



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Postgrados de la Facultad de Veterinaria (PPFV)

**MANEJOS FARMACOLÓGICOS Y SU RELACIÓN CON EL MOMENTO DE LA
OVULACIÓN EN PROGRAMAS DE INDUCCIÓN/SINCRONIZACIÓN DE CELOS
E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF) EN VACAS DE CARNE**

Marcelo D. RODRÍGUEZ IRAZOQUI

TESIS DE MAESTRIA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Uruguay

2008



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa Académico de Postgrados de la Facultad de Veterinaria (PPFV)

**MANEJOS FARMACOLÓGICOS Y SU RELACIÓN CON EL MOMENTO DE LA
OVULACIÓN EN PROGRAMAS DE INDUCCIÓN/SINCRONIZACIÓN DE CELOS
E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF) EN VACAS DE CARNE**

Marcelo D. RODRÍGUEZ IRAZOQUI

Director de Tesis: PhD. Edgardo RUBIANES

TESIS DE MAESTRIA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Uruguay

2008

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE
DEFENSA DE TESIS**

Ing. Agr., PhD Graciela Quintans
Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
Programa Nacional de Bovinos de Carne

Lic., PhD Rodolfo Ungerfeld
Profesor Adjunto de Fisiología Animal
Facultad de Veterinaria, Universidad de la República –Uruguay.

MV., MSc., PhD., Raquel Perez Clariget
Profesora Titular de Anatomía y Fisiología Animal del Departamento de
Producción Animal y Pasturas
Facultad de Agronomía, Universidad de la República - Uruguay

2008

INDICE

1		
2		
3		
4	INTRODUCCIÓN	1
5	ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	3
6	<i>Situación de la cría vacuna en el Uruguay</i>	3
7	Anestro posparto	4
8	<i>Control neuroendócrino y dinámica folicular posparto</i>	4
9	<i>Ciclos cortos durante el posparto</i>	6
10	<i>Efectos del ternero y la nutrición sobre el anestro posparto</i>	7
11	Alternativas tecnológicas para la mejora de las tasas de procreo en vacas de	
12	carne en posparto.....	8
13	<i>Manejo nutricional</i>	8
14	<i>Control del amamantamiento: estrategias para disminuir el efecto del ternero</i>	
15	9
16	<i>Tratamientos hormonales para la mejora de la eficiencia reproductiva. ..</i>	10
17	<i>Estrógenos</i>	13
18	<i>Prostaglandinas y sus análogos</i>	14
19	<i>GnRH</i>	15
20	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	17
21	Objetivos del estudio.....	17
22	ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN	18
23	MATERIALES Y MÉTODOS	18
24	Diseño general de los experimentos.....	18
25	<i>Animales y manejo</i>	18
26	<i>Hormonas utilizadas</i>	19
27	<i>Cuantificación de P4</i>	19
28	<i>Diagnóstico de gestación</i>	20
29	<i>Análisis estadístico</i>	20
30	Experimento I.....	21
31	<i>Lugar, animales y tratamientos</i>	21
32	Resultados	22
33	Discusión	23
34	Experimento II:	25
35	<i>Lugar, animales y tratamientos</i>	25
36	Resultados	26
37	Discusión	27
38	Experimento III	30
39	<i>Lugar, animales y tratamientos</i>	30
40	<i>Seguimiento ecográfico</i>	32
41	<i>Obtención de muestras sanguíneas</i>	32
42	<i>Diagnóstico de gestación</i>	32
43	Resultados	32

44	Discusión	36
45	Experimento IV	40
46	<i>Lugar, animales y tratamientos:</i>	40
47	<i>Seguimiento ultrasonográfico</i>	41
48	Resultados	42
49	Discusión	44
50	DISCUSIÓN GENERAL.....	45
51	CONCLUSIONES	47
52	ANÁLISIS GLOBAL DE LOS EXPERIMENTOS.....	48
53	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
54	TABLAS Y FIGURAS	60
55	AGRADECIMIENTOS	61
56		
57		

58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el comportamiento reproductivo (celos, preñez) en protocolos de sincronización/inducción de celos y ovulaciones que utilizan CIDR-B, PGF2 α y Benzoato de Estradiol y GnRH-PGF2 α -GnRH (OvSynch®), para la IATF, en vacas de cría en posparto se realizaron dos Experimentos (**I** y **II**, **n= 100 por experimento**). Posteriormente (Experimentos III y IV) se determinó el momento de la ovulación en el protocolo de sincronización/inducción de la ovulación que utiliza CIDR-B. En todos los experimentos se utilizaron vacas de carne, pastoreando campo natural, con 3,5 (escala de 1-8) de estado corporal y 84 días posparto, en promedio. El protocolo CIDR-BE-PGF2 α -BE-IATF (Experimento **I** y **II**), presentó una alta manifestación de celo a la IATF, pero un bajo porcentaje de preñez, mientras el protocolo OvSynch® (Experimento **II**), presentó un bajo número de animales en celo y una baja respuesta a la IATF. Los animales del grupo CIDR+BE, del Experimento **III** (n=30), el 80% ovularon a las 60hs post retiro del CIDR, del grupo GnRH lo hicieron el 40% y el 40% del grupo Control, el resto lo hicieron a las 84 hs. En el Experimento **IV** (n=38) a las 60 hs ovuló el 69% del grupo BE1, el 50% del BE2 y el 46% del grupo GnRH. Los tratamientos de sincronización/inducción de celos en base a progesterona indujeron celos y ovulaciones con una alta sincronización, con aceptables tasas de preñez a la IATF. Sin embargo el bajo número de animales utilizado no permitió establecer diferencias significativas entre los tratamientos.

92 **SUMMARY**

93

94 The objective of this study was the experimental evaluation of synchronization/induction
95 protocols for fixed-time artificial insemination (FTAI) in postpartum beef cows. In
96 Experiments I and II (n= 100 for experiments), reproductive behaviour (oestrus,
97 pregnancy) of synchronization/induction protocols was evaluated in postpartum beef cows,
98 which used CIDR-B, PGF2 α and Oestradiol Benzoate (OB) and GnRH-PGF2 α -GnRH
99 (Ovsynch[®] protocol), for FTAI. In experiments III and IV was determined the moment of
100 the ovulation in the protocol synchronization/induction of the ovulation in beef cows that
101 used the CIDR. In all the experiments the cows used, were grazing at natural field, with
102 body condition score of 3.5 (1-8 scale) and 84 postpartum days, in average. The CIDR-
103 OB-PGF2 α -OB protocol (Experiment I and II), presented a high manifestation of oestrus
104 behaviour to the FTAI, but a low percentage of pregnancy, while the Ovsynch[®] protocol
105 (Experiment II), showed a low number of animals in oestrus behaviour and a low response
106 to the FTAI. In Experiment III (n= 30) 80% of the animals of CIDR group ovulated 60
107 hours after CIDR removal, 40% from GnRH group ovulated and 40% of the Control
108 group; the rest of the animals did it at 84 hours. In Experiment IV (n=38), 60 hours post
109 CIDR removal ovulated 69% of BE1 group, 50% of the BE2 and 46% of the GnRH group.
110 The treatment synchronization/induction oestrus on the basis of progesterone induced
111 oestrus behaviour and ovulations with a high synchronization, but the low number of
112 animals used did not allow establishing significant differences between the treatments.

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

INTRODUCCIÓN

El sector carne vacuna se ha constituido en los últimos años en el mayor proveedor de divisas y uno de los rubros más dinamizadores de la economía uruguaya. La producción de carne vacuna aumentó en el 2006 un 6.4% respecto al 2005 y en un 2,5 % en el ejercicio 2007/08, situando a la ganadería uruguaya como una de las más competitivas del mundo y a nuestro país entre los principales países exportadores (Anuario OPYPA-MGAP, 2006, OPYPA, 2008).

La principal base alimenticia de la “cría” vacuna en el Uruguay, sustento de la producción de carne nacional, es el campo natural. Los resultados físico-económicos de los establecimientos criadores y de ciclo completo dependen, en gran medida, de la eficiencia reproductiva de sus hembras (Orcasberro, 1991). Por cada 100 vacas entoradas el porcentaje de terneros destetados anualmente es de aproximadamente el 64%, manteniéndose prácticamente sin alteraciones en los últimos 20 años (Pereira, 2000; Encuesta de Preñez-Estimación de la Producción Nacional de Terneros, MGAP-DIEA 2002; 2004). Este valor es muy bajo en relación al potencial de la especie y es inferior a los promedios alcanzados en otros países donde predominan bovinos de carne de razas europeas bajo régimen de pastoreo (Orcasberro, 1991). La baja eficiencia reproductiva (número de terneros destetados/vaca entorada) repercute directamente sobre los kilos de terneros destetados por vaca entorada, limitando así los resultados físicos y económicos de las empresas ganaderas y en forma global, la producción de carne del país. Para que una vaca destete un ternero por año el intervalo entre el parto y la concepción no debe exceder los 80-85 días y debe superar la primer limitante en la eficiencia reproductiva: el anestro posparto, periodo que está fuertemente afectado por la cantidad y calidad de la ingesta (Osoro, 1989; Short & Adams, 1988). El prolongado anestro posparto que se observa en las vacas en nuestro país impide que un alto número de vacas puedan concebir dentro del período de entore, o que lo hagan muy tardíamente (Geymonat, 1985a). El hecho de que las vacas se preñen hacia el final del período afecta negativamente la producción de terneros no solo de ese entore sino también del siguiente. Las vacas que paren temprano en la época de partos tienen terneros más pesados al momento del destete y un mayor período posparto para recuperarse, además de tener más probabilidades de quedar gestantes en el siguiente entore.

Con el objetivo de mejora de la eficiencia reproductiva, se han desarrollado y aplicado diversas tecnologías. Entre ellas la inseminación artificial (IA), que es quizás, la biotecnología reproductiva más importante, más extensamente empleada y de mayor impacto en los últimos tiempos. Sin embargo, una de las limitantes para su aplicación ha sido la detección de los

celos, especialmente en el posparto temprano, lo que debilita el uso potencial de la técnica (Murugavel, 2003).

La sincronización de celos implica la manipulación del ciclo estral o la inducción de ovulaciones y celos en animales que no están ciclando, con el objetivo de lograr el mayor porcentaje posible de animales en estro en un momento predeterminado (Odde, 1990, Thatcher et al., 2001). La mayoría de las técnicas utilizadas para el control del ciclo estral se basan en la manipulación de la fase luteal del ciclo, pero aquellos animales que se encuentran en anestro no ovularán, y por lo tanto no resultarán gestantes (Odde, 1990; Macmillan & Burke, 1996). Esta situación se evidencia particularmente en vacas amamantando, en condiciones de pastoreo extensivo, y sometidas a bajos niveles de alimentación luego del parto (Short & Adams, 1988). En la mayoría de los casos el anestro es consecuencia de que el folículo dominante no ovula. Esto se explica porque debido a las bajas concentraciones y pulsatilidad de la LH, no se estimula de forma adecuada la producción del estradiol folicular, por lo que no se produce el pico preovulatorio de LH y el celo o la ovulación no ocurren (Macmillan & Burke, 1996). Si el folículo dominante no ovula, regresa, y emerge una nueva onda folicular en un intervalo de unos 8 a 10 días (Stagg *et al.*, 1995). La inyección de estradiol o GnRH en estas circunstancias puede inducir el pico de LH y la ovulación. Sin embargo, no siempre ésta es seguida de una fase luteal a menos que la inducción sea precedida de una fase luteal, o ella sea producida artificialmente mediante la utilización de progesterona o progestágenos (Macmillan & Burke, 1996). Si el estro y la ovulación pueden ser sincronizados exitosamente en vacas en anestro, estas podrían ser incluidas en programas de control del ciclo estral y de la ovulación como las vacas cíclicas (Macmillan & Burke, 1996), permitiendo su IA, y contribuyendo a una mayor difusión de materiales genéticos de calidad.

Durante la última década se ha generado un importante desarrollo, sobre condiciones intensivas de producción, en la investigación de métodos de sincronización de celos que utilizan progesterona y estrógenos, o que utilizan la combinación de prostaglandinas y GnRH. Este hecho se ha traducido además en un fuerte impulso comercial de las empresas elaboradoras de los productos y/o comercializadoras de ellos para estimular su uso masivo. Sin embargo en el Uruguay, con una ganadería de carne cuyas características productivas se basan fundamentalmente en el uso del pastizal natural, existen escasos estudios que aporten información sobre el uso de estos protocolos en condiciones extensivas de producción.

El propósito del presente trabajo fue comprar la respuesta reproductiva (animales en celo, animales gestantes), y evaluar el momento de ovulación en relación con la Inseminación

Artificial a Tiempo Fijo (IATF), de protocolos de inducción/sincronización de celos que utilizan progesterona natural (CIDR-B), GnRH, y Benzoato de Estradiol empleados en vacas de carne en postparto, en condiciones de pastoreo continuo sobre campo natural.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Situación de la cría vacuna en el Uruguay

Luego de la crisis económica ocurrida en el año 2002 en nuestro país, la actividad agropecuaria logró desde mediados del año 2004, importantes niveles de crecimiento expansivo superando cifras históricas. Entre los años 2002 y 2005 el PBI del sector agropecuario creció 3,4% (unos 1500 millones de dólares). Los mayores niveles de aumento en la producción pecuaria se observaron en la ganadería, con una fuerte expansión de la producción de carne, leche y lana. El sector carne vacuna se constituyó en el mayor proveedor de divisas y uno de los rubros más dinamizadores de la economía.

En el Uruguay, la cría de bovinos de carne involucra 6,6 millones de cabezas y 8,3 millones de hectáreas. Del total de empresas especializadas en ganadería de carne y lana, el 76% presenta énfasis criador, cuyo principal rubro de la explotación es la producción de terneros. El valor de su principal producción, que son los terneros, es de aproximadamente US\$ 500 millones por año (Pereira & Soca, 2000). En el país, durante las últimas dos décadas, se han destetado en promedio 64 terneros cada 100 vacas entoradas, con una importante variación entre años (Pereira & Soca, 2000; MGAP-DIEA, 2002; 2004). En este sentido, han sido particularmente dramáticos los efectos producidos por los fenómenos de sequía ocurridos en el país sobre el desempeño reproductivo de los rodeos de cría del Uruguay. Como consecuencia de un grave déficit hídrico producido en el país en los años 89-90, se han dado situaciones extremas en las que se alcanzó solamente 50% de preñez. Por el contrario, cuando la situación es la inversa, se han llegado a obtener resultados de preñez superiores a un 70% (75 y 72%, años 1992 y 2004 respectivamente; DIEA, 2004).

El reducido porcentaje de destete que caracteriza a la ganadería nacional, es principalmente debido al bajo estado nutricional de las vacas al parto e inicio del entore, lo que se traduce en un anestro posparto prolongado y una baja probabilidad de preñez (Geymonat, 1985; Orcasberro *et al.*, 1992). La restricción del consumo de energía, que produce un bajo estado nutricional de las vacas al parto e inicio de entore (Short *et al.*, 1990), y el amamantamiento (Williams, 1990), junto con el efecto de la presencia del ternero (Stevenson *et al.*, 1997; Lamb *et al.*, 1997; Quintans *et al.*, 2004), son los factores de mayor incidencia en la

prolongación del anestro post-parto en ganado de carne. La interfase nutrición energética-reproducción, con énfasis en la respuesta fisiológica, metabólica y productiva, ha sido motivo de constante revisión y síntesis en la literatura internacional durante los últimos 15 años (Short *et al.*, 1990; Bossis *et al.*, 1999; Wetteman *et al.*, 2003; Butler, 2003; Hess *et al.*, 2005). No obstante, los mecanismos por los que la subnutrición energética afecta la eficiencia reproductiva aún no están totalmente comprendidos (Hess *et al.*, 2005).

La cría vacuna es ineficiente en el uso de la energía, destinando el 70 por ciento de la energía consumida al mantenimiento de funciones vitales (Dickerson, 1978). Esto ha determinado que la actividad se lleve a cabo en regiones con pastizales nativos, caracterizados por sus grandes variaciones en la cantidad y calidad de nutrientes ofertados. El aumento en la competitividad del sector productor de carne nacional se asocia necesariamente a una mejora en la eficiencia del proceso de cría, lo que se traduce en una mayor eficiencia económica global de todo el sistema. La cría es la máquina que provee el insumo (ternero) de todo el proceso que se desarrolla en la cadena cárnica, por lo tanto es de gran importancia para el Uruguay lograr una mayor eficiencia reproductiva de los rodeos de cría.

Anestro posparto

Control neuroendócrino y dinámica folicular posparto

Luego de la regresión del cuerpo lúteo (CL) de gestación, continúa un período de anestro muy variable antes de la primera ovulación. La duración de este período depende de diversos factores medio ambientales o patológicos, dentro de los que se incluyen el nivel de nutrición, la condición corporal, el amamantamiento, distocias, raza, edad, momento del año, patologías uterinas y enfermedades crónicas. Durante las últimas etapas de la gestación el eje hipotálamo-hipófisis-ovario está bajo los efectos de la retroalimentación negativa de los esteroides placentarios y ováricos: estrógenos y progesterona. Estos efectos provocan la acumulación de FSH en la hipófisis anterior, supresión de la liberación de la FSH, depleción de las reservas de LH y finalmente la supresión del crecimiento folicular. El requisito fundamental para el reinicio de la actividad cíclica normal en el posparto de la vaca es la liberación pulsátil de la LH (Stevenson *et al.*, 1997).

La emergencia de la primera onda folicular luego del parto se inicia luego de que entre los 5 y 14 días pos parto comienza a aumentar la secreción de FSH (De Rensis y Peters, 1999). El crecimiento del primer folículo dominante es estimulado por un aumento en la pulsatilidad de secreción de LH (de alta frecuencia y baja amplitud) (Savio *et al.*, 1990). En la mayoría de las

vacas la primera ovulación ocurre sin signos de celo, y el primer ciclo ovárico posparto es variable en su duración, generalmente menor a la normal (Savio et al., 1990; Stagg et al., 1995). Se ha reportado que cuando se realiza el monitoreo del crecimiento folicular posparto en vacas de carne que amamantan, se observan folículos de 8 mm al día 7 posparto, con un incremento importante en su número entre los días 7 y 42 posparto (Stagg et al., 1995). Sin embargo en condiciones normales de alimentación, el primer folículo dominante solo ovula en el 11% de los animales (Stagg et al., 1995), y la primera ovulación puede ser detectada recién a los 40 días posparto (De Rensis & Peters, 1999). Estos reportes sustentan la hipótesis de que el prolongado anestro posparto en la vaca de carne puede ser atribuido más a una falla en la ovulación del folículo dominante, que a un retraso en su desarrollo (Stagg et al., 1995). Esto es consistente con la observación de que el aumento en la secreción pulsátil de LH es más tardío en las vacas que amamantan, con respecto a las vacas que solo son ordeñadas, lo que sugiere que los folículos no reciben una señal correcta de las gonadotropinas para su desarrollo al estadio de folículo ovulatorio (De Rensis & Peters, 1999).

El período desde el parto hasta el primer celo acompañado de ovulación varía entre 15 y 100 días (De Rensis & Peters, 1999). En el Uruguay, donde la fluctuación de la oferta de forraje producto de las variaciones del pastizal natural es muy importante, se reporta que el 95% de los animales no presentaban niveles de progesterona en sangre indicadores de actividad luteal a los 79 días luego del parto (Rodríguez-Irazoqui et al., 2003). Menchaca & Chifflet (2005) en nuestro país, reportan que vacas multíparas con un estado corporal entre 3 y 5 a los 60 a 110 días posparto, solo un 18,6 % se encontraba ciclando. En vacas primíparas ese porcentaje era de 11,9%. En vacas de carne amamantando se reportó que solo el 10% ovuló en la primer onda folicular posparto, y muchas presentaron una gran cantidad de ondas foliculares antes de la primera ovulación (Stagg et al., 1995).

