



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

FACULTAD DE VETERINARIA

**Programa de Posgrados de la Facultad de Veterinaria (PPFV)**

**Alternativas hormonales y de manejo del  
amamantamiento para incrementar la eficiencia  
reproductiva en vacas de cría.**

**Teresa de Castro**

**Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Veterinaria**

**Director de Tesis: Edgardo Rubines, MSc, PhD**

**TESIS DE MAESTRIA EN REPRODUCCION**

**2006**

*Si puedes amar lo que haces, crearás belleza.*

*John O'Donohue*

*A Santi, Feli y Nico.*

*A mis padres: Lucía y Chaly.*

## INDICE

	Pág.
I. RESUMEN -----	4
II. INTRODUCCION-----	7
Características del anestro postparto en la vaca de cría -----	7
Medidas para acortar el anestro postparto-----	9
III. CARACTERIZACION DEL PROBLEMA -----	11
IV. OBJETIVOS-----	12
V. MATERIALES Y METODOS -----	12
VI. RESULTADOS-----	16
VII. DISCUSION GENERAL -----	19
VIII. CONCLUSIONES GENERALES -----	23
IX. IMPLICANCIAS PRACTICAS-----	23
X. AGRADECIMIENTOS -----	25
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS-----	28
XII. ANEXOS (PUBLICACIONES I-III)-----	31

## **I. RESUMEN**

El presente trabajo de tesis tiene como objetivos la evaluación de estrategias de manejo del amamantamiento y tratamientos hormonales para incrementar los índices reproductivos en rodeos de cría bovina. Para ello se compararon los efectos de la aplicación de destete precoz (DP), destete temporario por 3 o 5 días y destete con tablillas nasales por 14 días, y las respuestas a tratamientos de progesterona y estradiol y su asociación al DP, en vacas Hereford y Aberdeen Angus, en anestro postparto con condiciones corporales menores a 4 (CC, escala 1-8).

El DP resultó ser una medida muy efectiva en reducir el intervalo de anestro postparto, observando que se reiniciaba la ciclicidad promedialmente antes de los 20 días, permitiendo que el primer mes de servicios el 100% de los animales estuviera ciclando e incrementando los porcentajes preñez finales en más de 50 puntos porcentuales comparado con las vacas con cría al pie. Éste fue efectivo aun en vacas con muy baja CC (2.6). Asimismo, se observó una marcada recuperación de la CC de las vacas luego de realizar el DP. Por su parte la aplicación de destetes temporarios por 3 o 5 días en vacas primíparas en muy baja (2.6) o moderada (3.8) CC no mostró ningún efecto sobre el reinicio de la ciclicidad. La inhibición del amamantamiento con tablillas nasales por 14 días en vacas primíparas con una CC superior a 3.5, estimuló el reinicio de la ciclicidad y permitió una recuperación de la CC durante el entore. Solamente 1/3 de vacas con cría al pie, respondieron a los tratamientos de progesterona y estradiol y cuando se asociaron estos tratamientos al DP, 2/3 de los animales mostraron concentraciones luteales de progesterona 1 semana más tarde. En vacas primíparas con muy baja CC (2.6) no se observó respuesta ovulatoria a estos tratamientos hormonales.

En conclusión, el DP mostró ser una medida muy efectiva para incrementar la eficiencia reproductiva en vacas con CC inferiores a 4 y la aplicación de tablillas nasales sería recomendable en vacas que llegan al entore con una CC no muy limitante. Los tratamientos de progesterona y estradiol no serían recomendables en vacas con  $CC \leq 3.5$ . Finalmente, es necesario optimizar la asociación de estos tratamientos al DP, para obtener resultados que justifiquen la incorporación de estas dos tecnologías a nivel comercial.

*Palabras clave: anestro postparto, destete precoz, destete temporario, tablillas nasales, tratamientos de progesterona y estradiol, vacas de cría.*

## **ABSTRACT**

Aims of the present thesis study were to evaluate the effectiveness of different suckling manipulation strategies and hormonal treatments to enhance reproductive efficiency in beef herds. Effects of early weaning (EW), temporary weaning for 3 or 5 days, suckling inhibition with nose plates for 14 days and progesterone estradiol treatments and their association to EW, were evaluated in low ( $<4$ ) body condition score (BCS, 1-8 scale) Hereford and Aberdeen Angus anestrous cows.

Present results show that EW markedly reduced postpartum anestrous interval, achieving

100% of the cows cycling within the first month of the breeding period and increased final pregnancy rates by more than 50%, compared to suckled cows. EW was also effective in very low (2.6) BCS cows. Moreover, EW exerted a positive effect on BCS recovery. Temporary calf removal for 3 or 5 days did not show any advantageous effects on resumption of ovarian cyclicity in cows in very low (2.6) or moderate (3.8) BCS cows. Suckling inhibition for 14 days with nose plates, in moderate BCS primiparous cows, was effective in stimulating postpartum cyclicity and allowed cows to increase their BCS during the breeding period. Only 1/3 of the suckled cows responded to progesterone estradiol treatment, while association of this treatment to EW resulted in 2/3 of anoestrous cows showing luteal progesterone concentrations within the first week. Progesterone estradiol treatments were ineffective in inducing ovulation in very low (2.6) BCS primiparous cows.

In conclusion, EW was a very effective means to enhance reproductive efficiency in low BCS cows, and suckling restriction with nose plates appears to be useful when BCS is not very limiting. Progesterone estradiol treatments should not be recommended in  $\leq 3.5$  BCS suckled cows. Finally, optimization of the association of these hormonal treatments to EW is necessary to obtain results that justify the incorporation of both technologies in cow-calf enterprises.

*Key-words: early weaning, temporary weaning, nose plates, postpartum anestrous, progesterone estradiol treatments, beef cows.*

La presente tesis está basada en la realización de 3 protocolos experimentales. Los resultados del Protocolo 1 son detallados en la sección resultados, y los protocolos 2 y 3 se presentan en las Publicaciones II y III. Se incluye además una Publicación I que describe la validación de la metodología utilizada para el manejo de muestras de suero para la determinación de progesterona. Las publicaciones referidas son:

**Publicación I:** de Castro T, Valdez L, Rodríguez M, Benquet N, Rubianes E, 2004. Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storing conditions. *Tropical Animal Health and Production* 36 (4): 381-384.

**Publicación II:** de Castro T, Ibarra D, Valdez L, Rodríguez M, Benquet N, García Lagos F, Rubianes E, 2006. Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anoestrous beef cows. Enviado.

**Publicación III:** de Castro T, Ibarra D, Rodríguez M, Valdez L, Benquet N, Rubianes E, 2006. Resumption of postpartum ovarian cyclicity after different suckling manipulation treatments in primiparous beef cows. Enviado.

