultural Research* 1: 7-21.
- Sanz A., Revilla R., Álvarez-Rodríguez J., Rodríguez-Sánchez J. A., Casasús I. (2013). "La fertilidad de la cabaña nacional de vacas nodrizas de nuevo a examen". *Mundo ganadero* 251: 38-44.

- Sanz A., Rodríguez-Sánchez J. A., Noya A., Ferrer J., Casasús I., Álvarez-Rodríguez J., Revilla R. (2016). “Estrategias de manejo para mejorar la fertilidad de los rebaños de vacas nodrizas”. *Vacuno de élite* 3: 60-65.
- Savio J.D., Thatcher W.W., Badinga L., de la Sota R.L., Wolfenson D., (1993). “Regulation of dominant follicle turn over during the estrous cycle in cows”. *Journal Reproduction Fertility* 97:197-203.13.
- Scipioni, R.; Foote, R. (1999). “Short communication: An electronic probe versus milk progesterone as aids for reproductive management of small dairy herds”. *Journal Dairy Science* 82: 1742-1745.
- Select Sires, Select Reproductive Solutions (2014). “Heat detection and timing of Insemination Artificial”. Spanish versión.
- Senger, P. (1994). “El problema de la detección de celo”. *Producir* XXI, 2: 15-16.
- Shipka, M. (2000). “A note on silent ovulation identified by using radiotelemetry for estrous detection”. *Application Animal Behaviour Science* 66: 153-159.
- Short R. E., Bellows R. A., Staigmiller R. B., Berardinelli J. G., Custer E. E. (1990). “Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle”. *Journal of Animal Science* 68: 799-816.
- Smith, J.; Spahr, S.; Puckett, H. 1989. Electrical conductivity of reproductive tissue for detection of estrus in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 693-701.
- Spahr, S. L. (1989). “New Techniques in cattle production”. Edited by C. J. C.
- Thatcher W. W., Guilbault L. A., Collier R. J., Lewis G. S., Drost M., Knickerbocker J., Foster D. B., Wilcox C. J. (1982). "The impact of ante-partum physiology on postpartum performance in cows". En *Factors influencing fertility in the postpartum cow*. H. Karg, E. Schallenberger (Ed.). Nijhoff M., 20: 325.
- Thatcher W.W., Bilby T.R., Bartolome J.A., Silvestre F., Staples C.R., Santos J.E.P., (2006). “Strategies for improving fertility in the modern dairy cow”. *Theriogenology* 65, 30-44.
- Van Eerdenburg F.J.C.M., Loeffler, H.S.H. Van Vliet, J.H. (1996). “Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem”. *The Veterinary Quarterly* 18: 52-54.
- Van Eerdenburg, F.J.C.M. (2006). “Estrus detection in Dairy Cattle: How to be beat the bull”. *Vlaams Diergeneeskunding Tijdschrift* 75:61-69.

- Van Eerdenburg, F.J.C.M., Karthaus, D. Taverne, M.A.M. Merics, I. Szenic, O. (2002). "The relationship between estrous behavioural score and time of ovulation in dairy cattle". *Journal of Dairy Science* 85 (5): 1150-1156.
- Van den Berg M. G. (2014). "Comparison of four heat-detection methods on an experimental dairy-farm in Austria". Master Sci. Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine. págs.
- Villalba D., Casasús I., Sanz A., Estany J., Revilla R. (2000). "Prewaning growth curves in Brown Swiss and Pirenaica calves with emphasis on individual variability". *Journal of Animal Science* 78: 1132-1140.
- Villalba D., De la Fuente L. F. (2012). "Programa de Mejora Genética de la Raza Bovina Parda de Montaña". http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/autoctona-fomento/bovino/parda-montana/datos_reglamentacion.aspx". Fecha de consulta: 15 de octubre de 2017.
- Webster, J., (1993). "Understanding the dairy cow". Blackwell scientific publications Page 312-325.
- Xu, Z.; Mcknight, D.; Vishwanath, R.; Pitt, C.; Burton, L.(1998). "Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture". *Journal Dairy Science*, 81:2890-2896.
- Yániz J.L., Santolaria, P., Giribert,A., López-Gatiús, F. (2006). "Factors affecting walking activity at estrus during postpartum period and subsequent fertility in dairy cows". *Theriogenology* 66: 1943-1950.
- Zartman, D. L., (1983). "Intravaginal temperature telemetry". *Theriogenology*. 9:541-544.