Los mecanismos fisiológicos subyacentes que determinan el crecimiento folicular hasta la selección sin ovulación (por no alcanzar el tamaño ovulatorio), serían similares en vaquillonas prepúberes y vacas posparto. En vaquillonas prepúberes el hipotálamo es extremadamente sensible a la inhibición generada por la retroalimentación del estradiol sobre los pulsos de LH (Wiltbank et al., 2002). Es probable que durante el período postparto temprano la subnutrición podría determinar un estado fisiológico similar al prepuberal, en el que el estradiol es inhibitorio de la secreción de la GnRH hipotalámica (Wiltbank et al., 2002). El crecimiento del folículo dominante, con aumento de las cantidades de estradiol circulante, inhibiría la secreción de GnRH hipotalámica y de LH hipofisaria. La baja frecuencia de pulsos de LH no

permitiría alcanzar el tamaño folicular preovulatorio ni producir cantidades de estradiol que desencadenen el proceso ovulatorio.

Estos efectos estarían directamente relacionados con el balance energético de la vaca (Wiltbank et al., 2002). En vacas de carne existe un período de balance energético negativo determinado por un consumo insuficiente de energía para satisfacer las demandas de la lactación. Esta restricción en la ingesta se da comúnmente en condiciones de pastoreo sobre pastizal natural sin suplementación, y puede provocar un mayor número de ondas foliculares previas a la primera ovulación posparto y, como consecuencia, un aumento en el tiempo en el que ésta ocurra (Stagg et al. 1995; Wiltbank et al., 2002).

Una vez que el balance energético se hace positivo, comienza la liberación intermitente del hipotálamo de GnRH hacia la hipófisis por medio del sistema porta hipotálamo-hipofisario. Esto estimula la liberación de FSH y LH desde la hipófisis, lo que estimula la producción de andrógenos y estrógenos por parte de las células foliculares de la teca y de la granulosa respectivamente, lo que finalmente determina la liberación del pico preovulatorio de LH y la consecuente ovulación.

Ciclos cortos durante el posparto

La asociación entre períodos anovulatorios largos y ciclos cortos, menores a 17 días, en el posparto, puede ser atribuida a que luego del parto las vacas presentan bajos niveles de progesterona. En efecto, Murphy et al. (1990) y Stagg et al. (1995) reportan un 78 y un 82% de ciclos cortos en vacas de carne durante el postparto temprano respectivamente. Los ciclos cortos podrían ser consecuencia de la necesidad de una exposición previa de progesterona que prepare los folículos para comenzar el funcionamiento como CL (Stagg et al., 1995). Se ha sugerido que la prostaglandina secretada durante la involución uterina sería parcialmente responsable de la luteólisis temprana en el posparto, aunque este mecanismo no explica adecuadamente la asociación entre la duración del posparto y la duración de la fase luteal. Un retraso en la involución uterina que determine altas concentraciones de prostaglandinas provocaría la regresión prematura del CL, a pesar de que el mismo tenga una capacidad funcional normal (Bencharif et al., 2000).

Efectos del ternero y la nutrición sobre el anestro posparto

Se ha determinado que el amamantamiento y la nutrición son los principales factores que retrasan el reinicio de la ciclicidad posparto (Short & Adams, 1988; Short, et al., 1990). Además de las demandas energéticas que implica la lactación, se ha demostrado que la sola presencia del ternero, independientemente del acto de mamar, afecta negativamente el reinicio de la actividad cíclica postparto (Hoffman et al., 1996; Lamb et al., 1997; Stevenson et al., 1997). Hoffman et al. (1996), reportaron que el intervalo al primer celo posparto en vacas a cuyos terneros se les colocó tablillas nasales que les impedían mamar (pero con contacto madre-hijo permanente), y vacas con terneros que amamantan, fueron similares. Por el contrario, vacas a las que se les destetó el ternero presentaron un menor intervalo a la primera ovulación (Hoffman et al., 1996).

Cuando existe un déficit en el aporte diario de nutrientes para suplir las necesidades fisiológicas del amamantamiento o la preñez, los animales desarrollan la potencialidad de realizar cambios metabólicos a expensas de la quiescencia de otras funciones no vitales para el organismo o para la especie (Stevenson et al., 1997). Estas prioridades involucran un redireccionamiento de los mecanismos homeostáticos que podrían ser mediados por la prolactina, somatotrofina, insulina, IGF-I, 17β -estradiol y glucocorticoides (Stevenson et al., 1997). De acuerdo a Short & Adams (1988), la energía disponible en los rumiantes se utiliza prioritariamente en: 1) metabolismo basal, 2) actividad (búsqueda de alimentos y de resguardo ante condiciones adversas), 3) crecimiento, 4) reservas de energía, 5) preñez, 6) lactación, 7) reserva adicional de energía, 8) ciclo estral e iniciación de la preñez, con componentes asociados como secreción de gonadotrofinas, desarrollo de folículos ováricos y ovulación. De acuerdo con Short y Adams (1988) y Stevenson et al. (1997), el reparto de nutrientes para la producción de leche y la reproducción es el resultado de complejas interacciones entre calidad y cantidad de la dieta, y el orden de prioridades del animal y la reserva de nutrientes.

Por otra parte, Hoffman et al. (1996) plantean que las vacas con mejor comportamiento maternal permiten a su ternero mamar permanentemente y tienen un patrón de secreción de LH más bajo, comparadas con aquellas vacas clasificadas como de bajo comportamiento maternal.

En síntesis, la presencia del ternero junto a su madre, aún sin amamantar, determina un mayor intervalo parto-primera ovulación, aunque no es tan extenso como cuando el ternero está continuamente junto a su madre mamando (amamantamiento ad libitum). Este efecto

interactúa con las importantes variaciones de producción de forraje (tanto entre como intra estación) que se observan en el campo natural en nuestras condiciones, determinando la baja eficiencia reproductiva de los rodeos de cría en pastoreo. En nuestras condiciones extensivas, alimentación en base a campo natural y sin suplementación, se han reportado períodos de anestro posparto mayores a 120 días (revisado por Quintans, 2008)

Alternativas tecnológicas para la mejora de las tasas de procreo en vacas de carne en posparto

Manejo nutricional

El gasto energético derivado en la alimentación del ternero, además del estímulo generado en el acto de mamar (Williams, 1990; Viker et al., 1993), contribuiría a prolongar la anovulación en vacas de carne con cría al pie, debido a una mayor demanda fisiológica de nutrientes (Short et al., 1990, Hoffman et al., 1996).

La evaluación del estatus nutricional de la vaca utilizando la escala de estado corporal (EC), permite predecir la posibilidad del retorno a la ciclicidad luego del parto (Oscarsberro, 1991). El EC refleja los cambios en la reducción de la ingesta de nutrientes junto con la pérdida de peso vivo, que de presentarse en forma drástica impide un desarrollo folicular adecuado y el cese de la actividad estral (revisado por Vizcarra et al., 1998), lo cual se manifiesta con disminución de la actividad luteal. El anestro posparto, consecuencia de la subnutrición energética en gestación avanzada, disminuye la probabilidad de que una vaca quede preñada en el siguiente entore (Short et al., 1990). En otras condiciones productivas se demostró que la duración del anestro está afectada por el EC al parto y por el nivel de alimentación postparto (Short et al., 1990).

El campo natural en el Uruguay presenta una marcada variabilidad entre y dentro de años en producción de forraje y concentración de nutrientes. Esta variación se expresa en lo que se conoce como “efecto año” y se traduce en alteraciones en el EC al parto, en la capacidad de carga (animales/hectárea), en la producción de terneros y en oscilaciones en el ingreso económico del sistema. Según lo reportado por Trujillo et al. (1996), el EC al que se debería llegar al parto para tener una alta probabilidad de quedar preñadas en el siguiente entore ($P=0.85$) sería, para vacas multíparas 4 y para vaquillonas de 4,5, según la escala del 1-8 definida por Vizcarra et al. (1986). En estudios recientes hemos encontrado que con una suplementación con afrechillo de arroz durante 20 días junto con técnicas de control del amamantamiento (destete temporario), en vacas primíparas en EC sub óptimo 3,5-4 y con 70

días posparto en promedio, se logran porcentajes de preñez en el entorno del 80%. Este porcentaje de preñez fue consistente con un importante adelantamiento del reinicio de la actividad cíclica posparto (Soca et al., 2005; Rodríguez-Irazoqui et al., 2005; Soca et al., 2006). Un prolongado anestro posparto reduce la productividad del rodeo de cría, bajando la eficiencia reproductiva, por la menor probabilidad de que la vaca quede preñada y por lo tanto los kilos de terneros destetados/vaca entorada.

Control del amamantamiento: estrategias para disminuir el efecto del ternero

Con el objetivo de reducir el período de anestro posparto en el ganado de carne se han desarrollado diferentes técnicas del control del amamantamiento que buscan disminuir el efecto que ejerce el ternero (mamando y por su presencia), sobre la actividad reproductiva de la vaca.

Existen dos alternativas tecnológicas desarrolladas a nivel regional y nacional con diferente grado de dificultad y costo en su implementación: el destete temporario (DT) y el destete precoz (DP). El destete temporario consiste, según la metodología que se utilice, en la separación a corral del ternero de su madre por un período de 48–72 h o en la colocación a los terneros de una tablilla nasal impidiéndole el mamado, pero no la separación, permaneciendo en contacto permanente con su madre. Esta metodología, de muy bajo costo, ha sido una de la más adoptadas a nivel regional y nacional. Las tablillas se colocan durante 11 a 14 días, cuando el ternero tiene entre 45 y 60 días de vida y pesa entre 60 a 70 Kg.

La separación definitiva de los terneros puede implementarse a partir de los 60 días de edad, momento en el cual ya ha adquirido un desarrollo importante de su aparato digestivo y en donde, por la adquisición de hábitos de pastoreo, comienza a competir con su madre por la pastura. En función de estos conceptos se ha desarrollado la tecnología conocida como destete precoz, la cual consiste en la separación definitiva de los terneros de sus madres, cuando éste tiene más de 60 días de nacido y pesa entre 70 y 80 Kg. (Hoffer, 1994; Hoffer et al., 1996; Simeone et al. 1995; Vazquez et al., 2002).

En suma, la interrupción del amamantamiento permite por un lado, la modificación interna del destino de los nutrientes de la vaca (ranking de prioridades), a partir de que se eliminan las necesidades destinadas a la producción de leche (Short et al., 1990), y por el otro, la supresión de las aferencias inhibitorias (estímulos olfativos, visuales, táctiles), generadas por la presencia y el contacto permanente del ternero con su madre, lo cual promovería un rápido

reinicio de la actividad sexual posparto (Williams, 1990; Viker et al., 1993; Stevenson et al., 1997; Lamb et al., 1997; Vazquez et al., 2002).

La combinación de técnicas de control del amamantamiento (DT o DP) junto con protocolos de inducción/sincronización de celos, permitirían un mayor porcentaje de animales en celo, una menor duración del anestro posparto y la incorporación de otras categorías del rodeo de cría a los programas de inseminación artificial. En esta tesis se utilizó el DP, con el objetivo de potenciar el efecto de inducción que pueden producir los tratamientos hormonales.

Tratamientos hormonales para la mejora de la eficiencia reproductiva.

La alternativa del uso de tratamientos hormonales para la inducción/sincronización de celos ofrece la posibilidad de incorporar otras categorías a los programas de inseminación artificial en bovinos, como lo es la vaca de cría con ternero. Con el objetivo de evitar los problemas de la detección de celos en los rodeos de cría manejados en condiciones extensivas, se han desarrollado protocolos de sincronización de la ovulación que permiten inseminar un importante número de animales en un tiempo pre establecido. Estos tratamientos hormonales son conocidos como protocolos para la IATF. Este esquema de trabajo disminuye el número de veces que los animales deben movilizarse hacia los corrales, facilitando la implementación de un programa de IA además de posibilitar la inseminación sin la detección de celos y la mejora en la eficiencia reproductiva global. Dentro de ellos se encuentran los protocolos para IATF que utilizan combinaciones hormonales de GnRH y prostaglandina F_{2α} : Ovsynch® (Pursley et al., 1995, Thatcher et al., 1996, Thatcher et al., 2001), y aquellos que utilizan dispositivos conteniendo progesterona natural y estradiol. Para el protocolo Ovsynch® se han reportado resultados aceptables en vacas de leche y carne (Cutaia et al., 2003). Sin embargo su utilización en rodeos manejados bajo condiciones pastoriles han resultado en bajos porcentajes de preñez en vacas en anestro (Baruselli et al., 2003; Rodríguez-Irazoqui et al., 2003; Cutaia et al., 2003). Por lo tanto la elección del protocolo a utilizar en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles y sin suplementación, va a depender de la categoría de animales a utilizar y del estado de ciclicidad del rodeo (Cutaia et al., 2003).

En las últimas dos décadas la comercialización de estos protocolos se ha visto globalizada en gran parte por los intereses económicos de las empresas que comercializan los productos hormonales. Estos “paquetes tecnológicos” son frecuentemente difundidos y estimulados a productores sin el adecuado conocimiento, más aún, sin el testeado previo de estos fármacos bajo diferentes situaciones productivas. Además de las limitaciones biológicas que presentan

estos protocolos hormonales, se destaca la escasa investigación nacional publicada sobre estas alternativas tecnológicas. Por otro lado, el uso de estas tecnologías permite una mayor difusión de la IA, tecnología que ha demostrado ser viable para acelerar el avance genético y el retorno económico de la ganadería. En el Uruguay se reporta que solo entre el 6% (Encuesta reproductiva INIA-DILAVE, 2001) y el 9% (DIEA-MGAP, 2003) de nuestros rodeos realiza IA. De estos rodeos, el 70% realiza algún tipo de sincronización de celos, pero fundamentalmente en vaquillonas de primer entore (Encuesta reproductiva INIA-DILAVE, 2001). Por otra parte la realización de IA en el resto de las categorías, vacas de segundo entore o multíparas destetadas o con cría al pie, es muy bajo, representando solo entre el 1 y el 3% de los rodeos que hacen IA (Encuesta Ganadera, 2001). La baja utilización de la técnica de IA en los rodeos de cría se atribuye fundamentalmente a las dificultades en su implementación, al largo del período de los trabajos, los costos relacionados (hormonas, semen, mano de obra), las dificultades en el manejo diario de los animales, la pobre respuesta encontrada, la falta de información nacional de protocolos que reduzcan el tiempo de los trabajos (INIA-DILAVE, 2001; DIEA-MGAP, 2003). La implementación de programas de IA en el resto de las categorías de los rodeos de cría, fundamentalmente vacas con cría al pie o destetadas, posibilitaría incrementar la mejora genética y no centralizarla solamente en el 20% del rodeo que es la reposición anual (vaquillonas de primer entore). La incorporación de animales que ya están en producción, no solo aumentaría el número de animales inseminados con semen de alta calidad, sino que además permitiría una mayor selección de los vientres al momento de implantar el programa.

Progesterona o progestágenos

Con el nombre genérico de progestágenos se conocen a un grupo de compuestos que tienen acciones similares a la progesterona (P4), que se encuentran disponibles en el mercado. Dentro de estos compuestos se encuentran el acetato de melengentrol (MGA), los implantes subcutáneos de Norgestomet (Syncro-Mate B® y Crestar®) y los dispositivos intravaginales con progesterona (CIDR-B®, PRID® y DIV®). La tasa de liberación de P4 en los dispositivos ha sido descripta por una ecuación cuadrática, dependiendo de la superficie (área) que el dispositivo posea (Yavas & Walton, 2000). La importancia del uso de dispositivos que emplean P4 natural radica en la posibilidad de la determinación de su concentración sanguínea.

La exposición a niveles elevados de P4 parece ser necesaria para la expresión normal del celo y para el desarrollo de una fase luteal normal. Por lo tanto, la exposición a P4 exógena (“priming” o impregnación de P4) seguida por su declinación, parece ser necesaria para la

diferenciación normal de las células de la granulosa y el desarrollo post ovulatorio del CL. El tratamiento con un dispositivo intravaginal de P4 por 7 días en vacas en anestro que amamantan, incrementa el número de vacas que desarrollan un CL de vida normal (Yavas & Walton, 2000).

El desarrollo original de protocolos de P4 de larga duración (14 a 21 días), resultó en una sincronización muy precisa de los celos, pero en un bajo porcentaje de preñez (Macmillan & Peterson, 1993). Las bajas concentraciones plasmáticas de P4 liberadas por los dispositivos hacia el final del tratamiento largo, inducen la formación de un folículo dominante persistente o envejecido, el cual, además de impedir el desarrollo de una nueva onda folicular, ovula un ovocito de mala calidad y por lo tanto de baja fertilidad (Roche, 1974, Macmillan & Peterson, 1993, Smith & Stevenson, 1995). Por otra parte, la utilización de protocolos cortos (7 a 10 días de duración), junto con la administración de prostaglandina antes o al momento de la supresión del tratamiento con P4, mejora la fertilidad (Odde, 1990; Macmillan & Peterson, 1993). Sin embargo, estos tratamientos no resultaron en una suficiente sincronía de estro/ovulación para permitir la IATF (Bó et al., 1993). Este hecho enfatiza la necesidad de sincronizar con seguridad el desarrollo de un folículo viable y en crecimiento, al momento de finalizar el tratamiento con progestágenos (Mapletoft et al., 2003).

Los reportes indican que la baja tasa de preñez ocurre cuando los tratamientos cortos se aplican durante la fase luteal tardía (después del día 14), debido al desarrollo de un folículo persistente (Mapletoft et al., 2003). La pobre fertilidad obtenida en los tratamientos largos o cortos con progestágenos, iniciados en el ciclo estral o en la fase luteal tardía, son atribuidos al prolongado mantenimiento de un folículo dominante y la ovulación de un ovocito viejo. Según lo reportado por McDowell et al. (1998), la elevación sistémica de la P4 por 24 horas es suficiente para causar la atresia de la mayoría de los folículos persistentes. Fike et al. (1997), plantean que los tratamientos cortos con P4 en vacas en anestro pueden inducir la ovulación temprana en algunos animales, incrementando el porcentaje de vacas que exhiben estro durante la temporada de monta y presumiblemente aumentar el porcentaje de concepción al primer servicio.

En resumen, los tratamientos con P4 exógena aplicados en vacas que amamantan provocarían: 1) el mantenimiento del folículo dominante hasta su maduración final y posterior ovulación luego de finalizado el tratamiento, 2) prolongación de la vida media del CL resultante de la ovulación del folículo mantenido, 3) reanudación de la ciclicidad posparto. La maduración folicular final del folículo dominante induce el pico de LH siguiente al retiro del

progestágeno, probablemente por el incremento de la secreción del 17- β estradiol y su feedback positivo (Yavas & Walton, 2000).

Estrógenos

Desde hace tiempo es conocido el efecto luteolítico del estradiol (Burke et al., 1999). Sin embargo, luego de la caracterización de la PGF2 α como la luteolisina natural y el desarrollo sintético de sus análogos, esta hormona paso a ser la preferida como agente luteolítico (Burke et al., 1999).