## **II. INTRODUCCION**

La eficiencia reproductiva de los rodeos de cría bovina está determinada principalmente por el número de terneros producidos por vaca y por año. Los porcentajes de procreo vacuno en nuestro país son bajos, promediando en los últimos 30 años un 63%. Esta baja eficiencia está determinada en gran medida por la prolongada duración del anestro postparto, ya que estos sistemas realizan los servicios promedialmente a los 2 meses luego del parto, lo que lleva a que una gran proporción de vacas no estén ciclando en parte o todo el período de entore. Es sabido que para que una vaca produzca un ternero por año ésta debe concebir a los 80-85 días luego del parto, situación que está muy alejada de las condiciones frecuentes de estos sistemas. A continuación se detallarán las principales características del anestro postparto en la vaca de cría así como los factores determinantes de su duración y las posibles alternativas para inducir la ciclicidad e incrementar la eficiencia reproductiva de estos rodeos.

### **CARACTERISTICAS DEL ANESTRO POSTPARTO EN LA VACA DE CRIA.**

El anestro posparto es un período de transición en el cual el eje hipotálamo-hipofiso-ovarico-uterino se recupera de la preñez previa y es un evento fisiológico normal luego del parto. Su duración está determinada principalmente por dos factores que son el amamantamiento y el status nutricional, siendo la categoría más afectada la vaca de primera cría (Randel, 1990; Williams, 1990; Yavas & Walton, 2000 b).

Al final de la gestación el eje hipotálamo-hipofisario se encuentra bajo un fuerte feed back negativo producido por los esteroides placentarios y ováricos (estrógenos y progesterona), que lleva a una supresión de la liberación de FSH, depleción de las reservas de LH pituitarias y supresión de la actividad folicular (Nett et al. 1988; Crowe et al. 1998). Alrededor de los 4 días postparto ya se observan pulsos de FSH, que se mantendrán con fluctuaciones similares a las del ciclo (Schallenberger, 1985) y a las 2-3 semanas se reestablecen las reservas de LH pituitarias, momento en el cual la vaca puede reiniciar su desarrollo folicular. Tanto en vacas de leche (Savio et al. 1990) como de carne (Murphy et al. 1990), entre los 7 y 14 días postparto se inicia una emergencia secuencial de un grupo de folículos medianos del cual emerge un folículo dominante que puede ovular o atresarse. Se ha observado en vacas de carne amamantando, la secuencia de desarrollo y regresión de de entre 8 o 9 folículos dominantes previo a la primera ovulación postparto (Stagg et al. 1995). Estos estudios han permitido demostrar que la principal causa del anestro postparto en vacas amamantando, no se debe a una falta de desarrollo de folículos sino a una falla en la ovulación de los mismos.

### **Efecto Amamantamiento.**

Diversos estudios han sido realizados con el fin de elucidar cuales son los mecanismos por los cuales la interacción madre-hijo y el amamantamiento llevan al anestro. Las estrategias para estudiar dichos efectos incluyen: la denervación de la ubre, estimulación manual de los pezones, mastectomías, enmascaramiento, ordeño, amamantamiento restringido, retiro de los terneros, colocación de terneros ajenos, etc.; con lo que han llegado a concluir que es el vínculo materno-filial en la rutina de amamantar el responsable de inhibir la ovulación en vacas con la cría al pie (Short et al. 1990; Williams, 1990; Breuel et al. 1993; Silveira et al. 1993, Stevenson et al. 1994; Williams

& Griffith, 1995; Stagg et al. 1998). Se postula que, el amamantamiento/vínculo materno-filial estimula la liberación de péptidos opioides endógenos hipotalámicos (endorfinas, encefalinas y dinorfinas) que mediante la potenciación del feed back negativo del estradiol ovárico inhiben la liberación de GnRH y de LH y por consecuencia, la ovulación (Short et al. 1990; Williams, 1990; Breuel et al. 1993; Stagg et al. 1998). Luego, a medida que el postparto avanza la sensibilidad del generador de pulsos de GnRH a esta inhibición disminuye, por lo que van aumentando las descargas de GnRH y los pulsos de LH, llevando a la maduración final y ovulación de los folículos y al restablecimiento de la ciclicidad (Yavas & Walton, 2000b).

### **Status nutricional.**

La subnutrición es otro de los principales factores que determina la duración del anestro postparto, particularmente en animales que pastorean en campo natural (Randel, 1990, Short et al. 1990). La actividad reproductiva postparto es un reflejo del estado nutricional preparto, ya que está muy influenciada por la ingesta energética preparto, pero igualmente es muy importante la dinámica de ese estado durante el postparto (Stagg et al. 1995). Tanto el metabolismo basal, el movimiento, crecimiento y las reservas energéticas básicas tienen prioridad sobre los procesos reproductivos tales como el reinicio de la actividad cíclica y el establecimiento y mantención de la preñez. Se ha observado que la reducción de la ingesta energética y de proteína cruda pre y posparto, llevó a una reducción en el contenido de gonadotropinas a nivel hipofisario y a un retraso en el reinicio de la liberación pulsátil de LH en el postparto (Yavas & Walton, 2000b). Por su parte se observó que la condición corporal de las vacas al parto está altamente correlacionada con un desarrollo folicular temprano en el postparto, con el contenido de gonadotropinas a nivel hipofisario y con las concentraciones circulantes de IGF-I (factor de crecimiento insulinosimil tipo I), con la duración del anestro y los subsiguientes porcentajes de preñez (Yavas & Walton, 2000b).

En los últimos años se ha profundizado en elucidar cuales son las señales involucradas en mediar los efectos del estatus alimenticio sobre la función reproductiva. En ese sentido, se ha demostrado que algunos factores clásicamente implicados en la regulación de los procesos metabólicos como son la insulina, IGF y leptina, juegan un papel importante en el control del desarrollo folicular en rumiantes (Gong, 2002; Barb & Kraeling, 2004). Estas hormonas metabólicas podrían estar actuando directamente a nivel ovárico o en sinergia con las gonadotropinas para modular el desarrollo folicular y las principales hormonas involucradas serían: hormona de crecimiento (GH), insulina, factores de crecimiento insulinosímiles (IGF) y leptina (Gong, 2002; Barb & Kraeling, 2004).

A nivel práctico, el peso y la condición corporal (CC) son importantes indicadores del status energético y de la futura performance reproductiva de la vaca de cría (Randel, 1990). La escala de condición corporal es un método ajustado y repetible de medir reserva energética y es un importante indicador de la performance reproductiva postparto de las vacas de cría (Randel, 1990). En nuestro país se utiliza para ganado de carne la escala de 1 a 8 en donde 1 es emaciada y 8 es obesa (Méndez et al. 1988). Se recomienda generalmente una CC mínima al parto de 4 en vacas adultas y 4.5 en primíparas (Orcasberro, 1991) para asegurar aceptables porcentajes de preñez al siguiente entore. El manejo del rodeo cría según la escala de CC ha sido ampliamente



difundido en los últimos años, pero por distintos motivos la adopción de esta técnica no ha producido los efectos esperados (Pigurina, 2000), debido en parte a la gran dependencia del campo natural y por ende susceptibilidad a las fluctuaciones de disponibilidad de forraje a los que están expuestos los vientres.

### **Reinicio de actividad cíclica.**

Al igual que la primera ovulación en la pubertad, así como en la salida del anestro estacional en las especies de reproducción estacional, la primera ovulación postparto en la vaca generalmente no se acompaña de comportamiento estral (ovulación silenciosa) (Inskeep, 1995). Esto es debido a la falta de concentraciones previas de progesterona que sensibilicen los centros superiores, para que los altos niveles de estradiol induzcan el comportamiento estral. Asimismo, una función luteal subnormal ha sido frecuentemente observada luego de esta primera ovulación tanto en vacas como en ovejas (Breuel et al. 1993; Inskeep, 1995; Mackey et al. 2000). En estos casos si bien puede ocurrir la concepción, la gestación no se mantiene. La ocurrencia de estos ciclos cortos puede estar relacionada ya sea a la necesidad de exposición previa a la progesterona para preparar a los folículos para que se vuelvan cuerpos lúteos completamente funcionantes, y/o para regulación del momento de liberación de  $PGF2\alpha$  endógena (Stagg et al. 1995). Con el objeto de evitar dicho defecto luteal se han desarrollado tratamientos con progesterona/progestágenos que serán abordados más adelante.

## **MEDIDAS PARA ACORTAR EL ANESTRO POSTPARTO E INCREMENTAR LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA.**

Existen diferentes métodos de manejo del amamantamiento para reducir el intervalo de anestro postparto en los rodeos de cría como son: el destete precoz, destete temporario, y el amamantamiento restringido, solos o combinados con tratamientos hormonales (Williams, 1990; Orcasberro, 1991; Hofer, 1994; Fanning et al. 1995; Stagg et al. 1998; Simeone, 2000; Yavas & Walton, 2000a; Stahringer, 2001). Los mismos se basan en que el destete aumenta la respuesta de la pituitaria a la GnRH, por lo que ocurre un incremento en las concentraciones y frecuencia de pulsos de LH y consecuentemente de estradiol, un aumento de los receptores de LH foliculares y esto es generalmente seguido por la ovulación algunos días más tarde (Williams, 1990; Breuel et al., 1993; Yavas & Walton, 2000a).

### **Destete Precoz.**

El destete precoz (DP) implica la separación total y definitiva de los terneros de sus madres y por ende el amamantamiento. Por lo que por un lado se elimina el efecto inhibitorio del amamantamiento sobre el eje reproductivo y por otro se eliminan los requerimientos de nutrientes para la producción de leche. Generalmente se aplica alrededor de los 2-3 meses postparto cuando los terneros tienen un peso mayor de 65 kg. El DP reduce el intervalo parto-primero y mejora los porcentajes de preñez en vacas pastoreando campo natural y su efecto es más marcado en vacas en pobre CC (menor a 4) y en las primíparas (Williams, 1990; Orcasberro, 1991). Algunos autores asumen que es razonable esperar porcentajes de preñez de entre 85 y 90 % en vacas destetadas precozmente (Simeone, 2000).

Si bien diversos trabajos internacionales y nacionales han demostrado fehacientemente el impacto positivo de la técnica sobre la performance de los rodeos de cría, la adopción del DP por el sector productivo puede ser catalogada de baja a muy baja. Esto se debe a que existen aspectos no claramente resueltos acerca de esta técnica, que han impedido un uso más masivo de la misma por parte de los productores. Por un lado, están las dudas acerca del adecuado desarrollo posterior de los terneros destetados precozmente, y las dificultades que en las principales áreas criadoras del país existen para disponer de forrajes de calidad en el verano para alimentar los terneros. Por el otro está el incremento de los costos que esta técnica representa, que deben ser compensados por un incremento en los ingresos.

### **Destete Temporario.**

El destete temporario (DT) implica la eliminación del estímulo del amamantamiento mediante separación del ternero sin que posea ningún tipo de contacto (visual, auditivo) por un período que varía de 2 a 5 días. Los resultados de la aplicación de DT por 2 a 5 días son muy variables y contradictorios y dependen en gran medida de la CC de las vacas, el intervalo postparto así como de la categoría estudiada (Smith et al. 1979; Tervit et al. 1982; Makarechian & Arthur 1990; Williams, 1990; Orcasberro, 1991).

### **Destete a Tablilla**

El destete a tablilla implica la eliminación del estímulo del amamantamiento por un período que varía de 7 a 21 días. El mismo se realiza mediante la aplicación de una tablilla nasal que impide que el ternero mame, permaneciendo éste al pie de la madre. El efecto de la aplicación de tablillas nasales podría estar dado en parte por disminución de los intentos de amamantamiento cuando éste se prolonga por más de 10 días, lo cual simularía una situación semejante a la del destete real (Stahringer, 2001), así como a través de una reducción en los requerimientos energéticos para la producción de leche de las vacas (Simeone, 2000). Un relevamiento realizado en Uruguay y Sur de Brasil muestra que vacas sometidas a destetes de larga duración con tablilla nasal presentaron incrementos en los porcentajes de preñez entre 16 y 40% comparándolas con vacas que permanecieron con cría al pie (Simeone, 2000). Por su parte Stahringer (2001), en Argentina observó que cuando la CC era menor que 3 (escala 1-8), no se incrementaron los porcentajes de preñez al aplicar tablillas por 14 o 21 días, mientras que con CC superiores a 3, el “enlatado” incrementó los porcentajes de preñez. En nuestro país si bien esta técnica es utilizada comúnmente por los productores, es escasa la información sistematizada sobre el impacto de la misma así como los efectos que tiene sobre el crecimiento de los terneros. Asimismo a nivel internacional es muy escasa la bibliografía referente a esta técnica (Mukasa-Mugerwa et al. 1996).

### **Tratamientos hormonales y su asociación a técnicas de manejo del amamantamiento.**

El estro y la ovulación pueden ser inducidos mediante tratamientos hormonales tanto en vacas como en ovejas en anestro (Mc Millan et al. 1995; Rhodes et al. 2002). Los tratamientos con progesterona en vacas en anestro provoca la manifestación estral en la siguiente ovulación y un ciclo de duración normal (Mackey et al. 2000). La

administración de una dosis de benzoato de estradiol en el momento de insertar un dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) induce la emergencia de una nueva onda folicular a los 4 a 5 días y la administración de otra dosis de estradiol al retirar los implantes 7 a 8 días después, gatillaría el pico preovulatorio de LH e induciría la ovulación (Bó et al., 1995). Aunque estos tratamientos se han utilizado ampliamente para inducir y sincronizar el estro y la ovulación en vacas amamantando, los resultados han sido variables (Grimard et al. 1997; Mackey et al. 2000; Yavas & Walton, 2000a; Baruselli et al., 2004; 2005), identificándose como las principales fuentes de variación a la categoría, la CC y los días postparto en los que son realizados (Humblot et al. 1996). En los últimos años estos tratamientos están siendo recomendados para la aplicación de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas amamantando con resultados promisorios (Baruselli et al. 2004; Bó et al. 2005), sin embargo en nuestro país es escasa la información acerca de los resultados en condiciones de campo y en animales con CC subóptima.