A partir del conocimiento de los efectos del estradiol sobre el desarrollo folicular se intensificó su uso en protocolos de sincronización de celos. En los trabajos realizados por Bó et al. (1994; 1995), se demostró que la administración de estradiol produce la supresión del desarrollo del folículo antral y que además esa supresión es mayor cuando la aplicación se da después de la inserción de una implante auricular de progesterona. El mecanismo involucrado en la supresión parece ser más de naturaleza sistémica que local, y se manifiesta en la supresión de la FSH (Bó et al., 1994). El principal objetivo de la utilización de estrógenos en los protocolos de sincronización de celos es la posibilidad de sincronizar el desarrollo folicular y el efecto de provocar la ovulación del folículo dominante. El estradiol ha sido administrado cerca del comienzo de los tratamientos con progestágenos con el objetivo de inducir la luteólisis y de posibilitar el uso de progestágenos por un tiempo más corto, reduciéndose la probabilidad del desarrollo de un folículo persistente (Odde, 1990; Mapletoft & Kastelic, 2001). El estradiol induce la atresia de los folículos ováricos, permitiendo superar la infertilidad asociada a los tratamientos basados en P4, los cuales provocan el crecimiento y ovulación de folículos viejos (Burke et al., 1999).

La utilización de dispositivos de liberación de P4 junto con estradiol (benzoato de estradiol o 17 β -estradiol) suprime el desarrollo del folículo dominante y promueve, independientemente del momento del ciclo estral en que se encuentre el animal, el desarrollo de una nueva onda folicular, en promedio a los 4,3 días (Bó et al., 1995). Esto permite controlar la emergencia de una nueva onda folicular y realizar la IA en presencia de un folículo dominante saludable al final del tratamiento, aumentando las probabilidades de éxito en la fertilidad subsiguiente. El efecto del estradiol estaría dado por la supresión del desarrollo del folículo antral, y esta supresión sería mayor en presencia de un implante de P4 (Bó et al., 1994; 1995). Según lo reportado por Martínez et al. (1998), el benzoato de estradiol y el 17 β -estradiol aparecen como equivalentes en su eficacia para la sincronización del estro y la ovulación para ser

utilizados en programas de IATF. La administración de estradiol junto con P4 resultaría en la supresión de pequeños folículos (efecto del estradiol) y de folículos dominantes grandes que serían seguidos por la emergencia de una nueva onda folicular dependiendo del pico de FSH. El benzoato de estradiol suprimió la FSH en plasma por un período más breve, que el resto de los ésteres de estradiol, resultó en un pico de LH luego de la remoción del CIDR (Mapletoft et al., 2003).

Prostaglandinas y sus análogos

Existen diferentes protocolos que utilizan prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$) que han sido desarrollados para ser usados en diferentes programas de servicios y que incluyen diferentes intervalos entre las inyecciones de ellas. La $PGF_{2\alpha}$ es comúnmente usada en los tratamientos de sincronización de celos en bovinos. Su utilización se fundamenta en la necesidad de que exista un cuerpo lúteo (CL) funcionando o tejido luteal al momento de su administración, para que sea efectiva, no siendo efectiva en los primeros 5-6 días del ciclo estral. Cuando la luteólisis es inducida efectivamente por la $PGF_{2\alpha}$, el celo subsiguiente se distribuye en un período de 6 días (Mapletoft & Kastelic, 2001), siendo ésta dispersión una de sus principales desventajas.

La inyección de $PGF_{2\alpha}$ administrada después del día 5 del ciclo estral causa una inmediata regresión del CL. Por consiguiente la P4 declina rápidamente a concentraciones basales dentro de las 24 horas, el pulso de LH incrementa su frecuencia, esto causa un significativo incremento del estradiol del folículo dominante que induce el estro y la ovulación. A pesar de la rápida luteólisis el intervalo de inicio del estro es variable y depende de la etapa de la onda folicular en la que se encuentre el animal al momento del tratamiento (Diskin et al., 2002). La respuesta a la $PGF_{2\alpha}$ depende entonces de la etapa del ciclo estral al momento del tratamiento.

El 70-90% de los animales tratados con una sola dosis de $PGF_{2\alpha}$ entre los días 8 y 18 del ciclo estral expresan comportamiento estral dentro de los 2 a 5 días posteriores a su administración (Odde, 1990; Callejas, 1998, Diskin et al., 2002). El tratamiento a mitad del ciclo estral (días 8-11) o en plena fase luteal (días 12-15), resulta en un intervalo promedio del arribo del estro entre 70 y 62 horas respectivamente (De Rensis & Peters, 1999). Además la tasa de concepción puede ser mayor cuando la inyección se da en la fase luteal tardía, comparada con la inyección dada en la fase luteal temprana (Odde, 1990). Las vacas que fueron inyectadas el día 7 u 8 y el día 15 o 16 presentan estro más temprano que aquellas que

son inyectadas entre los días 12 y 14. Esto podría estar relacionado con el hecho de que los días 7-8 o 15-16 coinciden con los picos de desarrollo folicular en vacas con tres ondas de desarrollo folicular (De Rensis & Peters, 1999).

Estos hallazgos demuestran que existe una considerable variación entre el intervalo de la aplicación de la PGF2 α y la presentación del estro y la ovulación, y esto podría ser atribuido al estatus de la onda folicular al momento del inicio del tratamiento. Si la luteólisis es inducida antes de la mitad de la fase estática del folículo dominante (previo a la atresia), el folículo va a ovular, resultando en un relativo corto intervalo entre el momento del tratamiento y la ovulación (2-3 días). Por el contrario si la luteólisis es inducida después de la mitad de la fase estática del desarrollo del folículo dominante, este regresa y el folículo dominante de la siguiente onda crecerá y llegara a ser el folículo ovulatorio, resultando en un intervalo entre el tratamiento y la ovulación de 4-5 días. Se puede concluir que como la inyección de PGF2 α no altera la dinámica del crecimiento folicular, el momento de la presentación del comportamiento estral depende del estatus folicular cuando la luteólisis es inducida. Si los animales poseen un folículo dominante al momento de la inyección de la PGF2 α se presentará estro dentro de los siguientes 2 o 3 días. Si por el contrario la inyección se hace en la fase de reclutamiento, el folículo dominante se formará en 2 a 4 días y el intervalo entre la inyección y la presentación de estros será más variable (Grimard et al., 2003)

GnRH

La administración de un agonista de la GnRH produce la liberación de LH y FSH por parte de la hipófisis (en promedio entre 1 y 2 horas post inyección), lo que en presencia de un folículo de gran tamaño (>10mm) lleva a su ovulación o atresia y puede inducir la emergencia de una nueva onda folicular dentro de los 3 a 4 días posteriores al tratamiento en cualquiera de las etapas del ciclo estral. Sin embargo, no en todos los casos ocurre ovulación ya que la habilidad de ovular depende de la etapa de desarrollo en que se encuentre el folículo dominante al momento del tratamiento (Tawagiramunyu et al., 1995). Existen reportes que indican que el tratamiento con GnRH altera el diámetro del folículo mayor durante la fase de crecimiento o en la fase estática, pero no durante la fase de regresión folicular. Este hecho indicaría que los receptores a la GnRH del folículo dominante comienzan a decrecer a partir del desarrollo de la fase de crecimiento, dentro de la fase estática y en la fase de regresión, en donde la atresia empieza a manifestarse más claramente. Esto podría ser una posible

explicación de la razón de porque la ovulación ocurre en la mayoría, pero no en todas las vacas tratadas con un agonista de la GnRH (Twagiramunyu et al., 1995).

Cuando las concentraciones de P4 son incrementadas en la circulación periférica (por ejemplo: durante la mitad y el final de la fase luteal), la ovulación no ocurre y el folículo mayor, al momento del tratamiento con GnRH, sigue su camino hacia la atresia. El incremento de las concentraciones de P4 está asociada con la atresia del folículo mayor y probablemente con la disminución de la frecuencia de los pulsos de LH y con el número de receptores a LH en el folículo. El tratamiento con un agonista de la GnRH sobre un folículo mayor induce la ovulación, 24 a 30 horas después, y la subsiguiente formación de un nuevo CL en vacas de carne durante la fase luteal temprana (Día 7), en aquellas vacas que no presentan un CL funcionando al momento del tratamiento (Twagiramungu et al., 1995).

La GnRH en el corto y largo plazo induce un cambio en la secreción de estradiol, las secreciones de estradiol se incrementan dentro de los 4 a 6 hs. y disminuyen a partir del día 2 al 7 luego del tratamiento con un agonista de la GnRH (Twagiramungu et al., 1994). La información reportada por Wiltbank & Haughian (2003), indica que una inyección de 100 µg de GnRH en una sola inyección, llegan a concentraciones máximas de LH en sangre mayores que un pico endógeno (17 ng/ml vs 9 ng/ml). Ambos picos, según lo reportado por estos autores, son suficientes para inducir la ovulación de un folículo dominante, ovulando dentro de las 29 horas posteriores al comienzo del pico de LH. Thatcher et al. (1996) ha reportado el uso de análogos de la GnRH previo a la inyección de PGF2 α , para la sincronización del estro en vacas lecheras en lactación. El uso para la inseminación artificial de un tratamiento en base a la secuencia inicial de una inyección de GnRH, la cual permite la ovulación o luteinización de los folículos maduros presentes en el ovario y la inducción del reclutamiento y selección de un nuevo folículo dominante, seguido por la inyección de PGF2 α la cual provoca la luteólisis del CL presente y permite la maduración del nuevo folículo reclutado, luego una segunda inyección de un análogo de la GnRH, 48 horas luego de la PGF2 α , permite o induce la ovulación del nuevo folículo dominante formado. La inseminación se realiza aproximadamente a las 15 horas antes de la ovulación (Thatcher et al., 1996; Thatcher et al. 2001). Esta metodología de trabajo ha sido la base de los estudios del protocolo Ovsynch[®]. Por otra parte, en base a estas bases fisiológicas, se ha postulado el uso de la GnRH para la IATF en protocolos de sincronización/inducción de celos que utilizan CIDR-B y benzoato de estradiol (Caccia et al., 1998; Bó et al., 2001).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

Las dificultades observadas para una mayor difusión y adopción de la IA en ganado de cría, hace necesario pensar en alternativas que hagan más aceptada su implementación a nivel predial. El desarrollo de nuevas formulaciones hormonales para el control de la reproducción en bovinos junto con nuevos protocolos para su utilización, plantea la posibilidad de realizar programas de Inseminación a Tiempo Fijo (IATF) en rodeos de cría en nuestras condiciones de producción.

La IATF puede ser una alternativa a considerar para impulsar una mayor difusión de la IA en los rodeos de cría y mejorar la eficiencia reproductiva, a partir del acortamiento del anestro posparto, así como para incrementar el progreso genético, a partir de la utilización de animales de mayor mérito. La utilización de protocolos de inducción/sincronización de celo puede resultar en una herramienta importante, la cual al acortar el anestro posparto y aumentar en consecuencia, el número de terneros al comienzo de la siguiente parición.

Objetivos del estudio

- I. Comparar la respuesta reproductiva observada en protocolos de inducción/sincronización de celos que utilizan progestágenos, estradiol y GnRH para la IATF en vacas de carne sobre pastizal natural sometidas a destete precoz **(Experimento I y II)**
- II. Caracterizar la dinámica folicular y determinar el momento de la ovulación de vacas de carne en postparto tratadas con protocolos hormonales de inducción/sincronización de celos basados en la utilización de progestágenos, estradiol y GnRH **(Experimento III)**.
- III. Determinar el momento de la ovulación de acuerdo a la formulación comercial de benzoato de estradiol utilizada en protocolos de inducción/sincronización de celos que utilizan CIDR-B, benzoato de estradiol y GnRH, en vacas de carne en anestro postparto **(Experimento IV)**.

ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

En la presente tesis se plantearon dos trabajos realizados a nivel de campo – con un alto número de animales- en los que se compararon los dos métodos de sincronización más difundidos: CIDR (Controlled Internal Drug Releasing Device) con estrógenos y GnRH-PGF2 α -GnRH) con el esquema tradicional de manejo en vacas de cría con destete precoz (Experimentos I y II). La baja fertilidad obtenida, pese al alto porcentaje de vacas en celo al momento de la IATF, motivó experimentos mas controlados para determinar el momento de la ovulación de acuerdo a los tratamientos farmacológicos, su relación con los celos y el tiempo recomendado para realizar la IATF (Experimentos III y IV). Además se determinó el efecto de diferentes formulaciones comerciales de benzoato de estradiol sobre la presentación de los celos y la ovulación (Experimento IV).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño general de los experimentos

Animales y manejo

En los cuatro experimentos se utilizaron vacas de carne de raza Hereford en el período postparto, excepto en el experimento II en el cual se utilizaron vacas Hereford puras y cruza Hereford con raza Normando (HxN). Los animales pastorearon durante todo el período experimental sobre pastizal natural, no recibiendo ningún tipo de suplemento. En todos los experimentos los animales se encontraban amamantando previo al inicio de los experimentos. En los experimentos I y II se realizó destete precoz (retiro definitivo del ternero de su madre) 7 (siete) días antes del inicio de los experimentos. En los experimentos III y IV los animales fueron destetados a las 48 horas de colocado el CIDR. Los terneros destetados tenían, en todos los casos, más de 50 días de edad y más de 70 kg de peso vivo.

En todos los experimentos los trabajos de IA fueron realizados durante el verano (entre los meses de diciembre y febrero). Los criterios de estratificación de los grupos para la asignación de los animales fueron: el EC al inicio de los tratamientos, los días posparto y la paridad (primípara/multípara). No se incluyeron en los grupos animales con EC menor a 3 (escala del 1: emaciada, 8: obesa, Vizcarra *et al.*, 1986). La determinación del comportamiento estral se realizó mediante dos observaciones diarias a campo cada 12 horas (AM/PM), por un período

de 40 minutos cada vez. Se identificó al animal en celo como aquella vaca que permanecía quieta mientras era montada por otra vaca. La observación se realizó por personal debidamente entrenado. En los grupos bajo tratamiento hormonal, previo a la IATF, se apartaron y registraron todos los animales que se encontraban en celo. El semen utilizado en todos los servicios fue previamente aceptado en cuanto a su fertilidad potencial (Fernandez, 2001). En todos los grupos en los que se realizó IATF a los 13 días siguientes, se juntaron y observaron nuevamente los animales, aquellos que manifestaron comportamiento de celo fueron apartados e inseminados.

Hormonas utilizadas

Progestágenos: en todos los experimentos se utilizó CIDR® (Controlled Internal Drug Releasing Device; Inter Ag. Hamilton, New Zealand), dispositivo intravaginal de silicona inerte, que contiene 1,38 g de P4 natural micronizada.

Estradiol: se empleó benzoato de estradiol (BE) en dos formulaciones (Benzadiol®; Universal Lab, Uruguay, conteniendo 0,5 mg/ml y Benzoato de Estradiol®, Laboratorio Río de Janeiro, Argentina, conteniendo 1 mg/ml). Se administraron 2 mg im como primera y 1 mg im como segunda dosis.

Prostaglandina: se utilizó un análogo sintético de PGF₂α (Delprostenate) (Glandinex®, ONO; Tokyo, Japón).

GnRH: se utilizó el análogo sintético de GnRH acetato de buserelina (Receptal®, Hoecht Roussel Vet; Weisbaden, Alemania) a una concentración de 0,0042 mg/ml.

Cuantificación de P4

Se extrajeron muestras de sangre por punción de vena yugular y se colectaron en tubos heparinizados (Heparina Sodica, 5000 UI). Las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 20 minutos, se extrajo el plasma sobrenadante y se almacenó a -20°C, hasta el momento de la cuantificación de P4 mediante RIA en fase sólida (Experimentos I, II y III). Las determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Veterinaria. Para ello se utilizó un kit comercial (DPC Diagnostic Product Co.; Los Angeles, CA, EEUU), con una sensibilidad (concentración mínima detectable de hormona) de 0,05 ng/ml de progesterona. El coeficiente de variación intra e inter ensayo fue inferior al 10%. Para la determinación del restablecimiento de la actividad ovárica posparto se consideró el siguiente criterio: 1 ng/ml (3,2 nmol/l) como la concentración menor en plasma de P4 que

indica la existencia de tejido luteal funcional (Meikle & Forsberg, 2001). Los valores entre 0,5 y 1ng/ml (1,6 a 3,2 nmol/l), también fueron considerados como indicadores de actividad luteal cuando esa concentración (suprabasal) se mantuvo elevada en dos muestras consecutivas.

Diagnóstico de gestación

En todos los experimentos se determinó la fertilidad por ecografía transrectal a los 40-45 días de realizada la IATF, utilizando un ecógrafo Pie Medical Tringa® provisto de un transductor 5/7,5 MHz. A los 60 días de finalizado el período de entore se evaluó la preñez final, mediante ultrasonografía y palpación rectal.

Análisis estadístico

Las frecuencias de animales que manifestaron celo, ovularon, las tasas de fertilidad a IATF (vacas gestantes a IATF/vacas tratadas) y fertilidad final (vacas gestantes a IATF mas servicio de repaso/vacas tratadas) fueron comparadas por el test de Chi cuadrado o test exacto de Fisher (Siegel, 1956). Las variables que implicaron observaciones repetidas en el tiempo (diámetro folicular, concentración de P4), se analizaron por el procedimiento mixto de SAS (SAS, 2002). El modelo estadístico incluyó los efectos de los tratamientos, categoría (primípara vs. multíparas), EC al momento de iniciar los experimentos, días posparto e interacciones entre estas. La estructura de la covarianza fue autoregresiva de orden 1, e incluyó al individuo como efecto al azar. Se consideró significativo si $P < 0.05$. Los resultados se expresan como medias \pm error estándar

Experimento I

Lugar, animales y tratamientos

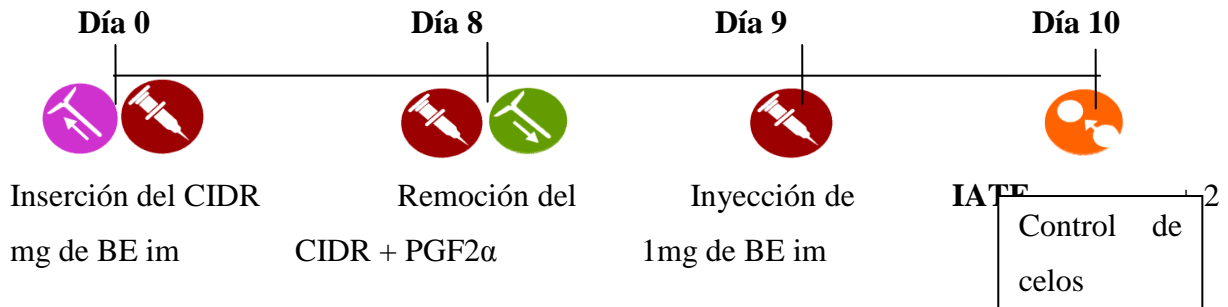
Se utilizaron 100 vacas Hereford pertenecientes al rodeo de cría de la Estación Experimental “Mario A. Cassinoni” Facultad de Agronomía (latitud Sur 33°, longitud Oeste 57°; Paysandú, Uruguay). Al momento del inicio de los tratamientos los animales tenían $82,5 \pm 11,7$ (51 a 116) días posparto y $3,5 \pm 0,5$ (3 - 4,75) de EC. Siete días antes del inicio de los tratamientos (Día -7), se realizó el destete de los terneros. Al momento de la separación de los terneros y del inicio de los tratamientos hormonales (Día 0), se tomaron muestras de sangre en todos los animales para la determinación plasmática de P4.