Los tratamientos en base a progesterona y estradiol o GnRH, también han sido asociados a medidas de manejo del amamantamiento, principalmente a destete temporario por 48 a 72 horas (Fanning et al. 1995; Rivera et al. 1998). La combinación de DT con implantes de progestágenos aumentó el número de vacas detectadas en estro y preñadas entre 4 a 21 días luego del retiro del implante (Williams, 1990). Asimismo, se incrementó la tasa ovulatoria (66 vs 89%) asociando un destete temporario de 48 h con un tratamiento de 8 días de progesterona más la administración de GnRH (Rivera et al. 1998). Igualmente, Mackey et al. (2000), demostró que el tratamiento con progesterona asociado a aislamiento del ternero o con amamantamiento restringido acortó el intervalo de anestro postparto. Por su parte, es escasa la información acerca de la asociación de estos tratamientos a un destete precoz definitivo.

### **III. CARACTERIZACION DEL PROBLEMA.**

En Uruguay existen unas 47.000 explotaciones ganaderas con 9.38 millones de cabezas de vacunos y 12.9 millones de ovinos que ocupan una superficie de 15.7 millones de há. De éstas, 15.500 explotaciones son de cría vacuna, presentan 9.2 millones de vacunos (3.3 millones de vacas), 11.7 millones de ovinos y ocupan 13.7 millones de há (Pereira, 2003). Estos sistemas se han caracterizado por una baja eficiencia reproductiva con porcentajes de procreo que promedian en los últimos 30 años un 63%. Existen algunas particularidades de estos sistemas que explican la histórica baja eficiencia reproductiva que han obtenido y se detallarán brevemente.

La característica general del los sistemas de cría de nuestro país, es que se realiza sobre campo natural, por lo que presentan gran susceptibilidad a las fluctuaciones de calidad y cantidad de forraje a lo largo del año. Estos establecimientos presentan promedialmente sólo un 4.6% del área con praderas convencionales (Pereira, 2003). Se caracteriza por ser un sector con baja incorporación de tecnología, indicándose que promedialmente un 24% de las explotaciones utilizan la escala de condición corporal para clasificar sus vientres, la mitad de estos lo utilizan para tomar decisiones de manejo nutricional y solamente entre un 12-16% para tomar decisiones de medidas de control de amamantamiento. La mayoría de las explotaciones realizan el entore entre los meses de noviembre-diciembre hasta febrero y por su parte promedialmente se realiza el destete

entre los meses de abril y mayo, o sea entre los 5 y 8 meses posparto. Solamente un 26% de estas explotaciones aplican algún tipo de medida de control del amamantamiento de las cuales 16% dicen aplicar destete temporario y 6% destete precoz (Pereira, 2003).

El incremento de la eficiencia reproductiva se constituye, en una herramienta de suma importancia para mejorar la rentabilidad de estos sistemas, por lo que es necesario explorar alternativas tecnológicas que permitan aumentar la productividad del rodeo manteniendo el campo natural como base de la alimentación. En ese sentido, las técnicas de control del amamantamiento aparecen como estrategias posibles para acortar el período de anestro postparto y mejorar la eficiencia del proceso de cría sin la necesidad de grandes modificaciones en la base forrajera. Por su parte los tratamientos en base a estradiol y progesterona, que son utilizados ampliamente a nivel internacional para inducir ovulación y realizar inseminación sistematizada, podrían ser alternativas a manejar en situaciones determinadas.

#### **IV. OBJETIVOS**

1. Generar información nacional sobre las diferentes herramientas tecnológicas para incrementar la eficiencia reproductiva de los rodeos de cría.
2. Contribuir al desarrollo y puesta a punto de métodos de manejo del amamantamiento y tratamientos hormonales para reducir el intervalo de anestro postparto en vacas de cría.
3. Comparar los efectos de diferentes estrategias de manejo del amamantamiento (destete precoz, temporario y aplicación de tablillas nasales) sobre la performance reproductiva de vacas de cría.
4. Evaluar la respuesta reproductiva al destete precoz y a los tratamientos de estradiol y progesterona y su asociación en vacas primíparas y multíparas en anestro postparto.

#### **V. MATERIALES Y METODOS**

##### **METODOLOGIA GENERAL.**

**Animales e instalaciones:** se utilizaron vacas de raza Aberdeen Angus y Hereford primíparas y multíparas que fueron mantenidas a pastoreo en campo natural o campo natural mejorado. Se utilizaron instalaciones adecuadas para el manejo de los animales de experimentación (corrales, tubo, cepo, balanza). Se poseía a fecha de parto de todos los animales.

**Evaluación de la condición corporal:** fue evaluada cada 15 días durante todos los ensayos, utilizando la escala de 1-8 en donde 1 es emaciada y 8 obesa, según descripción de Méndez et al. (1988).

**Manipulación del amamantamiento:** Destete precoz: se separaron definitivamente los terneros de las vacas a los 60-70 días postparto de manera que no posean contacto de ningún tipo (Protocolo 1, Publicaciones II y III). Destete temporario: se separaron los terneros de manera de que no posean ningún contacto por un período de 72 horas (Protocolo 1) o 120 horas (Publicación III). Destete a tablilla: se colocaron tablillas nasales a los terneros por un período de 14 días como manera de impedir el amamantamiento (Publicación III).

**Tratamientos hormonales:** Para obtener niveles elevados de progesterona se insertaron dispositivos intravaginales CIDR-B (Controlled internal drug release, InterAg, New Zealand) conteniendo 1.38 g de progesterona que fueron retirados 7 días después. Como manera de provocar el recambio folicular (Bó et al. 1995) se administraron 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Dispert, Uruguay) intramuscular al momento de colocar los dispositivos de progesterona. Con la finalidad de inducir la descarga preovulatoria de GnRH y en consecuencia de LH, 24 horas luego de retirarse los dispositivos se administró 1 mg de BE im. (Protocolo 1 y publicación II)

**Detección de celo y servicio:** el celo fue detectado cada 12 horas por observación de las hembras, tomando como positivo aquella vaca que se deja montar por otra hembra (Protocolo 1). El servicio se realizó a las 12 horas de detectado el celo ya sea por inseminación artificial con semen congelado o por monta dirigida a corral o monta natural.

**Ecografía ovárica y confirmación de anestro;** para la visualización de las estructuras ováricas se utilizó un equipo Aloka 500 (Aloka 500, Japón) con transductor lineal de 7.5 MHz. Para ello, las vacas fueron inmovilizadas en un cepo y se realizó la ecografía mediante la introducción manual del transductor por el recto. Se realizaron 2 ultrasonografías ováricas transrectales separadas por 15 día previo al inicio de cada ensayo. El anestro fue confirmado mediante la ausencia de cuerpos lúteos a la ultrasonografía y la palpación del tono uterino.

**Diagnóstico de gestación** se realizó mediante ecografía a los 30-40 días de finalizado el servicio.

**Determinaciones hormonales:** se tomaron muestras de sangre de la vena caudal, las cuales fueron mantenidas en conservadora\* con hielo por 4-6 horas y luego fueron centrifugadas y los sueros separados y frizados a  $-20^{\circ}$  hasta su posterior medición. Las muestras fueron tomadas semanalmente durante 4 (Protocolo 1), 7 (Publicación II) y 9 semanas (Publicación III). Las concentraciones de progesterona sérica fueron dosificadas mediante la técnica de radioinmunoanálisis (Sirois et al. 1990). Se utilizaron kits de radioinmunoanálisis de  $I^{125}$  en fase sólida (DPC, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) con una sensibilidad de 0.1 ng/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 6.4 y 8.0 % respectivamente. Se asumieron como niveles de actividad luteal las concentraciones de progesterona  $\geq 1$ ng/ml por lo menos en 2 muestras semanales consecutivas (Silveira et al. 1993).

\*Debido a que las muestras eran tomadas en el campo donde no había facilidades para su centrifugación, para corroborar la eficiencia de la manipulación que se realizaba sobre

las concentraciones medibles de progesterona, se realizó un ensayo complementario de validación en donde se comparó la conservación a temperatura ambiente o en caja refrigerada por 1, 4, 8 o 24 horas. Observándose que la conservación de las muestras a de 10° C en una caja con refrigerantes, redujo marcadamente la disminución de la progesterona medible en suero comparada con las mantenidas a temperatura ambiente, y que con la metodología utilizada se estaría midiendo alrededor del 90% de la progesterona inicial. Concluyéndose que cuando la inmediata centrifugación no es posible la mantención de las muestras en una caja con refrigerante permite medir alrededor del 85% de la progesterona inicial a las 8 horas de colectadas. Los datos de dicho ensayo se presentan en la Publicación I.

**Análisis estadísticos:** Los resultados fueron analizados por medio de test estadísticos adecuados, utilizándose análisis de varianza, tests de comparación de medias o de frecuencias, o sus análogos no paramétricos (Snedecor y Cochran, 1980). Para el evaluar los efectos del tratamientos, tiempo y tratamientos\*tiempo sobre la evolución de la condición corporal (Protocolo 1, Publicaciones II y III) y de las concentraciones de progesterona (Publicación I) se utilizó el procedimiento Mixed Procedure del SAS (SAS 1999-2000) para mediciones repetidas. Los resultados son presentados como Media±ES.

## **ESTRATEGIAS DE INVESTIGACION.**

### **Protocolo 1: Efectos de destetes precoz y temporario por 72 h y de tratamientos con progesterona y BE sobre la respuesta reproductiva de vacas primíparas en anestro postparto.**

Se utilizaron 72 vacas primíparas que presentaban una condición corporal de  $2.6 \pm 0.1$  (Media±ES) y un peso de  $305.9 \pm 3.3$  Kg. Todas las vacas estaban en anestro al inicio del ensayo (comprobado por ecografía ovárica). Los animales fueron divididos en 4 grupos homogéneos según su condición corporal, fecha de parto y raza. Los destetes y el retiro de implantes fue realizado a los  $67.0 \pm 2.0$  días postparto (Día 0). Los grupos fueron los siguientes:

1. Grupo Amamantamiento (n=18) permaneció con el ternero al pie todo el ensayo.
2. Grupo Destete Precoz (n=18) fue destetado a los 67 días postparto (Día 0).
3. Grupo Destete Temporario (n=19) se le realizó un destete por 72 hs a los 67 días postparto (Día 0).
4. Grupo CIDR (n=17) se les insertó un CIDR-B y se le administraron 2 mg de BE im. al momento de colocar los dispositivos. Los dispositivos se retiraron a los 7 días (Día 0) y 24 horas más tarde se administró 1 mg de BE im.

Luego de los tratamientos se inició un período de servicios de 2 meses de duración, en donde se realizó inseminación artificial los primeros 30 días y monta dirigida los siguientes 30 días. El presente protocolo se desarrolló en condiciones de una sequía muy severa, asociada a una muy baja oferta de forraje en cantidad y calidad, que se ve reflejada en la baja CC que presentaban los animales.

### **Protocolo 2: Efectos de los destetes precoz y de tratamientos con progesterona y**

**BE, sobre la respuesta reproductiva de vacas primíparas y multíparas en anestro postparto. (Publicación II).**

Se utilizaron 110 vacas Aberdeen Angus y Hereford (39 primíparas y 71 multíparas) que presentaban una condición corporal de  $3.5 \pm 0.04$  (Media  $\pm$  ES). Los animales fueron divididos en 4 grupos homogéneos según su categoría, CC, fecha de parto y raza. El destete y/o el retiro de implantes fue realizado a los  $76.9 \pm 2.0$  días postparto (Día 0). Los grupos fueron los siguientes:

1. Grupo Amamantamiento (n=28), permaneció con el ternero al pie todo el ensayo.
2. Grupo CIDR (n=28), se les insertó un CIDR-B y se le administraron 2 mg de BE im. al momento de colocar los dispositivos. Los dispositivos se retiraron a los 7 días (Día 0) y 24 horas más tarde se administró 1 mg de BE im.
3. Grupo Destete Precoz (n=27), se realizó destete definitivo a los 77 días postparto (Día 0).
4. Grupo Destete Precoz + CIDR, (n=27) se realizó el destete precoz a los 77 días postparto, pero 7 días antes se realizó un tratamiento con CIDR y BE igual que el grupo CIDR. Los dispositivos se retiraron al momento del destete.

**Protocolo 3: Efectos de destete precoz, destete temporario por 5 días y destete con tablillas nasales sobre el reinicio de la ciclicidad en vacas primíparas en anestro postparto. (Publicación III).**

Se utilizaron 74 vacas Aberdeen Angus y Hereford primíparas que presentaban una condición corporal promedio de  $3.8 \pm 0.1$  y un peso promedio de  $375.5 \pm 3.3$  Kg. Los animales fueron divididos en 4 grupos homogéneos según su condición corporal, fecha de parto y raza. Los tratamientos fueron realizados a los  $71.4 \pm 1.6$  días postparto (Día 0). Los grupos fueron los siguientes:

1. Grupo Amamantamiento (n=14), permaneció con ternero al pie durante todo el ensayo.
2. Grupo Destete Precoz (n=20), fue destetado a los 71 días postparto (Día 0)
3. Grupo Destete Temporario 5d (n=20), se le realizó un destete por 5 días a corral a los 71 días postparto (Día 0).
4. Grupo Destete a Tablilla (n=20), a los 71 días postparto (Día 0) se colocaron tablillas nasales a los terneros por 14 días.

## **VI. RESULTADOS**

### **Protocolo 1. Efectos de destetes precoz y temporario por 72 h y de tratamientos con progesterona y BE sobre la respuesta reproductiva de vacas primíparas en anestro postparto.**

Los porcentajes finales de celos y de preñez luego de los 2 meses de servicio se observan en la Tabla I. Si bien un alto porcentaje (70.6%) de las vacas del grupo CIDR presentaron celo inmediatamente como respuesta al tratamiento, solamente 1 de las vacas presentaba concentraciones de progesterona superiores a 1ng/ml a los 6 días de ese celo. El primer mes luego de los tratamientos una mayor proporción (30%) de las vacas del grupo destete precoz había reiniciado su ciclicidad (concentraciones de progesterona  $\geq 1$ ng/ml) comparado con los demás grupos ( $P < 0.01$ ). Como se observa en la Tabla I, el destete temporario por 72 h no ejerció ningún efecto sobre los parámetros reproductivos estudiados, comportándose similarmente a los animales que permanecieron con la cría al pie permanentemente.

Tabla I. Respuesta reproductiva luego de destetes precoz o temporario o de tratamiento con progesterona y BE en vacas primíparas en anestro postparto luego de 60 días de servicio.