Los animales fueron adjudicados a dos grupos homogéneos de 50 animales cada uno según fecha de parto, EC al inicio del tratamiento y categoría (primípara/múltipara). A las vacas del Grupo **CIDR+BE** (n=50) se les insertó un CIDR (Día 0), junto con la administración intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); a los ocho días se retiró el CIDR (Día 8) y se administró en forma intramuscular PGF 2α (Delprostenate, 800 μ g) (Diagrama 1). A las 24 horas posteriores (Día 9) se administró 1 mg de BE y a las 24 horas subsiguientes (Día 10), se realizó la IATF. La IA fue realizada por el mismo operador debidamente entrenado, mediante el método recto vaginal. Se utilizó semen de un mismo toro con evaluación de fertilidad. El Grupo **Control** (n=50) fue inseminado convencionalmente a celo visto natural durante 60 días, según el esquema detección AM/PM.

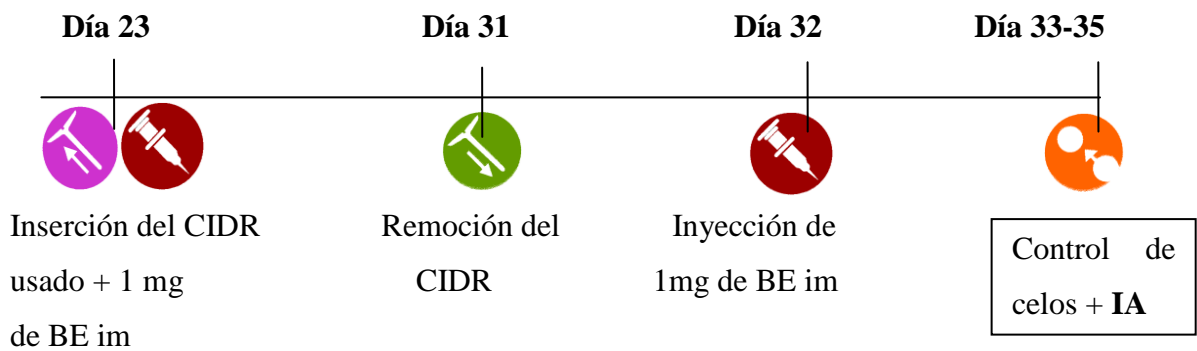
Todos los animales del Grupo CIDR+BE se resincronizaron a los 23 días de iniciados los tratamientos. Se reinsertó el dispositivo intravaginal CIDR (reutilizado), junto con la administración intramuscular de 1 mg de BE. El dispositivo permaneció en el animal durante 8 días. El Día 31 se procedió al retiro del CIDR, a las 24 horas (Día 32) se administró 1 mg de BE. A partir del Día 33 y hasta el Día 35 se inseminaron los animales a celo visto, detectándose celos 2 veces al día (AM/PM).

Diagrama 1: Esquema del protocolo desarrollado en el Experimento I.

Inseminación a tiempo fijo



Resincronización



Resultados

En la Tabla 1 se resumen los principales resultados obtenidos en el Experimento I.

Tabla 1: Porcentaje de animales ciclando, celos, fertilidad al primer y segundo servicio y fertilidad final en vacas de carne sometidas a destete precoz e IATF con tratamiento CIDR+BE ó lote Control sin sincronización.

	<i>Tratamientos</i>	
	CIDR+BE % (n= 50)	CONTROL % (n= 50)
Vacas ciclando previo destete precoz	4 ^a (2/46*) ^a	4 (2/47*) ^a
Vacas ciclando pos destete precoz	46 (22/47*) ^a	51 (24/47*) ^a
Celos a la IATF	78 (39/50)	.
Fertilidad al 1 ^{er} servicio	28 (14/50) ^a	71 (29/41) ^b
Fertilidad al 2 ^{do} servicio	39 (14/36) ^a	75 (6/8) ^a
Fertilidad final	56 (28/50) ^a	70 (35/50) ^a

Fertilidad al 1^{er} servicio: animales gestantes/animales tratados a la IATF o animales IA por celo natural (grupo Control). Fertilidad al 2^{do} servicio: animales reinseminados/gestantes o animales que repiten servicios e IA nuevamente del grupo control. Fertilidad final: animales gestantes/total de animales de cada grupo. Test de χ^2 con corrección de Fisher-Yates. Para misma fila: a vs. b, $P \leq 0.05$.

*: La diferencia observada con el total de animales y las muestras analizadas para la determinación sanguínea de P4, es producto de que al realizar el procesamiento algunas muestras debieron ser desechadas.

Discusión

Los animales ciclando previo al destete precoz al día 76 posparto, coinciden con lo reportado por trabajos nacionales (Menchaca *et al.*, 2005), en donde se informa que cerca del 90% de las vacas se encuentra en anestro al momento del inicio de tratamientos de sincronización de celos en vacas de carne en posparto. Esta información se relaciona con reportes nacionales en los que se establece que la situación de anestro se continúa durante el desarrollo del entore. De Nava (2008) observó un 9% a un 35% de anestro en vacas con cría al pie, entre la mitad y el final del segundo mes de entore.

El alto porcentaje de animales en celo al momento de la IATF observados en el protocolo CIDR-B+BE, evidencia que existió un importante efecto en la sincronización de los celos con este tratamiento. Similares resultados obtuvo Lammoglia *et al.* (1998), trabajando con

vaquillonas cíclicas y vacas postparto en anestro. Sin embargo, este alto porcentajes de celos del experimento I no se reflejó, como se podría esperar, en un alto porcentaje de fertilidad al servicio de IATF. Tampoco los resultados en preñez luego de la resincronización fueron buenos registrándose una fertilidad final para el grupo CIDR+BE biológicamente inferior, pero no diferente, respecto al grupo Control. Una posible explicación a esta diferencia es que, el grupo a celo visto natural (Control), tuvo más tiempo de recuperación luego del parto, resultando posiblemente en celos más fértiles que el celo inducido. Los porcentajes de celo observados al momento de la IATF coinciden con reportes de trabajos regionales realizados en animales en pastoreo (Bó *et al.*, 2001; 2003; 2005 y Cutaia *et al.*, 2003), pero no así los resultados alcanzados en concepción a la IATF (Cutaia *et al.*, 2003). Descartando la posibilidad de problemas en los factores que no fueron una variable entre los tratamientos (material seminal, técnica y operario que realizó la IA, condiciones climáticas, etc.), otras posibles causas en los bajos resultados de fertilidad a IATF observados se podrían atribuir a problemas en la dosis final de benzoato de estradiol utilizada en el protocolo CIDR+BE (1mg), la cual pudo haber producido manifestación de celos sin ovulación, alterando los resultados finales del experimento. Sin embargo, Lamoglia *et al.* (1998), reportan que en vacas en postparto a mayor dosis de benzoato de estradiol (0, 0.25, 0.5 ó 1.0 mg), mayor fue la tasa de preñez luego de la remoción del dispositivo intravaginal.

Experimento II:

Lugar, animales y tratamientos

Se emplearon 100 vacas pertenecientes a un rodeo comercial, ubicado en la zona de areniscas de cretácico, en el departamento de Paysandú (Uruguay).

Los animales al momento del inicio de los tratamientos tenían $79,4 \pm 23,9$ (rango 44 a 182) días posparto y $3,5 \pm 0,5$ (rango 3-4,5) de EC (Vizcarra *et al.*, 1986). El destete se realizó siete días antes del inicio de los tratamientos (Día -7). Al momento de la separación de los terneros para la realización del destete (Día -7) y al momento del inicio de los tratamientos hormonales (Día 0) se tomaron dos muestras de sangre en todos los animales para la determinación plasmática de P4.

Los animales fueron asignados a dos lotes de 50 animales cada uno, distribuyéndose según fecha de parto, EC al inicio del tratamiento, categoría (primípara/múltipara) y raza.

A las vacas del grupo **CIDR+BE** (n= 50) el Día 0 (inicio de los tratamientos) se procedió a la inserción del dispositivo intravaginal CIDR-B, junto con la administración de 2 mg im de BE. A los ocho días (Día 8) se retiró el dispositivo intravaginal CIDR y se aplicaron 800 μ g im de PGF2 α (delprostenate). A las 24 horas siguientes (Día 9) se administró 1 mg BE, y a las siguientes 24 horas (Día 10) se realizó la IATF (Diagrama 2).

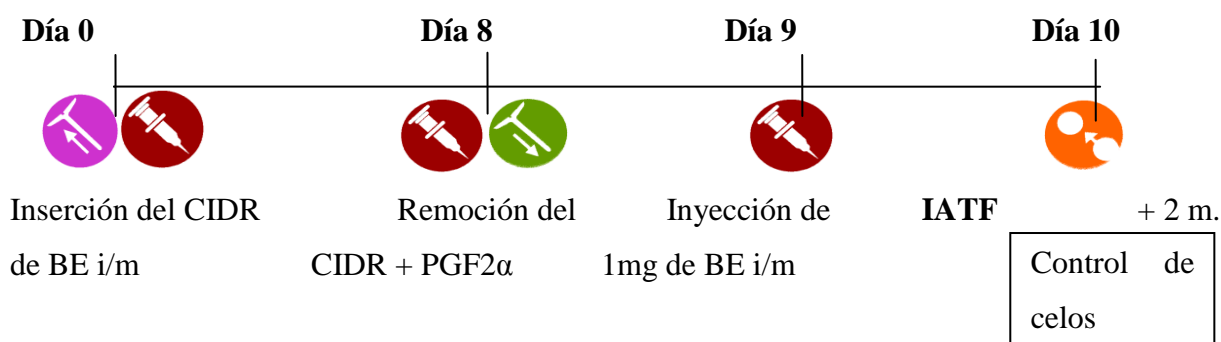
A las vacas del grupo **Ovsynch®** (n= 50), el Día 0 (inicio del tratamiento) se les administró 8 μ g de acetato de buserelina. Siete días después (Día 7) se administraron 800 μ g de PGF2 α (delprostenate). A las 48 horas siguientes (Día 9), se inyectó nuevamente 8 μ g de buserelina. Al día siguiente (Día 10) se realizó la IATF teniendo como referencia realizar el procedimiento entre las 15 a 20 horas de la inyección de buserelina (Diagrama 2). Se detectó celo 2 veces por día en ambos grupos.

La inseminación de ambos grupos fue realizada por el mismo operador mediante el método recto vaginal. En todos los animales inseminados se utilizó semen del mismo toro con evaluación de fertilidad previa a su utilización. A partir de los 13 días de la IATF se realizó el repaso de los servicios en ambos tratamientos. Se utilizó (entre el ingreso al servicio y la ecografía) un 8% de toros sin problemas sanitarios y libres de patologías de la reproducción (Geymonat, 1985b; Fernandez, 2001); y se mantuvieron en el rodeo, en el mismo porcentaje, hasta el día 84 post IATF.

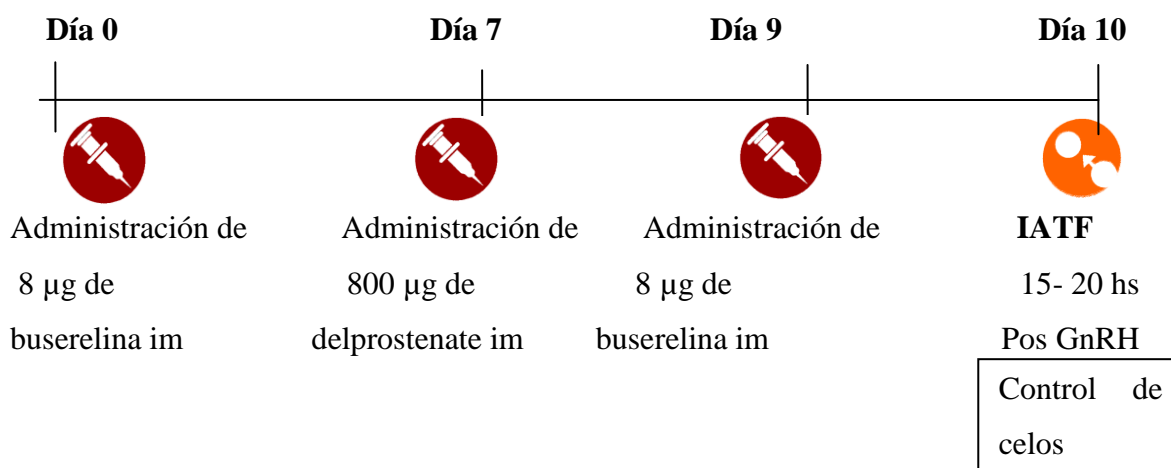
A los 40 días de la IATF se realizó la ecografía para determinar la tasa de concepción al servicio de IATF, y se retiraron del rodeo las vacas gestantes. La preñez final se determinó, mediante palpación rectal, a los 45 días luego del retiro de los toros.

Diagrama 2: Esquema de los protocolos desarrollados en el Experimento II

a) Protocolo IATF CIDR+BE/PGF2 α /BE/IATF



b) Protocolo IATF: Ovsynch[®]



Resultados

Los resultados evidencian que mientras al momento del destete (Día -7), solo el 7 % de los animales estaba ciclando (4 del grupo CIDR-B y 3 del grupo Ovsynch[®]), 7 días después el 51% tenían actividad cíclica: 44% (21/48) de los animales del grupo CIDR+BE y 58% (26/45) de los del grupo Ovsynch[®] (P>0.05). La diferencia registrada entre el total de

animales de los grupos experimentales y las muestras analizadas para la determinación de P4, es producto de que al realizar su procesamiento algunas muestras debieron ser desechadas.

Un porcentaje mayor de animales del grupo CIDR+BE que del grupo Ovsynch® estaba ciclando al momento de la IATF ($P \leq 0,05$) (Tabla 2). Sin embargo no existieron diferencias en el porcentaje de fertilidad a la IATF entre los grupos de tratamiento. Un porcentaje mayor de vacas del grupo CIDR+BE resultó gestante luego del repaso con toros.

Tabla 2: Vacas en celo al momento de realizar la inseminación a tiempo fijo (IATF), tasas de fertilidad a la IATF y de fertilidad final luego del repaso con toros en animales sincronizados con CIDR+BE ó con el protocolo Ovsynch®.

Tratamiento	Vacas en celo a la IATF (%)	Fertilidad a IATF (%)	Fertilidad Final (%)
CIDR+BE	78 (39/50)^a	30 (15/50)^a	92 (46/50)^a
Ovsynch®	28 (14/50)^b	20 (10/50)^a	74 (37/50)^b

Fertilidad a la IATF: animales gestantes/animales inseminados a tiempo fijo. Fertilidad final: animales gestantes/total de animales de cada grupo. a vs b $P \leq 0,05$.

Discusión

En el Experimento II se reportan similares resultados al Experimento I en lo referido al anestro presente previo al destete precoz, (96 y 93% respectivamente). Trabajos nacionales (Vázquez *et al.*, 2002), reportan un significativo efecto del destete precoz realizado a los 84 días posparto sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica. En estos trabajos se observa que a los 18 días posteriores al destete el 50% de los animales destetados habían comenzado a ciclar.

Estos datos están en coincidencia con la información internacional que establece que la eliminación de las aferencias inhibitorias (olfativas, visuales, táctiles), generadas por la presencia del ternero cuando este está junto a su madre, promovería un rápido reinicio de la actividad cíclica, al inducir un incremento de los pulsos de LH suficiente como para estimular la ovulación (Viker *et al.*, 1993; Lamb *et al.*, 1997; Stevenson *et al.*, 1997; Mackey *et al.*, 2000). Se ha reportado que, que el efecto que ejerce el ternero sobre el metabolismo de su madre es muy importante no solo por el “efecto succión” generado por el mamado, sino por los efectos de su presencia e interacción social (Short *et al.*, 1990, Stevenson *et al.*, 1997). Sin embargo, y a pesar del efecto generado por el retiro del ternero sobre el aumento de los niveles de progesterona, no se observó una importante respuesta en fertilidad a la IATF. Esto

podría estar asociado a que se ha reportado que el primer ciclo posparto en la vaca de carne, puede ser además de silente (sin comportamiento homosexual), de corta duración, lo que podría indicar que el CL formado no tiene una vida media adecuada y que debido a la ausencia de preparación del útero por la P4, pequeños niveles plasmáticos de PGF2 α podrían provocar la luteólisis temprana (Stagg *et al.*, 1995; Bencharif *et al.*, 2000; Roche & Diskin, 2005). Esto podría deberse a una mayor sensibilidad a la oxitocina en etapas tempranas del ciclo estral, lo que estimularía una potencial liberación de PGF2 α (Makey *et al.*, 2000).

En forma similar a lo reportado en el Experimento I, se registró un alto porcentaje de animales en celo al momento de la IATF en el grupo CIDR+BE. Este porcentaje de animales en celo resultó mayor que lo observado en el grupo Ovsynch® (P<0.05). Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre grupos en porcentajes de fertilidad luego de la IATF, pero si en fertilidad final al finalizar el servicio de repaso con toros.

Como posible explicación a los resultados encontrados, y al igual que en el Experimento I, se podría pensar en la presentación de celos farmacológicos sin ovulación en los animales tratados por el protocolo CIDR+BE. Burke *et al.* (2000), reportan que la administración de 1 mg de BE promueve efectivamente tanto el “turnover” folicular como la sincronización de los eventos foliculares que lideran la ovulación y el desarrollo de un folículo dominante. Una explicación a nuestros bajos resultados estaría dada por una posible asincronía entre el momento de la ovulación, y el momento de la realización de la IATF.

El protocolo Ovsynch® no mejoró los resultados de fertilidad del protocolo CIDR tras la IATF, resultando bajos ambos protocolos. De la misma forma, en un estudio realizado en vacas de leche utilizando un protocolo Ovsynch®, el porcentaje de preñez fue de un 21% (Rhodes *et al.*, 2003). Por el contrario, Roy & Twagiramungu (1996) reportan que, vacas amamantando sometidas a un protocolo GnRH-PGF2 α -GnRH, fué muy efectivo al realizar la IATF (62 % de preñez), en tanto Nebel y Josbt (1998), reportan un 38% de preñez en vacas en lactación. Parecería que una respuesta óptima a este protocolo se logra cuando se consigue un periodo de elevadas concentraciones de P4 luego de la primera inyección de GnRH, i.e., cuando el folículo dominante presente ovula como respuesta al tratamiento (Rhodes *et al.*, 2003). Otro elemento importante a considerar es el momento en el cual se realiza la IATF. En este ensayo se realizó a las 16 horas de la segunda inyección de GnRH. Según lo reportado por la bibliografía, no existiría diferencia entre la IATF a las 8, 16 o 24 horas luego de la segunda inyección de GnRH (Whisnant *et al.*, 1999). También se ha reportado, en este caso en vacas lecheras, que es importante considerar el momento posparto al realizar la IATF. Vacas que se encontraban con más de 76 días posparto presentaron mayores tasas de preñez

por IA que vacas que se encontraban entre 60-75 días posparto. Según esta información, los trabajos de IATF que optimizan los resultados con el protocolo Ovsynch®, se deberían realizar con animales con más de 75 días posparto (Nebel & Jobst, 1998). Con ello se alcanzaría una mayor cantidad de días parto-inicio de los tratamientos (Pursley *et al.*, 1997), ó un mejor estado corporal al momento de iniciar los mismos. No siempre es uniforme la respuesta a los tratamientos, debiéndose considerar además la edad de la vaca (número de partos) y el intervalo parto inicio de tratamientos (Rhodes *et al.*, 2003). Baruselli *et al.* (2001), plantea que con el protocolo GnRH/PGF2 α /GnRH, probado en condiciones pastoriles y con vacas en anestro, se obtienen tasas de preñez muy bajas (15-19%), mientras que en vacas que estaban ciclando antes del tratamiento reporta un 45% de preñez a la IATF. Por está razón se recomienda el uso del protocolo Ovsynch® solo en animales que estén ciclando, situación poco común en nuestros de cría rodeos manejados en condiciones extensivas (Rodríguez Irazoqui *et al.* 2003; Menchaca *et al.*, 2005), o en animales sometidos a manejos de control del amamantamiento (Geary *et al.*, 2001). Sin embargo existen reportes, bajo condiciones de producción con mejor nivel nutricional posparto, en las que el protocolo Ovsynch® induce la ovulación en un 83% de vacas en anestro (Geary *et al.* (1998).