	% final de celos	% de vacas ciclando 30 días	% preñez final
Amamantamiento	17.6 a	0 a	11.8 a
CIDR	70.6 b	5.9	17.6 a
Destete Temporario 72 hs	6.0 a	0 a	6.0 a
Destete Precoz	88.0 b	27.8 b	70.6 b

Para una misma columna a vs b difieren:  $P < 0.01$

Tanto con el tratamiento con progesterona y estradiol como con el destete temporario por 72 horas se obtuvo similares porcentajes de preñez que las vacas que permanecieron con la cría al pie (Tabla I). Es importante destacar que menos de un 20% de los animales de los grupos Amamantamiento y Destete Temporario 72h habían presentado celo al final del período de servicios (aproximadamente 4 meses postparto).

Los animales presentaban al inicio del ensayo una baja CC ( $2.6 \pm 0.1$ , Media $\pm$ ES) consecuencia de una severa sequía y muy baja disponibilidad de forraje. Como se observa en la Gráfico 1, el destete precoz permitió que al final del entore la vacas incrementaran su CC comparada con los demás grupos ( $P < 0.05$ ).



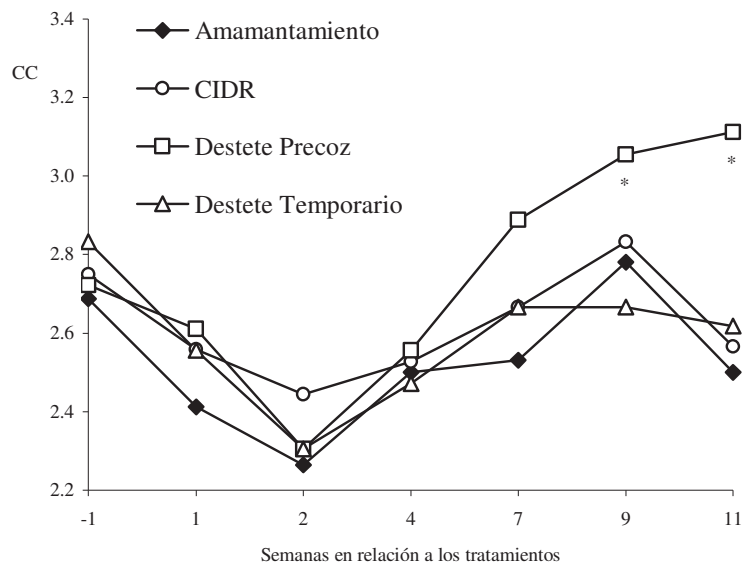


Gráfico 1. Evolución de la Condición Corporal (CC) en vacas primíparas luego de Destetes precoz o temporario por 72 h o tratamiento con CIDR. \* Grupo DP vs A, A+C y DT;  $P < 0.05$

**Protocolo 2. Efectos de los destetes precoz y de tratamientos con progesterona y BE, sobre la respuesta reproductiva de vacas primíparas y múltiparas en anestro postparto. (Publicación II).**

Todas las vacas estaban en anestro al inicio del experimento. La primer semana luego de los tratamientos, el grupo DP+CIDR presentó la mayor proporción (64%) de vacas con concentraciones luteales de progesterona comparado con un 32.2%, 23.1% y 0% de los grupos CIDR, DP y Amamantamiento respectivamente ( $P < 0.05$ ). El 100% de los animales de los grupos destetados precozmente (DP+CIDR y DP) había reiniciado su ciclicidad a las 5 semanas luego de los tratamientos, mientras que al final del período de servicios (7 semanas postratamientos) sólo un 57 y 43% de los animales de los grupos CIDR y Amamantamiento lo había hecho. El intervalo entre el tratamiento y reinicio de ciclicidad fue diferente entre grupos ( $12.9 \pm 1.8$ ,  $18.6 \pm 1.9$ ,  $31.3 \pm 3.6$  y  $41.5 \pm 2.2$  días para los grupos DP+CIDR, DP, CIDR y Amamantamiento respectivamente,  $P < 0.04$ ). Los dos grupos de vacas destetadas precozmente presentaron los mayores porcentajes de preñez finales (88.9 y 88.9%) comparada con las vacas de los grupos CIDR y Amamantamiento (35.7 y 28.6% respectivamente,  $P < 0.04$ ).

Las vacas presentaban una CC promedio de  $3.5 \pm 0.04$  al inicio del ensayo. Se observó un efecto de grupo ( $P < 0.0001$ ), tiempo ( $P < 0.0001$ ), y grupo\*tiempo ( $P < 0.0001$ ) sobre la evolución de la CC. Si bien todos los animales incrementaron su CC durante el ensayo, los 2 grupos de vacas destetadas precozmente mostraron mayores incrementos en su CC, observándose que a las 5 y 11 semanas luego del destete presentaban 0.5 y 1.2 puntos

más de CC que las vacas que permanecieron con cría al pie ( $5.7 \pm 0.1$  vs  $4.5 \pm 0.1$  respectivamente,  $P < 0.05$ ).

**Protocolo 3: Efectos de destete precoz, destete temporario por 5 días y destete con tablillas nasales sobre el reinicio de la ciclicidad en vacas primíparas en anestro postparto. (Publicación III).**

Todos los animales estaban en anestro el inicio del experimento. Las vacas de los grupos destete precoz y destete a tablilla presentaron menor intervalo entre los tratamientos y el reinicio de la ciclicidad ovárica ( $19.6 \pm 1.7$  y  $24.5 \pm 3.3$  días respectivamente) comparado con los animales de los grupos destete temporario 5d y amamantamiento ( $40.6 \pm 3.5$  y  $37.5 \pm 4.0$  d respectivamente,  $P < 0.01$ ). Una mayor proporción de vacas del grupo destete precoz presentó concentraciones luteales de progesterona la primer semana luego de los tratamientos (20% vs 5%, 0% y 0% para los grupos destete precoz, destete a tablilla, destete temporario 5d y amamantamiento respectivamente,  $P < 0.05$ ). El reinicio de la ciclicidad de las vacas a las que se les realizó destete con tablillas por 14 días, fue similar al de las vacas a las que se les realizó destete precoz, obteniéndose un máximo de animales ciclando a las 4 semanas luego de los tratamientos. Por su parte el destete temporario por 5 días no mostró ningún efecto sobre el reinicio de la ciclicidad, comportándose estos animales de manera similar a los que amamantaron permanentemente.

Las vacas presentaban una CC promedio de  $3.8 \pm 0.1$  al inicio del ensayo. Se observó un efecto de grupo ( $P < 0.0001$ ), tiempo ( $P < 0.0001$ ), y grupo\*tiempo ( $P < 0.0001$ ) sobre la evolución de la CC. Las vacas a las que se realizó destete precoz incrementaron inmediatamente su CC, observándose que 5 y 9 semanas más tarde presentaban 0.7 y 0.9 puntos más de CC que las vacas amamantando ( $P < 0.05$ ). Las vacas a las que se realizó destete con tablillas también incrementaron su CC y mostraron al final del ensayo (9 semanas postratamientos) 0.6 puntos más de CC que las vacas amamantando. Por su parte la CC de las vacas de los grupos amamantamiento y destete temporario 5 d permaneció constante durante todo el ensayo.

## **VII. DISCUSION GENERAL**

### **Destete Precoz.**

Los resultados de los 3 ensayos realizados demuestran que el destete precoz a los 60-70 días postparto, es una medida muy efectiva para interrumpir el anestro postparto en la vaca de cría, lo que concuerda con estudios previos (Laster et al. 1973; Lusby et al. 1981; Williams, 1990; Orcasberro, 1991; Hoffman et al. 1996; Yavas & Walton 2000a). Observamos que luego de realizar el destete precoz en vacas con CC moderada a baja (publicaciones II y III) se reiniciaba la ciclicidad promedialmente antes de los 20 días, por lo que el primer mes de servicios el 100% de los animales ya estaba ciclando. Coincidentemente con otros autores, el intervalo de anestro se redujo en 20 días comparado con vacas amamantando (Lusby et al. 1981; Williams, 1990; Mc Sweeney et al. 1993; Hoffman et al., 1996; Bell et al. 1998; Stagg et al. 1998; Arthington & Kalmbacher, 2003;). Los porcentajes finales de preñez se incrementaron en unos 60 puntos porcentuales (Protocolo 1 y Publicación II), si bien esto fue superior a los incrementos de entre 20 a 40%, comparado con vacas amamantando, que se sugieren como respuesta esperada (Williams, 1990; Simeone, 2000), las vacas utilizadas en estos 2 ensayos eran en su mayoría primíparas y presentaban una baja a muy baja CC, situaciones en la que se espera que el destete precoz tenga su efecto más marcado (Orcasberro, 1991; Simeone, 2000). Cabe destacar que en condiciones muy severas como las descritas en el Protocolo 1, con vacas que llegaron al entore en con una CC de 2.6, la aplicación del destete precoz permitió obtener 70% de preñez final. Es importante destacar que además de incrementarse los porcentajes de preñez, el destete precoz permite que la concepción ocurra más temprano en el período de servicios.

Por su parte, los animales que permanecieron con cría al pie, no solo presentaron intervalos de anestro más prologados sino que al final del período de servicios (aproximadamente a los 4 meses postparto) se observó que habían reiniciado su ciclicidad menos de un 20% cuando la CC era muy baja (2.6, Protocolo 1), un 43% cuando la CC era baja (3.5) aun cuando se incrementó durante el entore (Publicación II) y un 86 % en animales con CC moderada (3.8, Publicación III), esto se tradujo en porcentajes de preñez finales de 12 y 29% (Protocolo 1 y Publicación II). Esto indica claramente el marcado efecto que tiene la subnutrición sobre la ciclicidad de la vaca (Randel, 1990) y demuestra que el anestro postparto es uno de los principales responsables de los bajos índices de procreo observados en situaciones de campo natural (Short et al. 1990).

El destete precoz ejerció un efecto positivo e inmediato sobre la recuperación de la condición corporal de las vacas, incluso en veranos con condiciones climáticas severas. Se observó que un mes luego del destete, las vacas habían recuperado más de medio punto de CC y al final del entore presentaban 1 punto más de CC que las vacas amamantando. Esto concuerda con observaciones anteriores (Lusby et al. 1981) y confirma la clara reducción de los requerimientos nutricionales -que se sugiere podría ubicarse entre un 25-50%- que presenta la vaca luego del destete (Hoffman et al. 1996; Simeone, 2000; Tathama et al. 2004). Esto presenta claros beneficios, ya que estos animales llegarán al siguiente invierno con mayores reservas energéticas y probablemente lleguen al próximo parto en mejor CC por lo que tendrá un efecto

positivo sobre la performance reproductiva en el entore subsiguiente.

Si bien los efectos benéficos del destete precoz sobre la eficiencia reproductiva de las vacas son claros y han sido ampliamente difundidos, esta técnica presenta una baja incorporación a nivel productivo (Pereira, 2001), debido principalmente a que se asocia con incrementos de la mano de obra y a un compromiso del crecimiento de los terneros destetados precozmente (Hofer, 1994; Yavas & Walton, 2000a). En trabajos paralelos a esta tesis, hemos comprobado que si bien se observa inicialmente un retardo en el crecimiento del ternero destetado precozmente, que se traduce en diferencias al momento del destete tradicional de entre 10 a 30 kg menos de peso vivo; cuando se suministra una adecuada alimentación, generalmente estas diferencias se compensan antes de año de vida (de Castro et al. 2002) y estos terneros y novillos se comportan similarmente a lo destetados tradicionalmente, lo que es coincidente con otros autores (Morgan et al. 1976; Buttler-Hogg et al. 1981; Monje et al. 1994). Más aun, hemos demostrado que el destete precoz no mostró tener efectos a largo plazo sobre la pubertad de las vaquillonas ni de los toros (Rubianes et al., 2001; de Castro et al. 2004). Lo anteriormente expuesto nos permite afirmar que el destete precoz asociado a una correcta alimentación (30 días de concentrados y pasturas de calidad) no tiene consecuencias a largo plazo sobre la performance productiva ni reproductiva de esos terneros.

### **Destete Temporario.**

Los presentes resultados demuestran que el destete temporario por 3 o 5 días en vacas primíparas en muy baja (2.6) o moderada (3.8) CC no ejerció ningún efecto sobre el reinicio de la ciclicidad postparto (Protocolo 1 y Publicación III). Aunque algunos autores encontraron una reducción en la duración del anestro postparto e incluso un incrementos en los porcentajes de preñez luego de realizar destetes temporarios por 48, 72 o 96 horas (Smith et al. 1979; Tervit et al. 1982; Alberio et al. 1984; Soto Belloso et al. 2002), otros no encontraron efectos luego de retirar los terneros por 48 horas previo al inicio del entore (Makarechian & Arthur, 1990). Estudios tempranos demostraron que la separación el ternero por 72 h aumenta las concentraciones y la pulsatilidad de LH entre 48 a 56 h más tarde, pero éstas disminuyen 8 horas luego del regreso del ternero (Edwards, 1985). Asimismo, Shively & Williams (1989) sugieren que el destete debe ser de más de 96 horas para obtener un efecto duradero sobre los aumentos de LH inducidos y lograr la ovulación. Si bien en los presentes ensayos, la falta de respuesta observada al destete por 72 h en vacas en muy pobre CC (Protocolo 1) podría ser previsible, tampoco se observó ningún efecto a un destete más prolongado y en animales en los que la CC no era tan limitante como en el caso de la Publicación III. Los estudios anteriormente mencionados (Edwards, 1985; Shively & Williams, 1989), evalúan repuestas endórinas al destete en condiciones nutricionales óptimas, por lo que es muy probable que el status nutricional deficitario que presentaban los animales en nuestros ensayos sean los responsables de la falta de respuesta observada. Más aún, ya había sido sugerido que estas situaciones de severa subnutrición, imponen una restricción para el reinicio de la actividad ovárica mayor que el propio amamantamiento (Orcasberro, 1991), por lo que estos destetes de corta duración no serían efectivos.