Información regional reporta que en animales en condiciones pastoriles los mejores resultados en IATF, utilizando CIDR+BE, se logran con un EC de 2,5 a 3 (escala del 1-5, equivalente a 4-4,75 en la escala 1-8 utilizada en Uruguay, según Rovira, 1996), obteniendo un 52 a 57% de preñez a la IATF (Cutaia *et al.*, 2003).

En el Experimento II, los resultados observados de preñez final luego del repaso con toros, permiten suponer que, con una pérdida del 12% entre preñez/destete (Geymonat, 1985a), se obtendrán porcentajes de procreos superiores a la media anual histórica nacional, que se ubica en el entorno del 60% (DIEA-MGAP, 2003). Los resultados reportados indicarían que algunos de los puntos considerados anteriormente estarían afectando los resultados finales, fundamentalmente los días posparto y el EC al inicio del tratamiento, lo cual podría estar relacionado al estatus folicular previo al inicio de los tratamientos. Los días parto-inicio del servicio del toro pueden haber determinado el buen resultado final. Si se considera válida la hipótesis de que el primer CL posparto podría tener una sobrevida menor, cuando se realiza el servicio con el toro el CL formado podría ser de vida media normal y por lo tanto con mayores chances de mantenimiento de la preñez si se estableciera una fertilidad normal. Además los días posparto y el retiro del ternero posibilitarían que la vaca mejore su EC. Según lo reportado por Short *et al.* (1988), el corte de la producción de leche direccionaría el gasto energético hacia las funciones reproductivas. Estos efectos no son de

observación inmediata, la recuperación del EC lleva un tiempo y esta se podría haber establecido cuando se produjo el ingreso de los toros al servicio mejorando sustancialmente los resultados finales.

Experimento III

Lugar, animales y tratamientos

Se utilizaron 30 vacas Hereford primíparas y multíparas pertenecientes al rodeo de cría de la Estación Experimental “Mario A. Cassinoni” Facultad de Agronomía, (33° LS; Paysandú, Uruguay), que pastaron en campo natural. Al inicio de los tratamientos los animales tenían un estado corporal de $3,75 \pm 0,03$ (3,5-4) y se encontraban con $75,8 \pm 12,0$ (59-100) días posparto. Se registró el EC de todos los animales, al parto, al inicio y al fin de los tratamientos.

Los animales fueron asignados a tres grupos (n=10), según estado corporal al momento de la primera ecografía previa al inicio de los tratamientos (día -7), fecha de parto y categoría (primípara/multípara). Todos los animales al inicio del experimento se encontraban en anestro (sin CL ni folículos mayores a 5 mm de diámetro).

Grupo CIDR+E2: el Día -8 se insertaron CIDR, junto con 2 mg de BE. Ocho días más tarde se retiraron los CIDR y a las 24 h (Día 1) se administró 1 mg de BE. Al día siguiente (Día 2) se realizó la IATF, 48 horas posteriores al retiro del CIDR (Diagrama 3).

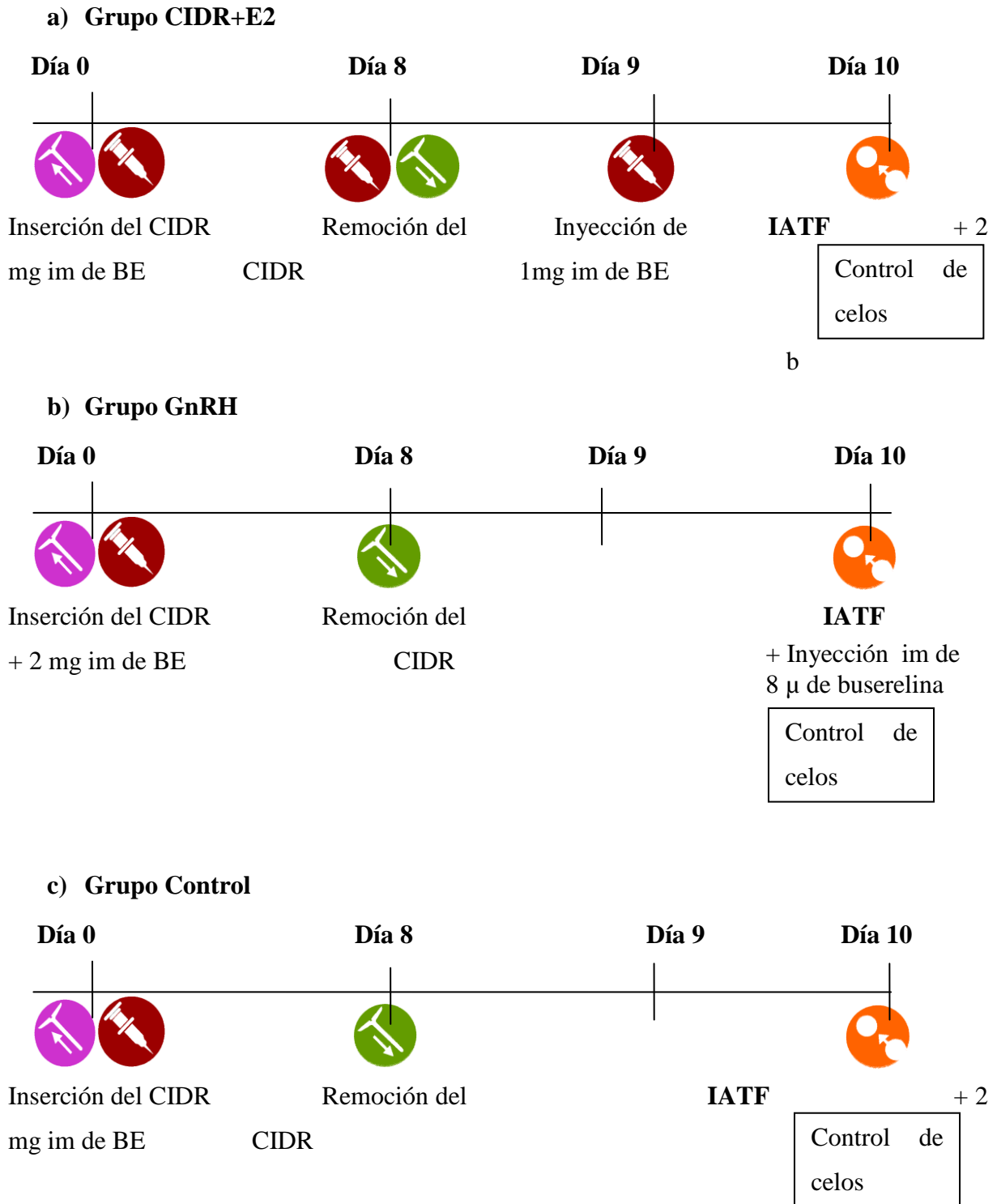
Grupo GnRH: el Día -8 se realizó la inserción del CIDR junto con 2 mg de BE. El Día 0 se retiró el CIDR, a las 48 horas (Día 2) se administró 8 µg de buserelina im al momento de la inseminación de los animales (Diagrama 3).

Grupo Control: el Día -8 se insertaron los CIDR junto con 2 mg de BE. A los 8 días (Día 0) se retiraron los CIDR, y a las 48 horas (Día 2) se realizó la IATF. No se administró ninguna hormona luego de la inserción del CIDR (Diagrama 3).

La IATF en todos los grupos bajo tratamiento hormonal, fue realizada por un solo operario debidamente entrenado y mediante el método recto vaginal. En todos los animales se utilizó semen de un mismo toro con evaluación de fertilidad. Entre el día 1 y 5 pos retiro del CIDR, se determinó el comportamiento estral mediante dos observaciones diarias a campo cada 12 horas (AM/PM). A los 13 días posteriores a la IATF se volvieron a observar los animales

inseminados durante 45 días se inseminaron nuevamente los animales que repitieron el servicio.

Diagrama 3: Esquema de los protocolos realizados en el experimento III



Seguimiento ecográfico

A partir del día del retiro del CIDR-B (definido como Día 0) y hasta el Día 5 (120 horas post retiro del CIDR-B), se determinaron las estructuras ováricas mediante ecografías diarias. Para ello se utilizó un equipo Aloka 500 (Aloka Co., Ltd., Tokyo, Japón) provisto de un transductor lineal de 7,5 MHz. Se localizaron los ovarios, con movimientos transversales intrarectales de derecha a izquierda y viceversa. Se ubicaron los folículos superiores a 5 mm y una vez ubicados las estructuras y determinada la mejor imagen se procedió a realizar un mapeo de acuerdo a su ubicación relativa dentro del ovario, junto con las mediciones obtenidas con el calibre electrónico (Griffin & Ginther, 1992). La presencia del folículo preovulatorio se determinó mediante el análisis retrospectivo de los registros ecográficos. El día de la ovulación se determinó cuando a la siguiente ecografía el folículo preovulatorio había desaparecido (Pierson *et. al.*, 1988; Ginther *et. al.*, 1996; Ginther, 2000)

Obtención de muestras sanguíneas

Se realizó extracción de sangre por venopunción yugular para la determinación de la concentración plasmática de P4 en el momento de colocar y de retirar los CIDR-B, diariamente entre los Días 1 y 5, y a los 7 y 15 días de la IATF.

Diagnóstico de gestación

Se realizó mediante ecografía transrectal el Día 40 pos IATF. A los 60 días de finalizado el período de servicios se evaluó la preñez final.

Resultados

El 77% (23/30) de los animales tratados manifestó el celo dentro de las primeras 120 horas del retiro del dispositivo CIDR-B. La distribución de celos a las 42 y 54 horas posteriores al retiro del CIDR-B se muestra en la Figura 1.

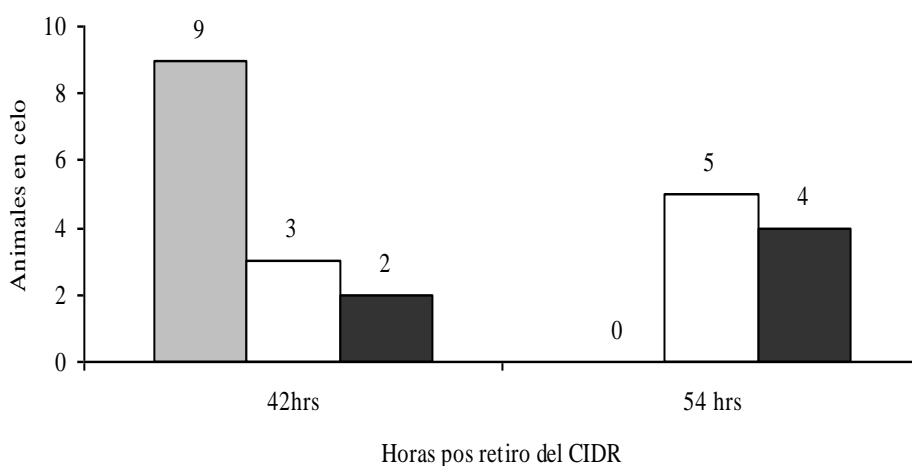


Figura 1: Distribución de celos según horas pos retiro del CIDR y según tratamiento aplicado en vacas de carne en posparto CIDR+E2, \square GnRH, \square Control. \blacksquare

Un porcentaje mayor de animales del grupo CIDR-B+BE (9/10) se encontraba en celo a las 42 horas del retiro del CIDR (Figura 1), siendo significativamente diferente con respecto al resto de los grupos ($P=0,002$). No manifestaron celo en ningún momento dentro del período observado: 1 animal del grupo CIDR+E2, 2 del grupo GnRH, y cuatro del grupo Control.

El diámetro folicular determinado entre el Día 0 y el día 3 luego del retiro de CIDR-B fue afectado por la categoría. Las vacas multíparas presentaron un mayor diámetro folicular que las primíparas (11 ± 0.4 vs 10 ± 0.3 mm; $P=0,008$). No hubo efectos significativos del intervalo posparto y ni del EC. La evolución del diámetro folicular luego del retiro del CIDR+E2 fue diferente a la de los animales Control (Figura 2). No hubo diferencias en esta variable entre los grupos CIDR+E2 vs. GnRH y GnRH vs. Control.

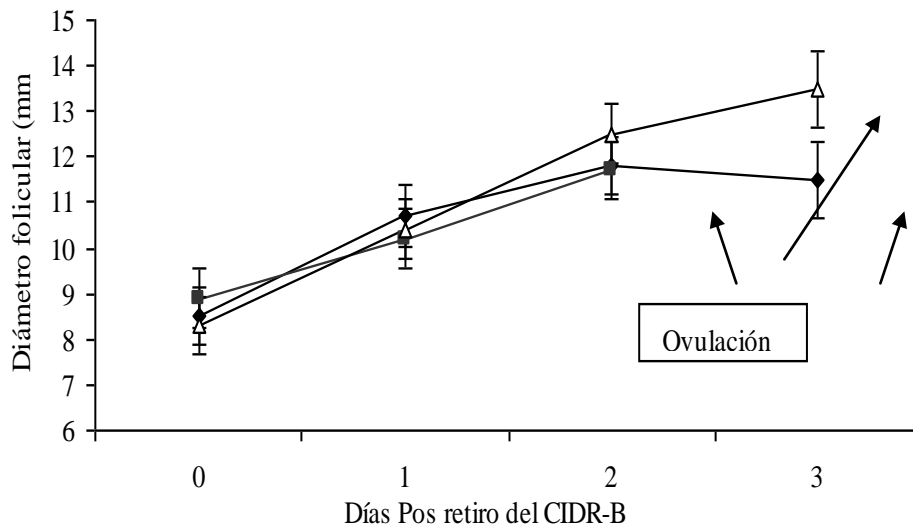


Figura 2: Diámetro del folículo mayor hasta su ovulación, según tratamiento aplicado normalizado al momento del retiro del CIDR (Día 0). CIDR+E2 ■ 10 ± 0.65 mm, Control △ $13,5 \pm 0.84$ mm, GnRH ◆ 11.8 ± 0.83 mm.

El 89% (8/9) de los animales que ovularon en el grupo CIDR+E2 lo hicieron a las 60 horas de retirado el CIDR-B (Tabla 3). De los animales tratados con GnRH, el 40% (4/10) ovuló a las 60 horas y el 60% restante (6/10) a las 84 horas.

Tabla 3: Momento en el que se produce la ovulación y porcentaje de animales que ovularon de acuerdo al protocolo empleado en la sincronización de celos post retiro del CIDR.

Grupo	Momento de la ovulación (hs)		
	Ovularon a las 60 hs %	Ovularon a las 84 hs %	Ovularon/Tratadas %
CIDR+E2 (n=10)	80 (8) ^{a, x}	11 (1) ^{a, y}	90 (9) ^a
GnRH (n=10)	40 (4) ^a	60 (6) ^a	100 (10) ^a
Control (n=10)	40 (4) ^a	50 (5) ^a	90 (9) ^a

Para una misma columna a vs. b, $P \leq 0.05$. Para misma fila x vs. y, $P \leq 0.05$.

En la Figura 3 se presentan las concentraciones de P4 de los animales de los distintos tratamientos. Se observa una importante declinación a partir del Día 0, en concordancia con el retiro de los dispositivos. Al día Día 2 (momento en donde se presenta la mayor cantidad de animales en celo y día de la IATF), las mismas se encuentran muy bajas ($0,3 \pm 0,3$ ng/ml). Los niveles de P4 registrados fueron máximos los Días 9 ($4,1 \pm 0,3$ ng/ml) y 16 ($6,8 \pm 0,3$ ng/ml).

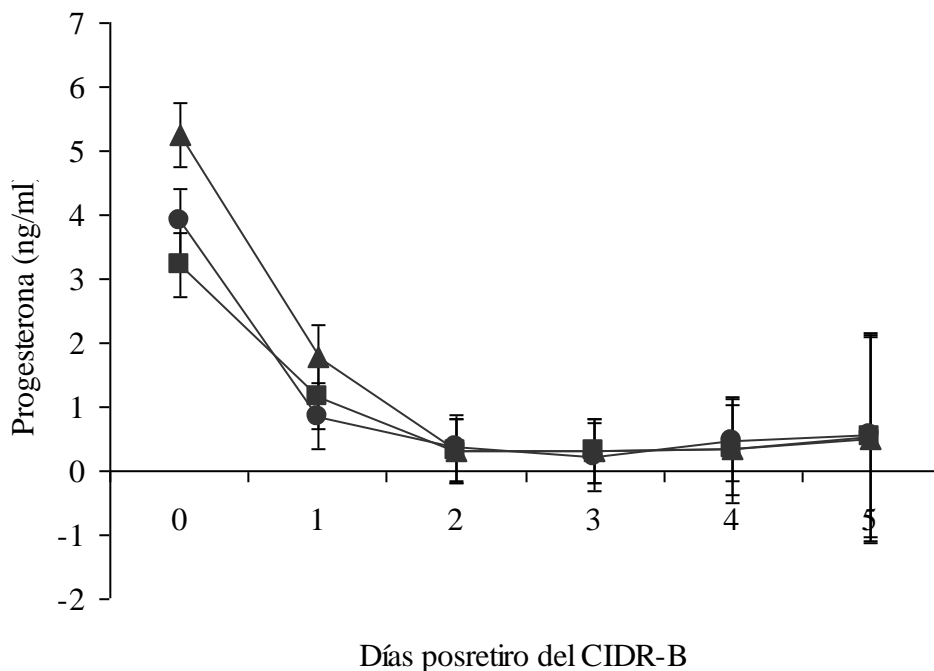


Figura 3: Concentración sérica de progesterona (media \pm EE) luego de retirado el CIDR (Día 0). CIDR+E2 ■, GnRH ▲, Control ●.

No existieron diferencias significativas en las tasas de fertilidad obtenidas en la IATF (1/10, 6/10 y 5/10, para los grupos CIDR+E2, GnRH y Control respectivamente. En el grupo CIDR+E el animal que quedó preñado ovuló a las 60 h. De los animales preñados en el grupo GnRH, 3 ovularon a las 60 horas y 3 a las 84 horas. Del grupo Control 3 de los animales preñados ovularon a las 60 horas y 2 a las 84 horas.

Discusión

El objetivo planteado fue determinar la ocurrencia y el momento de la ovulación luego del retiro del dispositivo CIDR, en vacas sometidas a destete precoz y EC medio (3.5-4). Se realizó la comparación entre el momento de la ovulación, las manifestaciones de celo y el porcentaje de preñez a la IATF, luego de distintos tratamientos hormonales para la sincronización/inducción del estro.

Los resultados observados muestran que el 80% de los animales del grupo CIDR+BE ovularon dentro de las 60 horas posteriores al retiro del dispositivo CIDR. Este resultado es similar a lo reportado por Bó *et al.* (1995; 2002). En trabajos utilizando protocolos similares (Cutaia *et al.* 2003; Bó *et al.*, 2005), utilizando fuentes exógenas de P4 (CIDR) junto con

benzoato de estradiol, el momento de la ovulación luego del retiro del dispositivo CIDR, fue en promedio a las 66 horas. Bó *et al.* (1995; 2002), reportan la importancia de la administración de benzoato de estradiol al comienzo del tratamiento con el objetivo de inducir la atresia del folículo mayor, y también evitar la ovulación de un folículo viejo que deprimiría la fertilidad.

En el grupo GnRH, solo el 40% de los animales ovularon en un período similar al grupo CIDR+BE (60 horas post retiro del CIDR), el 60% restante lo hizo a las 84 horas. Finalmente en el grupo Control (CIDR+IATF), la distribución observada fue de 40% a las 60 horas y 50% a las 84 horas, luego del retiro del dispositivo (1 vaca ovuló a las 120 horas del retiro del CIDR). Estos resultados nos indican que existió una importante concentración de las ovulaciones en el grupo CIDR+E2, mientras que en los otros grupos los tratamientos fueron menos efectivos en lograr ovulaciones más agrupadas. El benzoato de estradiol dado a las 24 horas luego del retiro del CIDR, favorece la concentración y la sincronía de las ovulaciones (Lane *et al.*, 2001; Bó *et al.* 2001) y promueve la presentación de signos de celo, seguido de un ciclo estral de duración normal, cuando además del tratamiento con CIDR+BE se le separa el ternero a la vaca (Makey *et al.*, 2000). Tiene por lo tanto el objetivo de gatillar la ovulación a través del estímulo del pico de LH pre ovulatorio y también contribuiría a lograr una mayor precisión y concentración de las ovulaciones.

Para obtener buenos resultados de fertilidad es importante considerar el momento en el que se realiza la inseminación artificial, el momento en el cual ocurre la ovulación y la sincronía con el que ambos ocurren. Se plantea que el momento óptimo para realizar la IA y no afectar los resultados, es entre las 8 a 12 horas antes del momento de la ovulación. Esto permitiría la capacitación de los espermatozoides en el tracto femenino, logrando una mayor fertilidad. La asincronía entre ambas, es un factor muy importante, que puede afectar los resultados de fertilidad.

El estudio del seguimiento de la dinámica folicular entre el Día 0 y el Día 3 post retiro del CIDR, permitió observar que el diámetro folicular fue afectado significativamente por la categoría (primíparas vs. multíparas, $P < 0.008$). Las vacas multíparas presentaron un mayor diámetro folicular en el período estudiado que las primíparas, $11 \pm 0,4$ vs $10 \pm 0,3$ ($P < 0.008$). Esta observación estaría explicada por la posibilidad de que las vacas multíparas tengan una recuperación más rápida luego del parto a partir de un mejor balance energético. Estas diferencias indicarían que las vacas multíparas, a igual días posparto, tendrían un mayor desarrollo folicular, que las primíparas. Por otra parte, en el Experimento III no existió efecto de los días pos parto y del EC sobre el diámetro folicular, producto en este último caso de la

utilización de animales muy homogéneos en EC. Bó *et al.* (2003) reporta, basado en un número muy importante de datos, la importancia del EC. Las características de producción de nuestra región, pastoreo en pastizal natural y en condiciones extensivas, hacen que se prolongue el anestro posparto, lo cual se traduce en importantes pérdidas económicas para el sector de producción de carne. En ese sentido, el autor plantea que, para lograr buenos resultados en la IATF, los animales deberían tener una condición corporal mínima al inicio de los tratamientos de 2,5 en la escala del 1-5, que equivaldría a 4 en la escala del 1-8 utilizada en el Uruguay (Rovira, 1996). Los resultados en preñez reportados por este autor, siguiendo el criterio antes enunciado, se encuentran entre el 28% (vacas con cría al pie con EC de 4) y un máximo de 75% (vaquillonas con un EC de 5). Por lo tanto se propone que, para obtener resultados aceptables, las vacas tengan un EC igual a 4 al momento de iniciar un programa de sincronización de celos (Bó *et al.*, 2003). De acuerdo a esto, las diferencias obtenidas en cuanto a diámetro folicular estarían explicadas por el mejor EC de las vacas clasificadas con $EC > 3,5$, lo cual junto con el destete precoz favoreció el desarrollo del diámetro folicular.

La IATF en este experimento fue realizada entre las 48 a 50 horas de retirado el CIDR. Aquellos animales que presentaron ovulación en promedio a las 60 horas pos retiro del CIDR, y que no se les administró BE (tratamientos GnRH y Control), registraron altos porcentajes de preñez a la IATF. En estos animales la IATF se realizó 10-12 horas antes de la ovulación. Mientras que aquellos animales que ovularon a las 84 horas (la IATF se realizó a las 34-36 horas antes de la ocurrencia de la ovulación), los porcentajes de preñez obtenidos fueron menores para el grupo GnRH y grupo Control. Estos resultados indicarían que las ovulaciones que ocurren más allá de las 60 horas luego del retiro del CIDR presentarían problemas de fertilidad, los cuales posiblemente estarían relacionados con la sobrevida del espermatozoide en el tracto femenino.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, el momento óptimo para realizar la IATF en los protocolos GnRH y Control, sería alrededor de las 50-56 horas luego del retiro del CIDR. Información similar es reportada por Bó *et al.* (2001) y Cutaia *et al.* (2003). Estas observaciones nos permiten pensar que si el semen utilizado es de buena calidad podríamos esperar una alta fertilización de los ovocitos presentes.

Contrariamente a lo observado en los grupos GnRH y Control, el grupo CIDR+E2 presentó una alta sincronía en la ovulación (80% de los animales ovularon a las 60 horas de retirado el CIDR), pero fueron bajos los resultados en fertilidad a la IATF. Una de las explicaciones a estos resultados estaría dada por una posible alteración en el transporte espermático provocada por la dosis de estradiol empleada, o en el origen y calidad comercial del BE

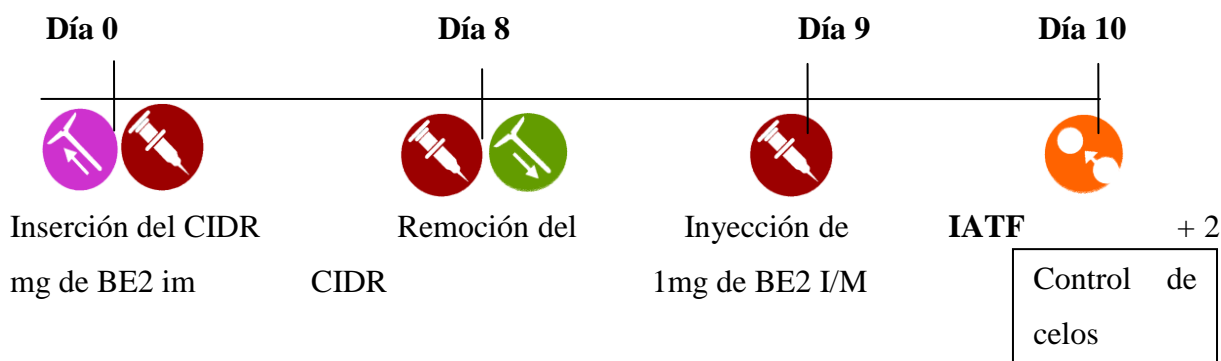
utilizado. Otra posible explicación sería una pobre señal del embrión a su madre, no produciéndose correctamente el reconocimiento materno de la preñez en las primeras etapas del desarrollo gestacional (Mann & Lamming, 1995; Silva *et al.* 2002).

Los resultados de fertilidad a la IATF (54%) obtenidos por el tratamiento GnRH son similares a lo reportados por Caccia *et al.*, (2003), en cual logran un 60% de preñez, en experimentos realizados en condiciones ecológicas similares a las de nuestro experimento. La administración de GnRH induce la liberación de LH y estimula la ovulación del folículo dominante (tamaño > 10mm), entre las 20 – 30 horas posteriores a la inyección (Pursley *et al.*, 1995). Stevenson (2000), reporta que un tratamiento previo con un progestágeno antes de la administración de GnRH, aumenta la inducción de la ovulación en vacas en anestro y que no estén ciclando.

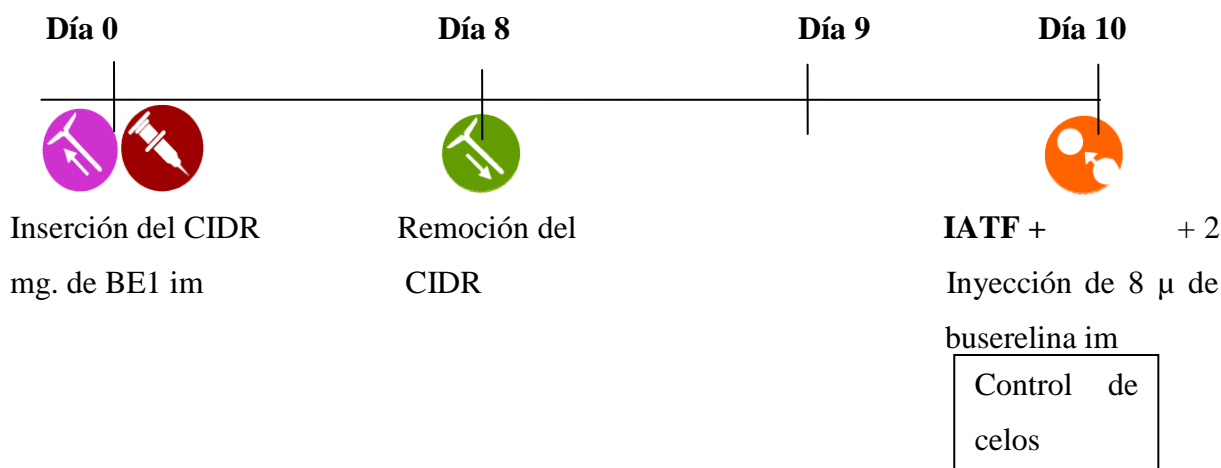
Los resultados del tratamiento GnRH muestran que en el 100% de los animales se indujo la ovulación. Sin embargo la GnRH no pudo lograr una ovulación sincrónica. Un grupo de animales (4/10) ovuló a las 10 horas de administrada la GnRH (aquellos que ovularon a las 60 horas del retiro del CIDR). Mientras que los animales que ovularon a las 84 horas de retirado el CIDR (6/10), lo hicieron a las 34 horas posteriores a la administración de la GnRH. Esta puede ser una explicación a las diferencias en porcentajes de preñez obtenidas en el grupo GnRH (75% para los que ovularon a las 60 horas y 50% para los que lo hicieron a las 84 horas), si bien el número de animales empleados no permite tener una conclusión definitiva.

El estudio de las concentraciones de P4 circulante muestran una fuerte caída luego del retiro del dispositivo intravaginal CIDR. Los niveles de P4 de todos los animales, independientemente del tratamiento, comienzan a aumentar paulatinamente luego de la ocurrencia del estro (Día 2). En las muestras tomadas a los 9 y 16 días del retiro del CIDR, las concentraciones séricas llegan a niveles más elevados ($4,12 \pm 0,3$ y $6,8 \pm 0,3$ mg/ml). Este hecho indicaría que se ha desarrollado fases luteales normales luego de los tratamientos implementados, y por lo tanto el desarrollo de un CL funcional del ciclo o de preñez. Estos resultados confirmarían la hipótesis de que, luego del retiro del CIDR, se produciría un ciclo estral con una duración normal.

b) Grupo CIDR+BE2



c) Grupo GnRH



Seguimiento ultrasonográfico

A partir del día del retiro del CIDR (definido como Día 0) y hasta el Día 5 (120 horas post retiro del CIDR), se determinaron las estructuras mediante ecografías diarias. Para ello se utilizó un equipo Aloka 500 (Aloka Co., Ltd., Tokyo, Japón) provisto de un transductor lineal de 7,5 MHz. Se localizaron los ovarios, con movimientos transversales intrarectales de derecha a izquierda y viceversa. Se ubicaron los folículos superiores a 5 mm y una vez ubicados las estructuras y determinada la mejor imagen se procedió a realizar un mapeo de acuerdo a su ubicación relativa dentro del ovario, junto con las mediciones obtenidas con el calibre electrónico. La presencia del folículo pre ovulatorio se determinó mediante el análisis retrospectivo de los registros ecográficos. El día de la ovulación se determinó cuando a la siguiente ecografía el folículo preovulatorio había desaparecido.

Resultados

El porcentaje de animales en celo y la cantidad de animales que ovularon se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4: Efecto de la fuente del benzoato de estradiol sobre la tasa de ovulación y el porcentaje de celos luego del retiro del CIDR.

Grupo	Tasa de Ovulación*	Celo
	%	%
BE 1 (n=13)	85 (11)^a	92 (12)^a
BE 2 (n=12)	50 (6)^a	66 (8)^a
GnRH (n=13)	85 (11)^a	77 (10)^a

BE 1: Benzadiol (Universal Lab), **BE 2:** Benzoato de estradiol (Laboratorio Río de Janeiro ®, Argentina). Test de χ^2 con corrección de Fisher-Yates, $P \leq 0,05$. * Tasa de ovulación: ovuladas/tratadas

No se observan diferencias entre tratamientos en tasa de ovulación y animales en celo en el período estudiado (Tabla 4).

El diámetro folicular estuvo afectado por los tratamientos (Figura 5), observándose diferencias entre los grupos BE1 y GnRH ($9,3 \pm 0,5$, $10,9 \pm 0,4$ y $9,1 \pm 0,4$ mm para los grupos BE1, GnRH y BE2 respectivamente; $P=0,002$). El diámetro folicular también fue influenciado por la paridad ($10,7 \pm 0,3$ vs. $8,8 \pm 0,5$ mm, para vacas multíparas y primíparas respectivamente; $P=0,002$) y por el EC ($9,8 \pm 0,2$ y $10,3 \pm 0,4$ mm, para EC menor o mayor a 3,5 respectivamente; $P=0,03$).

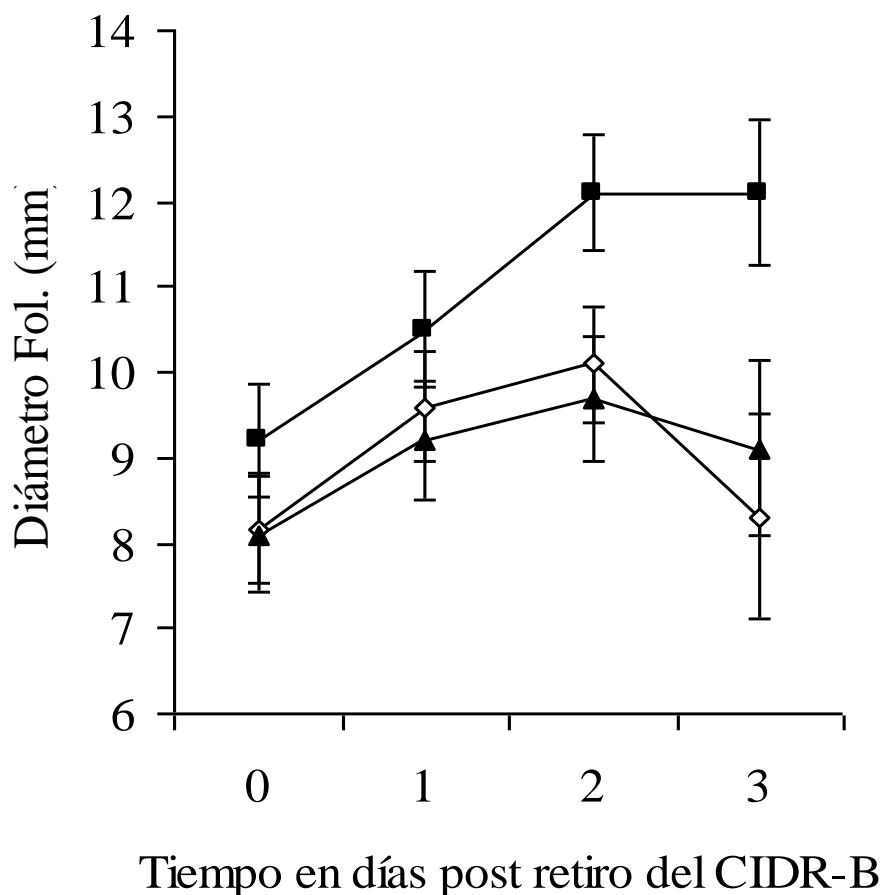


Figura 5: Diámetro del folículo mayor hasta la ovulación de acuerdo al tratamiento aplicado y en relación al momento del retiro del CIDR (Día 0). BE1 $8,3 \pm 1,2$ mm, BE2 $9,1 \pm 1,0$ mm, GnRH $12,1 \pm 0,8$ mm.

No se observaron diferencias significativas entre grupos en el momento de la ovulación. A las 60 horas de retirado el CIDR ovularon el 69% (9/13), 50% (6/12) y 46% (6/13) de los animales de los Grupos BE1, BE2 y GnRH, respectivamente (Figura 6). El 67% (6/9), 50% (3/6) y 60% (3/5) de los animales gestantes de los grupos BE1, BE2 y GnRH ovularon a las 60 horas.

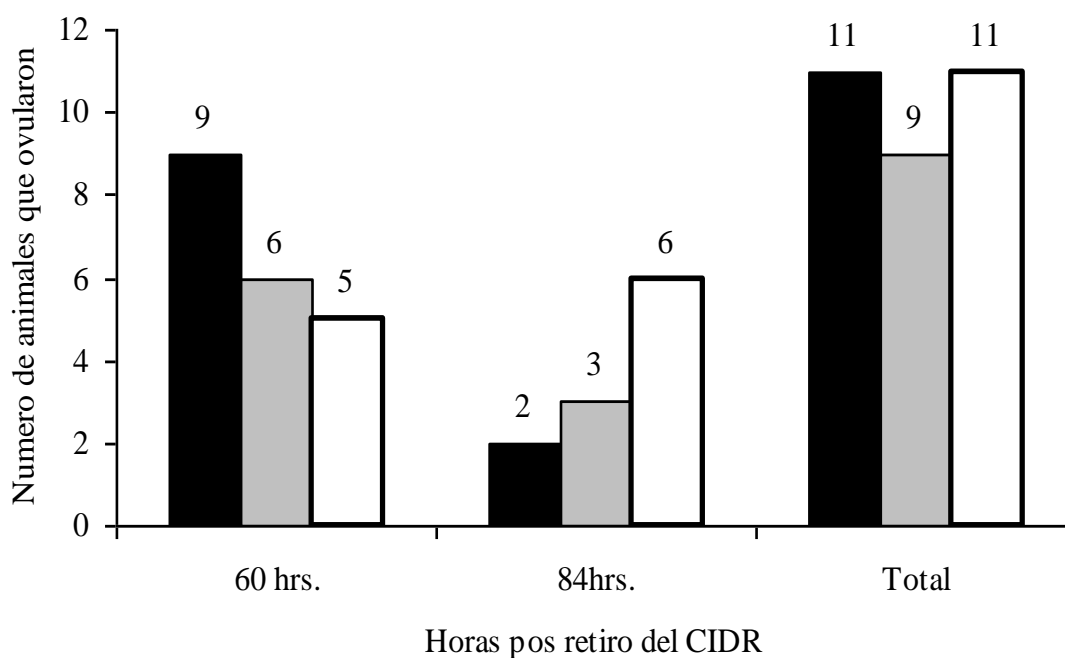


Figura 6: Cantidad de animales que ovularon y momento de la ovulación en relación a las horas pos retiro del CIDR según tratamiento aplicado. BE1 , BE2 , GnRH. □

Los resultados de fertilidad a la IATF observados fueron: Grupo BE1 46%, preñándose el 67% de los animales que ovularon a las 60 horas del retiro del CIDR. El Grupo BE2 alcanzó un porcentaje de 25%, el 50% de los animales gestantes fueron los que ovularon a las 60 horas. Finalmente el Grupo GnRH la fertilidad obtenida fue de 54%, con una distribución de un 60% a las 60 horas y un 66 % a las 84 horas. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos, en las tasas de fertilidad obtenidas en la IATF.

Discusión

El Experimento IV fue diseñado con el objetivo de evaluar formulaciones de benzoato de estradiol elaborado por dos firmas comerciales diferentes. Este objetivo surge de lo reportado en el experimento III en donde el protocolo que utiliza el BE 24 horas luego del retiro del CIDR, fue el que obtuvo el peor resultado en preñez a la IATF. La hipótesis planteada fue que la formulación de BE empleada hasta el momento en los protocolos, tendría algún grado de incidencia en los resultados obtenidos.

El diámetro folicular observado entre el Día 0 y el Día 3 estuvo afectado por los tratamientos aplicados, siendo el grupo GnRH el que logro el mayor diámetro folicular respecto a los

tratamientos que utilizaron estrógeno luego del retiro del CIDR ($P < 0.002$). Por otra parte, no existieron diferencias significativas entre los protocolos que emplearon BE de distintos orígenes, respecto al número de animales que ovularon, al porcentaje de celos al momento de la IATF y a la fertilidad lograda a la IATF. Sin embargo existieron diferencias entre los tratamientos que, producto del bajo número de animales por tratamiento, no alcanzaron significación estadística. Esas diferencias se evidenciaron en que existió un alto número de animales de los grupos con BE, que manifestaron celo y ovularon, con respecto al grupo GnRH. En caso del grupo BE1 se observa que el 69% de los animales ovulan dentro de las 60 horas del retiro del CIDR. De ese 69% resultaron gestantes un 67% a las 60 horas y no gestó ninguno de los animales que ovularon a las 84 horas. Este hecho estaría indicando que existiría una fuerte asociación entre el momento de la ovulación, la IATF y la fertilidad (Bó *et al.*, 2003). En el grupo BE2 ovuló el 50% a las 60 horas del retiro del CIDR, pero por el contrario solo el 50% se gesta y no ovuló ninguno a las 84 horas. Siendo la fertilidad final de este grupo muy baja (25%). Las diferencias entre los grupos BE1 y BE tanto en animales que ovulan (85 vs. 50%, NS) como en fertilidad (46 vs. 25%, NS), indica que podrían existir diferencias en la formulación de los productos de benzoato de estradiol utilizados (Mapletoft *et al.*, 2003). Por el contrario similar a lo ocurrido en el Experimento III, se registra un buen resultado en fertilidad en el tratamiento GnRH (54%). Sin embargo las diferencias observadas, probablemente por el bajo número de animales utilizados, no alcanzaron significancia estadística.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de los Experimentos I y II evidencian un alto porcentaje de animales del rodeo de cría que se encuentran en anestro al inicio de la época de servicio. En acuerdo con estos resultados observados, el protocolo de inducción/sincronización de celos que mejor se adaptaría a esas condiciones sería el que utiliza una fuente de P4 y la combinación con benzoato de estradiol (Alberio, 2003). Por otra parte, el protocolo GnRH/PGF/GnRH se debería utilizar en animales ciclando, en los cuales los porcentajes de preñez a la IATF se elevarían significativamente (Baruselli, *et al.*, 2001).

Los Experimentos III y IV se centraron en explicar algunas de las interrogantes planteadas en la utilización del protocolo CIDR-B+BE surgidas de los experimentos de campo I y II.

Las observaciones de los experimentos I y II, nos indican que el protocolo CIDR+BE presentó una buena respuesta de animales en celo pero baja respuesta en fertilidad a la IATF. En este sentido se podría pensar que la segunda dosis empleada en ambos experimentos (1 mg en dosis única al retiro del dispositivo CIDR), podría resultar excesiva y que estaríamos en presencia de manifestaciones de celo pero sin la ocurrencia de ovulación.

Una de las posibles explicaciones para entender los bajos resultados obtenidos en porcentajes de fertilidad logrados por el protocolo CIDR+BE, es el EC al inicio de los tratamientos. Los animales utilizados en estos protocolos, tanto en los trabajos preliminares de campo como en los ensayos posteriores, se encontraban en EC medio (3,5-4, escala del 1-8), situación muy común en el rodeo de cría nacional previo a la época de servicio. Trabajos nacionales de IATF utilizando vacas con EC promedio de $4,2 \pm 0,1$, junto con destete precoz, reportan resultados de preñez cercanos al 60% (Menchaca, *et al.*, 2005). Este trabajo en sus resultados establece la importancia del EC al momento del inicio de los tratamientos y la interacción de la IATF y el destete precoz. Los resultados obtenidos por este autor, en similares condiciones ecológicas, indicarían la importancia del logro de un buen EC (promedio 4), para llevar adelante trabajos de sincronización/inducción de celos para la IATF en vacas multíparas en anestro posparto.

Una alternativa a explorar para lograr mejores resultados de fertilidad en nuestras condiciones de producción podría ser que, cuando se utilizan vacas en condición corporal media (3.5-4), como las de nuestros experimentos, se utilicen suplementos energéticos de bajo costo y en bajas cantidades por animal (por ej.: afrechillo de arroz o semilla de algodón durante un período de 20-25 días). Esta medida de manejo podría ser implementada luego de realizada la IATF. Esta propuesta podría contribuir a una mejor nutrición del CL formado luego de la IATF (efecto nutracéutico), aumentar la supervivencia embrionaria y como consecuencia la fertilidad (Williams & Stanko, 2000; Funston & Filley, 2002). La alimentación con semillas con alto contenido de ácido graso (linoleico), como el contenido en la semilla de algodón o el afrechillo de arroz entero, pueden disminuir la secreción de PGF₂, complementar la acción antiluteolítica del interferon y mejorar las tasas de preñez (Thatcher *et al.*, 2005). Trabajos nacionales que utilizaron suplementación energética en combinación con técnicas de control del amantamiento, reportan resultados muy positivos en fertilidad (Rodríguez-Irazoqui *et al.*, 2005; Soca *et al.*, 2005). Otra alternativa para mejorar la calidad del CL podría ser la reutilización del CIDR usado para la sincronización de celos. El objetivo es generar un ambiente rico en P₄ que estimule la sobrevivencia del embrión, inhibiendo la formación de receptores uterinos a la oxitocina, estimulando el reconocimiento materno de la preñez (Silva *et al.*, 2002). Ambientes con baja concentración de P₄, estimulan el desarrollo

de fuertes estímulos luteolíticos y por lo tanto la pérdida temprana de la gestación, por esta razón algunos autores sugieren la suplementación con P4 para combatir la pérdida embrionaria temprana en vacas (Mann & Lamming, 1995).

CONCLUSIONES

- I. Los resultados observados evidenciaron que la asociación de los protocolos de sincronización de celo junto con técnicas de control del amamantamiento, en este caso el destete precoz, reportó una buena respuesta tanto en manifestación de celos y como en la ovulación.
- II. En los experimentos III y IV en los cuales se determinó la ocurrencia y el momento de la ovulación en relación a la realización de la IATF, los resultados evidenciaron una buena sincronía entre la ovulación y la realización de la IATF, realizada a las 48 horas del retiro del CIDR.
- III. La administración de GnRH al momento de la IATF en los protocolos que utilizan al inicio una fuente de P4 (CIDR) y benzoato de estradiol, presentó una buena respuesta en preñez (60 y 54% (Experimentos III y IV), cuando además se la combinó con el destete precoz. Este protocolo tiene la ventaja de disminuir el número de encierres de los animales lo cual evita un mayor stress en la realización de los trabajos y podría mejorar los resultados de preñez final.
- IV. La respuesta en fertilidad estaría estar asociada al EC de los animales al inicio de los tratamientos: Parece existir un EC umbral que se ubicaría en el entorno de 4, en la cual se pueden esperar buenas respuestas a los tratamientos. Esta es una de las hipótesis que en futuros diseños experimentales se debería evaluar.

ANALISIS GLOBAL DE LOS EXPERIMENTOS

En función de los resultados reportados en los experimentos y con el objetivo de mejorar la respuesta a las hipótesis planteadas, se presentan a continuación algunos aspectos a considerar en futuros experimentos y no debidamente contemplados en los trabajos realizados:

- I. El EC al inicio de los trabajos parece ser determinante para el logro de altos porcentajes de preñez. Por otra parte parecería existir un EC umbral que, en nuestras condiciones de trabajo, condicionaría el logro de mejores resultados. Ese umbral de EC, según lo reportado por la bibliografía, dentro de la escala usada en Uruguay (1-8) se encontraría entre 4 y 4.5 puntos, dependiendo de la categoría a utilizar. Es de importancia el diseño de estudios que consideren animales con diferentes EC y analizar el comportamiento de los protocolos estudiados.
- II. El objetivo del estudio del EC debería ser poder definir cuál sería el EC objetivo para cada categoría (primípara/multípara) al inicio de los tratamientos.
- III. Se debería además, considerar el análisis de la evolución del EC a lo largo del año y su posible repercusión al parto y en el posparto. El desbalance nutricional producido por el pastoreo en pastizal nativo y sin uso de suplementos (situación común en los rodeos de cría nacionales), se traduce en una importante variación en el EC entre e intra estaciones a lo largo del año.
- IV. Las vacas primíparas parecería ser la categoría más afectada y merecerían una mayor atención. En el diseño de los experimentos se debería considerar especialmente los efectos de los manejos farmacológicos de inducción/sintonización de celos y ovulaciones en la categoría de vacas primíparas. En los trabajos antes descriptos no se tomo una consideración especial sobre la categoría primípara.
- V. En los diseños se deberían incorporar un estudio ecográfico más prolongado con el objetivo de determinar con mayor precisión la evolución previa y posterior a la IATF en cuanto a la dinámica folicular.
- VI. El estudio hormonal complementario del punto anterior nos permitirá analizar la ocurrencia de fases luteales cortas luego de la aplicación de los tratamientos.
- VII. Un aspecto no resuelto en los experimentos y dificultado por el material experimental empleado, es el número de animales por tratamiento. Es importante considerar en nuevos experimentos el aumento significativo del número (*n*) de animales experimentales de forma de aumentar la confiabilidad de los resultados en variables como la fertilidad.

- VIII. Finalmente junto al diseño de trabajos experimentales en condiciones más controladas, se deben definir diseños de experimentos en condiciones de campo con el objetivo de validar y difundir la información que se genera.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Alberio, R.** (2003). Nuevas Biotecnologías resprodectivas. Aspectos biológicos y económicos. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. 27, 28 y 29 de Junio, Huerta Grande, Córdoba, Argentina. P- 293.
2. **Anuario OPYPA-MGAP.** (2005 y 2006). DIEA. www.mgap.gub.uy/diea/anuarios. Fecha de consulta: Setiembre 16/2006.
3. **Baruselli, P.S., Madureira, E.H., Marques, M.O.** (2001). Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Bos Indicus. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal. 22- 24 de Junio, Huerta Grande, Córdoba, Argentina. P-. 95.
4. **Barusselli, P.S., Marques, M.O., Reis, E.L., Bó, G.A.** (2003). Tratamientos hormonales para mejorar la performance reproductiva de vacas de cría en anestro en condiciones tropicales. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. 27, 28 y 29 de Junio, Huerta Grande, Córdoba, Argentina. P- 103.
5. **Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Tribulo, H.E., Caccia, M., Mapletof, R.J.** (1993). Follicular wave dynamics after estradiol -17 β treatment of heifers with or without a progesterone implant. *Theriogenology* 41: 1555-1569.
6. **Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Tríbulo, H.E., Caccia, M., Mapletoft, R.J.** (1994). Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology*, 41:1555-1569.
7. **Bó, G.A., Adams, G.P., Caccia, M., Martínez, M., Pierson, R.A., Mapletof, R.J.** (1995). Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Journal Animal Reproduction Science* 39: 193-204.
8. **Bó, G.A., Cutaia, L., Brogliatti, G.M, Medina, M., Tríbulo R., Tríbulo, H.** (2001). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. 4º Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande. Córdoba. Argentina. P- 117.
9. **Bó, G.A., Cutaia, L. Veneranda, G.** (2003). Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. 12 y 13 de Junio de 2003. Paysandú, Uruguay. P- 31.
10. **Bó, G.A., Cutaia, G.M., Chesta, P., Balla, E., Picinato, D., Peres, L., Maraña, D., Avilés, M., Menchaca, A., Veneranda, G., Baruselli, P.** (2005). Implementación de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de Argentina. 6º Simposio

- Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 24, 25 y 26 de Junio. P-97.
11. **Bencharif, D., Tainturier, D., Slama, H., Bruyas, J.F., Battut, I., Fieni, F.** (2000). Prostaglandines et *post-partum* chez la vache. *Revue Médecine Vétérinaire* 151, 5 : 401-408.
 12. **Bossis, I., Wettemann, R. P., Welty, S. D., Vizcarra, J. A., Spicer, L. J., Diskin, M. G.** (1999). Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal Animal Science* 77, (6): 1536-1546.
 13. **Burke, C.R., Boland, M.P., Macmillan, K.L.** (1999). Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle. *Journal Animal Reproduction Science* 55:23-33.
 14. **Burke, C.R., Day, M.L., Bunt, C.R., Macmillan, K.L.** (2000). Use of small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *Journal Animal Science* 78: 145-151
 15. **Butler, W. R.** (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 83: 211-218.
 16. **Caccia, M., Cutaia, L., Moreno, D., Bó, G.** (1998). Sincronización del momento de la ovulación en vacas tratadas con CIDR-B, Benzoato de estradiol, progesterona y GnRH. In. Cuartas Jornadas Nacionales CABIA y Primeras del MERCOSUR. Bs. As. Agosto 27, 28 y 29. Argentina. Sección Comunicaciones Libres. P- 263.
 17. **Callejas, S.** (1998). Programas de sincronización de celos con prostaglandinas. In. Cuartas Jornadas Nacionales CABIA y Primeras del MERCOSUR. Bs. As. Agosto 27, 28 y 29. Argentina. P-27.
 18. **Cutaia, L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruelli, PS., Bó, G.A.** (2003). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría: factores que lo afectan y resultados productivos. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande Córdoba, Argentina. 27,28 y 29 de Junio. P-120.
 19. **De Nava, G.** (2008). Tratamiento para la inducción de la ovulación en vacas con cría al pie asociado a inseminación artificial a tiempo fijo. Serie Técnica N° 174. INIA Treinta y Tres. P- 182

20. **De Rensis, F., Peters, A. R.** (1999). The control of follicular dynamics by PGF₂ α , GnRH, hCG and estrus synchronization in cattle. Review article. *Reproduction Domestic Animal* 34:49–59.
21. **Diskin, M.G., Austin, E.J., Roche, J.F.** (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 211-228.
22. **Dickerson, G. E.** (1978). Animal size and efficiency: basic concepts. *Animal Production* 27:367-379.
23. **Encuesta reproductiva INIA – DILAVE.** (2001). Enfermedades que afectan la reproducción: Primeros resultados. XXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. Uruguay. P-. 60.
24. **Encuenta Ganadera.** (2001). MGAP. www.mgap.gub.uy/diea/encuestas_Setiembre2006.
25. **Encuesta de Preñez. Estimación de la Producción Nacional de Terneros** (2002 y 2004). **D.I.E.A.-M.G.A.P.** http://www.mgap.gub.uy/diea/Encuestas/Te35/TE35_EncuestadePreñez.htm_Setiembre2006.
27. **Fernández, L.** (2001). Examen andrológico y sanitario de toros. Seminario JICA/DILAVE. 23-24 de marzo. Paysandú, Uruguay. P-15.
28. **Fike, K.E., Day, M.L., Inskip, E.K., Kinder, J.E., Lewis, P.E., Shroft, R.E., Hafs, H.D.** (1997). Estrus and luteal function in suckled beef cows that when anestrous treated with intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *Journal Animal Science* 75:2009-2015.
29. **Funston, R.N., Filley, S.** (2002) Effects of fat supplementation on reproduction in beef cattle. Proceedings, The Applied Reprod. Strategies in Beef Cattle Workshop, Manhattan, Kansas, USA. <http://oregonstate.edu/dept/animal-sciences/faculty/Funston&Filley.pdf>
30. **Geary, T.W., Whitter, J.C., Doping, E.R., Lefever, D.G., Silcox, R.W., Holland, M.D., Nett, T.M., and Niswender.** (1998). Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using syncro-mate B® or the Ovsynch protocol. *Journal Anim. Science* 79:1523-1527.
31. **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 Animal Science* 89:1-4

32. **Geymonat, D.G.** (1985a). Tecnología de manejo para el control del anestro postparto. In. Serie Técnica: Reproducción Animal. IICA-MGAP. Tema 1: Parto en la Hembra Bovina. P- 67.
33. **Geymonat, D.G.** (1985b). Mejoramiento de la eficiencia reproductiva del entore: medidas testiculares y de comportamiento sexual. IX Jornadas de Reproducción Animal. Venado Tuerto, República Argentina. P-1
34. **Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K.** (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. Minireview. *Biology of Reproduction* 55:1187-1194.
35. **Ginther, O.J.** (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science* 60: 61-79.
36. **Griffin, P.G, Ginther, O.J.** (1992). Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *Journal Animal Science* 70:953-972.
37. **Grimard, B., Humbolt, P., Ponter, A.A., Chastant, S., Constant, P., Mialot, J.P.** (2003). Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *INRA Prod. Anim.* 16 (3): 211-227
38. **Hess, B.W., Lake, S.L., Scholljegerdes, E.J., Weston, T.R., Nayigihugu, V., Molle, J.D.C., Moss, G.E.** (2005). Nutritional controls of beefs cow reproduction. *Journal Animal Science* 83 (E. Suppl.); E90-E-106.
39. **Hoffer, C.C.** 1994. La técnica del destete precoz y la intensificación de los sistemas de cría vacuna. XXII Jornadas Uruguayas de Buiatría –Paysandú, Uruguay. Pag. PA1-A11
40. **Hofer, C., Galli I., Monje A.** 1996. Destete Precoz en la Cría Vacuna–Manejo de terneros al destete, recomendaciones prácticas. Publicación INTA. Estación Experimental Agropecuaria Concepción del Uruguay. Noviembre 1996. Argentina. 100 pag.
41. **Hoffman, D.P., Stevenson, J.S., Minton, J.E.** (1996). Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *Journal Animal Science* 74: 190-198.
42. **Lamb G.C., Lynch, J. M, Grieger, D. M., Minton J., Stevenson J.S.** (1997). *Ad Libitum* suckling by an unrelated calf in the presence or absence of cow's own calf prolongs postpartum anovulation. *Journal Animal Science* 75: 2762 – 2769.

43. **Lane, E.A., Austin, E.J., Roche, J.F., Crowe, M.A.** (2001). The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. *Theriogenology*. Volume 55, Issue 9: 1807-1818.
44. **Lammoglia, M.A., Short, R.E., Bellows, S.E., Bellows, R.A., Mac Neil, M.D., Hafs, H.D.** (1998). Induced and synchronized estrus in cattle: dose of estradiol benzoate in peripuberal heifers and postpartum cows alter treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F₂ α . *Journal Animal Science* 76:1662:1670.
45. **Mackey, D.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F., Diskin, M.G.** (2000). The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotrofin profiles and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. *Journal Animal Science* 78:1917-1929.
46. **Macmillan, K.L., Peterson, A.J.** (1993). A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anoestrus. *Animal Reproduction Science* 33:1-25.
47. **Macmillan, K.L., Burke, C.R.** (1996). Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 42: 307-320.
48. **Mann, G.E., Lamming, G.E.** (1995). Progesterone inhibition of the development of the luteolytic signal in cows. *Journal Reproduction and Fertility* 104:1-5.
49. **Mapletoft, R.J., Colazo, M.G., Martínez, M.F., Kastelic, J.P.** 2003. Esteres de estrógeno para la sincronización de la emergencia de la onda follicular y la ovulación en animales tratados con dispositivos con progesterona. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. 27, 28 y 29 de junio de 2003. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. P- 55.
50. **Mapletoft, R.J., Kastelic, J.P.** 2001. Inseminación artificial a tiempo fijo en Ganado *Bos Taurus*. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal. 22 y 24 de junio de 2001. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. P- 83.
51. **Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Jansen, E., Olson, W. Mapletoft, R.J.** (1998). Alternative methods of synchronizing estrus and ovulation for fixed-time insemination in cattle. *Theriogenology* 49:350, abst.
52. **McDowell, C.M., Anderson, L.H., Kinder, J.E., Day, M.L.** (1998). Duration of treatment with progesterone and regression of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal Animal Science* 76:850-855.

53. **Meikle, A., Forberg, M.** (2001). Conceptos básicos sobre progesterona y reproducción. Radioinmunoanálisis (RIA) control de calidad del radioinmunoensayo (RIA). Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Clinical Chemistry. Report 17.P- 34.
54. **Menchaca, A.; Chifflet, N.** (2005). Caracterización de la actividad ovárica al inicio del servicio en rodeos de cría en Uruguay. En: XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatria. P 190.
55. **Murphy, M.G., Boland, M.P., Roche, J.K.** (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Journal Reproduction and Fertility* 90: 523-533.
56. **Murugavel, K.** (2003). Reproductive performance of dairy cows following different estrous synchronization protocols. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria. Barcelona, España.
57. **Nebel, R. L., Jobst, S. M.** (1998). Symposium: Gonadotropin releasing hormone and prostaglandin for estrus detection. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows. A review. *Journal Dairy Science* 81: 1169-1174.
58. **Odde K.G.** (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal Animal Science* 68: 817-830.
59. **OPYPA-MGAP.** (2008) Informe de coyuntura. Montevideo, julio 2008. www.mgap.gub.uy/opypa.
60. **Orcasberro, R.** (1991). Estado Corporal, control del amamantamiento y performance reproductiva de rodeos de cría. En: Pasturas y Producción Animal en áreas de ganadería extensiva. Serie Técnica N° 13. INIA. P- 158-169.
61. **Orcasberro R., Soca P., Beretta V., Trujillo A.I.** (1992). Estado corporal de vacas Hereford y comportamiento reproductivo. En: Evaluación física y económica de alternativas tecnológicas en predios ganaderos. Estación Experimental Mario A. Cassinoni. Facultad de Agronomía. Universidad de la República Paysandú, Uruguay. P-32.
62. **Osoro, K.** (1989). Manejo de las reservas corporales y utilización del pasto en los sistemas de producción de carne con vacas madres establecidos en zonas húmedas. *Investigación Agraria. Sanidad Animal* 4 (3): 207-240.
63. **Pereira, G.** 2000. Estimación de la producción nacional de terneros. Análisis del comportamiento reproductivo del rodeo nacional en base a diagnóstico de preñez, Año 2000. Boletín Informativo serie Trabajos Especiales N° 19. MGAP, DIEA- OPYPA.

64. **Pereira, G., Soca, P.** (2000). Aspectos relevantes de la Cría Vacuna en Uruguay. En Instituto Plan Agropecuario Foro: Organización de la Cría Vacuna. 12-15 de Octubre de 1999. San Gregorio de Polanco. Tacuarembó Uruguay. Ciencias Sociales www.rau.edu.uy/agro/ccss Publicaciones.
65. **Pierson, R.A., Kastelic, J.P., Ginther, O.J.** (1988). Basic principles and techniques for trasrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology* 29:3-37.
66. **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.
67. **Pursley, J.R., Wiltbank, M.C., Stevenson, J.S., Ottobre, J.S., Garverick, H.A., Anderson, L.L.** (1997). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *Journal Dairy Science* 80:295-300.
68. **Quintans, G., Viñoles, C., Sinclair, K.D.** (2004). Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRH treatment. *Animal Reproduction Science* 80:5-14.
- Quintas, G.** (2008). Alternativas de manejo nutricional, control del amamantamiento y tratamientos hormonales durante el posparto. En: Serie Técnica N° 174. INIA Treinta y Tres. P- 182
69. **Roche J.F.** (1974). Synchronization of oestrous in heifers with implants of progesterone. *Journal Reproduction Fertility* 41 :337-47.
70. **Roche J.F, Diskin M.G.** (2005). Efecto de la nutrición sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. Jornadas Uruguayas de Buiatría. XXXIII, Paysandú, Uruguay. P- 21-26.
71. **Rodríguez-Irazoqui, M., Gil, J., Blanc, J.E., Ferraris, A., Rubianes, E.** (2003). Sincronización de celo e inseminación a tiempo fijo utilizando tratamientos combinados de progestágenos, estradiol y PGF 2α o GnRH y PGF 2α (Ovsynch) en vacas de carne destetadas. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. P- 171.
72. **Rodríguez Irazoqui, M., Olivera, J., Martínez Cal, H., Rubianes, E., Soca, P.** (2005). Cambios ováricos en vacas primíparas durante el postparto temprano suplementadas con afrechillo de arroz y sometidas a destete temporario. Poster. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Ciudad Universitaria. Córdoba, del 24 al 26 de Junio de 2005.P-454

73. **Rhodes, F.M., McDougall, S., Burke, C.R., Verkerk, G.A., Macmillan, K.L.**(2003). Invited Review: Treatment of cows with an extend postpartum anestrus interval. *Journal Dairy Science* 86:1876-1894.
74. **Roy, G.L., Twiggiramungu, H.** (1996). A fixed-timed AI program using the GnRH-PGF-GnRH method for beef females. *Journal Animal Science*, 74 (Suppl. 1): 462.
75. **Rovira, J.** 1996. Manejo nutritivo de los rodeos de cría. Ed. Hemisferio Sur.
76. **SAS.** (2002). *Statistical Analysis Systems user's guide: Stst, Versión 8.12* Cary: SAS Institute. Marzo 27/07.
77. **Savio, J.D., Boland, M.P., Roche, J.F.** (1990). Development of dominant and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal Reproduction Fertility* 88: 581-591.
78. **Short, R.E., Bellows, R.A., Stanigmiller, R.B, Berdinelli, J.G., Custer, E.E.** (1990). Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal Animal Science* 68: 831 – 852.
79. **Short, R.E.; Adams, D.C.** (1988). Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Canadian Journal Animal Science* 68:29-39.
80. **Silva, L., Laca, M., Ungerfeld, R.** (2002). Reconocimiento materno de la preñez. En: *Reproducción en los animales domésticos. Tomo I.* Melibea Ediciones. Editor: Rodolfo Ungerfeld.
81. **Simeone, A.** 1995. Destete precoz: una alternativa tecnológica para incrementar la productividad del rodeo de cría. *Revista Cangüe. Estación Experimental "Mario A. Cassinoni"*, Fac. de Agronomía (UDELAR), Paysandú, N°5. P- 22.
82. **Smith M.W., Stevenson J.S.** (1995) Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with PGF_{2α} and progestins in the absence or presence of functional corpus luteum. *Journal Animal Science* 73:3743-3751
83. **Soca, P., Olivera, J., Rodríguez Irazoqui, M., Martínez Cal, H., Rubianes, E.** (2005). Porcentaje de preñez y cambio de estado corporal de vacas de cría suplementadas con afrechillo de arroz y sometidas a destete temporario. Resúmenes 6^{to} Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. IRAC. P-456.
84. **Soca, P., Do Carmo, M., Olivera, J., Villegas, N., Meikle, A., Rodríguez Irazoqui, M.** (2006). Efeito do desmamae e a suplementacao energética de curta duracao sobre a atividade ovariana e o recomeço do ciclo estral de vacas primíparas em anestro. 43^a

- Reuniao anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 24 al 27 de julho de . Joao Pessoa, PB. Brasil. P-278
85. **Stagg, K., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., Roche, J.F.** (1995). Follicular development in long-term ajoeurous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproductiuon Science* 38: 49-61.
86. **Stevenson J.S., Lamb, G.C., Hoffman, D.P., Minton, J.E.** (1997). Interrelations of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows. Review. *Livestock Production Science* 50: 57 – 74
87. **Stevenson, J.** (2000). Sincronización de celos y ovulaciones en ganado bovino de carne y leche (Primera y Segunda Parte). 5to. Congreso Argentino de Reproducción Animal, CABIA, Rosario, Argentina. En: Revista Taurus N° 9, Año 3. P-15.
88. **Thatcher, W.W., de la Sota, R.L., Schmitt, E.J.P., Díaz, T.C., Badinga, L., Simmen, C.R., Staples, C.R., Drost, M.** 1996. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reproduction Fertility Develoment*. 8: 203-17.
89. **Thatcher, W.W., Santos, J.E.P., Bilby, T.R., Bartolomé, J.A.** (2005). Pérdidas fetales y embrionarias en programas de IA en bovinos de leche: Estrategias para prevenir la pérdida de preñez. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, 24, 25 y 26 de Junio. Córdoba, Argentina. P-239.
90. **Thatcher, W.W., Patterson, D.J., Moreira, F., Pancarci, M., Jordan, E.R., Risco, C.A.** (2001). Current concepts for estrus synchonization and timed insemination. 34 th. *Procedings Annual Convention American Association of Bovine Practitioners*. Vancouver, British Columbia, Canada, September 13-15.P-95.
91. **Tawagiramungu, H, Guilbault, L.A., Proulx, J., Ramkumar, R., Dufour, J.J.** (1994). Histological polulations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of gonadotropin-realising hormone. *Journal Animal Science* 72:192-200.
92. **Tawagiramungu, H., Guilbault, L.A., Dufour, J.J.**(1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-realeasing hormone agonist to increse the precision of estrus in cattle: a review. *Journal Anim. Science* 73: 3141-3151.
93. **Trujillo, A.I., Orcasberro, R., Berreta, V., Franco, J., Bargueño, J.** (1996). Perfomance of Hereford cows Ander conditions of varied forage availability during late gestation. Development of feed supplementation strategies for improving ruminant productivity on small-hoklder farms in Latin America throught the use of immunoassay techniques. *Proceeding of the final Reserarch Co-ordination Meeting of*

Co-ordinated research Programme organized by the Joint FAO/IAEA Division Nuclear Techniques in Food and Agriculture. IAEA-TECDOC-877.

94. **Vazquez, A.I., Lacuesta, P., Quintans, G.** (2002). Mejora de los índices de procreos vacunos en sistemas ganaderos. I) Efecto del destete precoz y la condición corporal al parto de primera cría. In. Seminario de Actualización técnica: Cría y recría ovina y vacuna. INIA – Serie Actividades de difusión N° 288.
95. **Viker S.D., Larson R.L., Kiracofe G. H., Stewart R.E., Stevenson J.S.** (1993). Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactile stimulation by the calf. *Journal Animal Science* 71: 999–1003.
96. **Vizcarra, J., Ibañez, W., Orcasberro, R.** (1986). Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 7(1):45-47
97. **Vizcarra J.A., Wettemann R.P., Spitzer J.C., Morrison, D.G.** (1998) Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *Journal Animal Science* 76:927-936.
98. **Wetteman, R.P., Lents, C.A., Ciccioli, N.H., White, F.J., Rubio, I.** (2003). Nutritional and suckling mediates anovulation in beef cows. *Journal Animal Science* 81: E48-E59.
99. **Williams, G. L.** (1990). Suckling as regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal Animal Science* 68:831-852.
100. **Williams, G.L.; Stanko, R.L.** (2000). Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *Proceedings American Society of Animal Science*. [Http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0915.pdf](http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0915.pdf).
101. **Whismant, C.S., Washburn, S.P., Farin, P.W.** (1999). Current concepts in synchronization of estrus and ovulation of dairy cows. *Proceeding of the American Society of Animal Science*. <http://www.asas.org/symposia/9899proc/0032.pdf>
102. **Wiltbank, M.C., Gumen, A., Sartori, R.** (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.
103. **Wiltbank, M.C. and Haughian, J.M.** (2003). GnRH: de la fisiología a la sincronología. V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba-Argentina, 27, 28 y 29 de Junio. P- 71-84.
104. **Yavas, Y., Walton J.S.** (2000). Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology* 54:25– 55.

TABLAS Y FIGURAS

Diagrama 1: Esquema del protocolo desarrollado en el Experimento I	25
Tabla 1: Porcentaje de animales ciclando, celos, fertilidad al primer y segundo servicios y fertilidad final en vacas de carne sometidas a destete precoz e IATF con tratamiento CIDR+BE ó Control sin sincronización.....	26
Diagrama 2: Esquema de los protocolos desarrollados en el Experimento II.....	29
Tabla 2: Vacas en celo al momento de realizar la inseminación a tiempo fijo (IATF), tasas de fertilidad a la IATF y de fertilidad final luego del repaso con toros en animales sincronizados con CIDR+BE ó con el protocolo Ovsynch®.....	30
Diagrama 3: Esquema de los protocolos realizados en el Experimento III.....	34
Figura 1: Distribución de celos según horas pos retiro del CIDR y según tratamiento aplicado en vacas de carne en posparto.....	37
Figura 2: Diámetro del folículo mayor hasta su ovulación, según tratamiento aplicado normalizado al momento del retiro del CIDR (Día 0).....	38
Tabla 3: Momento en el que se produce la ovulación (hrs.) y tasa de ovulación según el protocolo empleado en la sincronización de celos post retiro del CIDR.....	39
Figura 3: Concentración de progesterona en plasma (media ±EE) luego de retirado el CIDR	40
Diagrama 4: Esquema de los protocolos realizados en el experimento IV.....	44
Tabla 4: Efecto de la fuente del benzoato de estradiol sobre el porcentaje de celos y tasa de ovulación post retiro del CIDR.....	46
Figura 5: Diámetro del folículo mayor r (mm) hasta su ovulación, de acuerdo al tratamiento aplicado y en relación al momento del retiro del CIDR (Día 0).....	47
Figura 6: Cantidad de animales que ovularon, momento de la ovulación en relación a las horas pos retiro del CIDR según tratamiento aplicado.....	48

AGRADECIMIENTOS

A *Edgardo (Flaco) Rubianes*, tutor de mi tesis, por sus críticas y el apoyo, amigo y compañero desde hace mucho tiempo, desde el querido FIU.

A *Oscar Feed*, compañero de cátedra y amigo, por su apoyo, por alentarme permanentemente para que siguiera y por estar cubriendo los huecos que dejaba.

A *Juan Franco*, colega y amigo, docente de Agronomía, por ayudar a Oscar y aportar al desarrollo del equipo docente de Veterinaria.

A *Jorge (Jujo) Gil*, amigohermano desde hace mucho tiempo, coautor de casi todos los trabajos, por estar presente en todos los momentos, sobretodo en aquellos más difíciles y a Sandra por apoyar a la familia. A *Marcelo Lust (El Tupa)*, por que cuando se lo precisa siempre está.

A *Julio Olivera*, “concubino” de oficina, por tu apoyo y tu ayuda en los momentos complicados, por recórdame permanentemente que debía terminar y por no “jugar al empate”.

A *Ana Meikle*, por el apoyo permanente, por empujar para que los proyectos salgan y sus aportes críticos al manuscrito.

A *Rodolfo Ungerfeld (Unge)*, por su amistad, el apoyo permanente, por permitirme usar su oficina en mis estadías por Montevideo y por su implacable “aguijón” a mi conciencia y por empujar para que la Facultad camine.

A *Milton*, funcionario del Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, por su generosidad y buena onda durante mis estadías por allí.

A *M. Heinzen*, ex directora de la EEMAC durante el desarrollo de los experimentos, por su apoyo y por haber permitido el uso de los animales para que se pudiesen realizar los trabajos.

A *E. Cairus* Jefe de Operaciones de la EEMAC, por permitir la operativa de los trabajos experimentales y a *Virginia Caravia* por apoyar la parte operativa.

A *Pablo Chilibroste*, gracias amigo por el apoyo de siempre.

A *Pablo Soca*, por estar presente y apoyando en todos estos tiempos.

A *Alfredo Ferraris*, por su apoyo permanente.

A *Eduardo Blanc*, *Gonzalo Oliveira*, *Liber Acosta*, *Esteban Krall*, *Ramiro Zanoniani*, compañeros y amigos del grupo docente de veterinaria, por el permanente aliento y apoyo que he sentido de todos ellos durante estos años, va a ser muy difícil devolverles todo!!.

A *Quique Nogueira*, representante de la CSIC en Facultad de Veterinaria, por todo el esfuerzo que ha hecho por impulsar y desarrollar la investigación en nuestra Facultad.

A *Daniel Cavestany*, por hacer posible el análisis de P4 del primer experimento.

A *Sergio Kmaid*, por apoyar los experimentos y por conseguir los productos para los trabajos experimentales y al laboratorio Universal Lab, por dejarse convencer por Sergio.

Al Laboratorio Rubino-Paysandú, por permitirme utilizar su laboratorio y equipos durante los trabajos experimentales.

A *Jorge Moraes*, Coordinador de las actividades docentes de veterinaria en la EEMAC, por su apoyo.

A *Victor Alvarez*, por aceptar el riesgo algunas proposiciones comerciales para que los trabajos se pudiesen hacer.

Al Personal de EEMAC, *Pancho*, *Chilo*, *Julio* y *Falini*, por la disposición para los trabajos.

A los Estudiantes de Plapipa 2001, que trabajaron en el experimento 3.

A *Sergio Filgueira* y *Martín Parietti* y al personal de “La Pequeña”, por permiternos desarrollar trabajos experimentales en su establecimiento.

A *Fabián Mota*, por su hospitalidad, por brindarme hospedaje y hacer más cortas las estadías en Montevideo, lejos de la familia. A *Fernanda (Tía) Charbonier*, por su hospitalidad y buena onda de siempre.

Al ex Decano *Alberto Cirio*, por su apoyo permanente al Programa de Postgrado de Facultad y a sus estudiantes

Al Comité Científico del PPFV, por mantenerlo en funcionamiento pese a las tempestades.

A mis compañeros de postgrado *Alejo, Anabela, Pife, Peto, Gonzalo Barreto, Helena, Tere, Guitarra, Carlos, Emilio* por ayudarnos y apoyarnos mutuamente, por el buen clima de trabajo y de discusión durante los cursos, por los buenos y malos ratos que pasamos, que de eso también se aprende.

A *Tato*, por las tertulias en el apartamento que al final no logre incendiar!!!.

A mi compañero de viajes, *Fernando (Flaco) Nan*, por su espíritu emprendedor de siempre y por su envidiable energía y ganas.

A los *Chicos Malos*, con quienes me unen objetivos comunes y fuertes lazos de amistad por el impulso que nos dan y el convencimiento que las cosas se pueden cambiar.

Al Centro Médico Veterinario de Paysandú por su apuesta permanente a la superación académica y profesional, de la cual me siento partícipe.

A mis compañeros de hoy en el MGAP, *Nono, Viti, Gallero, Fernando, Patricia, Alvaro, Daniel, Lalo* por el apoyo y el compartir el desafío de aportar al cambio.

A mis padres, *Daniel y Marina*, por darme el apoyo y el aliento necesarios para seguir y al abuelo *Raúl* que de alguna manera me marco el camino.

A *Mariana*, por su amor y estímulo de todos los días, a nuestros niños, *Sara* por su alegría y creatividad, *Manuel* por sus preguntas y por recordarme que tenía que volver y *Eugenia* por su cariño y por ser un desafío permanente, a los tres por la alegría que siempre tienen.

Finalmente, a la memoria de nuestros queridos amigos compañeros docentes que hoy no están con nosotros pero siempre presentes en nuestra memoria, *Horacio Lamarca* y *Gonzalo Córdoba*, y a la del querido Decano de los Estudiantes el Dr. Marco (Tano) Podestá.....

MUCHAS GRACIAS!!!