### **Destete a Tablilla.**

Los resultados demuestran que la interrupción/restricción del amamantamiento mediante la aplicación de tablillas nasales a los terneros por 14 días, indujo la ciclicidad ovárica en vacas primíparas en moderada CC (Publicación III) obteniéndose casi el máximo de animales ciclando el primer mes postdestete. Aunque se ha postulado que la simple presencia del ternero propio es suficiente para mantener el anestro inducido por el vínculo materno-filial (Silveira et al. 1993), en este caso la presencia de un ternero al que se le impidió mamar acortó la duración del anestro. Ya había sido observado que vacas que permanecían en contacto con sus terneros, pero que se les impidió amamantar, ovulaban antes que las que amamantaban permanentemente, pero este intervalo era mayor que las que se les destetaba definitivamente (Hoffman et al. 1996; Lamb et al. 1999). Por su parte, Stahringer (2001) observa que luego de la primer semana de la aplicación de tablillas, hay una disminución en los intentos de amamantamiento por el ternero, por lo que sugiere que cuando el entablillado se prolonga por lo menos por 2 semanas, se simularía una situación semejante al destete definitivo. Esto no permitiría sugerir que los efectos de la aplicación de tablillas nasales sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica, podrían ser mediados en parte por una reducción en los requerimientos energéticos para la producción de leche y/o por una interrupción del bloqueo hipotalámico-hipofisario de liberación de LH inducido por el amamantamiento.

Estudios regionales han demostrado que la aplicación de tablillas nasales por períodos de 11 a 21 días resultó en incrementos en los porcentajes de preñez al siguiente servicio, pero estos efectos se observan cuando la CC de las vacas no es muy limitante (Orcasberro, 1991; Simeone, 2000; Stahringer, 2001). Más aún, los mayores efectos sobre los porcentajes de preñez se observan en vacas con CC moderada, no encontrándose diferencias en vacas muy flacas ( $CC \leq 3$ ) o con CC superior a 4 (Stahringer, 2001). Llamativamente en el presente ensayo (Publicación III), estas vacas mostraron un comportamiento similar-en cuanto al reinicio de la ciclicidad- que las vacas a las que se realizó destete precoz. Probablemente esto se deba a que estos animales no presentaban una CC muy limitante (3.8) por lo que esta simple estrategia, fue suficiente para que se reiniciara rápidamente la actividad ovárica.

Es muy interesante destacar que la aplicación de tablillas nasales por 14 días provocó un incremento en la CC durante el entore, permitiendo que aun entrado el otoño estas vacas mostraron una mejor condición corporal que las vacas que amamantaron permanentemente.

### **Tratamientos de progesterona y BE y su asociación a destete precoz.**

El tratamiento con progesterona y estradiol en vacas amamantando en muy pobre CC (Protocolo 1) no fue capaz de inducir la ovulación aunque estos animales manifestaron comportamiento estral provocado por el tratamiento. En vacas en baja CC (3.5), pero no tan limitante como el ensayo anterior, este tratamiento llevó a que 1/3 de los animales tratados respondieran mostrando concentraciones de progesterona luteales una semana más tarde (Publicación II), lo que permitió que se redujera el intervalo al reinicio de la ciclicidad en unos 10 días comparado con las vacas no tratadas. Estos resultados son

muchos más bajos que los observados en la bibliografía internacional, por ejemplo en donde encuentran un 70% de las vacas que estaban en anestro, ovulando en respuesta a estos tratamientos (Fike et al. 1997); pero estos son realizados en animales en CC superior. Si bien Bó et al. (1995), mostró claramente que estos tratamientos inducen la ovulación de folículos saludables en vacas ciclando, debido al control de la dinámica folicular que ejercen; otros autores sugieren que no está tan claro si estos tratamientos son efectivos durante el anestro, debido a una sensibilidad diferente de la LH al feedback negativo del estradiol (Rhodes et al. 2002). En ese sentido, Baruselli et al. (2005) recientemente ha observado que, en vacas cebuinas, disminuyendo los niveles de progesterona administrados en estos tratamientos, se obtuvo una mayor tasa ovulatoria debido posiblemente a que se permitió al folículo ovulatorio alcanzar un mayor diámetro. Estos autores (Rhodes et al. 2002; Baruselli et al. 2005) están sugiriendo que, estos tratamientos de progesterona-EB en vacas en anestro y con CC limitantes, quizás estén ejerciendo un feedback negativo muy fuerte sobre la liberación de LH y por ende comprometiendo la respuesta ovulatoria. La baja respuesta encontrada en estos ensayos (Protocolo 1 y Publicación II) confirma estudios previos en donde se postula que, los bajos porcentajes de concepción observados luego de la aplicación de tratamientos de inducción/sincronización de celos en vacas durante el postparto, se debe principalmente a una baja tasa ovulatoria (Grimard et al. 1997). Estos resultados, nos permiten sugerir que en animales en baja CC ( $\leq 3.5$ ), estos tratamientos tienen muy baja efectividad y otras alternativas deben ser aplicadas con el fin de inducir la ciclicidad ovárica.

La asociación del tratamiento de progesterona y estradiol al destete precoz, resultó en 2/3 de los animales mostrando concentraciones de progesterona luteales una semana más tarde (Publicación II), y por consiguiente reduciendo el intervalo al reinicio de la ciclicidad en 6 días comparada con las vacas destetadas precozmente y en 29 días comparada con las vacas no tratadas que amamantaron permanentemente. Si bien se ha observado que casi un 85% de las vacas ovulaban en respuesta a un tratamiento similar asociado al aislamiento del ternero a los 25 días postparto (Mackey et al. 2000), estos animales presentaban una mejor CC que los utilizados en nuestros ensayos. Los resultados obtenidos pueden ser catalogados de bajos, considerando que se están aplicando y sumado los costos de 2 tecnologías (DP + tratamientos hormonales). Si se previera por ejemplo, el uso de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), en esta situación posiblemente se obtengan porcentajes de concepción muy inferiores al 50%. Por su parte, recientemente hemos obtenido un 56% de tasa de concepción a la IATF realizando el destete precoz al momento de iniciar los tratamientos hormonales (Menchaca et al. 2005), o sea, 1 semana antes que lo realizado en los presentes ensayos. Asimismo, se ha demostrado que la restricción del amamantamiento con tablillas nasales colocadas el día de inserción de los dispositivos vaginales, incrementó los porcentajes de preñez a la IATF (Bó et al. 2005). Lo anteriormente expuesto, permite sugerir que para que se justifique los costos de la aplicación de ambas tecnologías, habría que evaluar la realización del destete previamente del inicio de los tratamientos, para permitir a los animales comenzar a recuperar su status energético y así poder mejorar la respuesta ovulatoria.

## **VIII. CONCLUSIONES GENERALES**

Los resultados de estos trabajos demuestran que en vacas primíparas y multíparas con condiciones corporales menores a 4, el destete precoz resultó ser una medida muy efectiva en inducir rápidamente la ciclicidad de las vacas e incrementar los porcentajes de preñez. Sus efectos positivos se observaron aun en años con condiciones climáticas muy adversas y por consiguiente con condiciones corporales muy pobres. En los ensayos aquí presentados los porcentajes de preñez con la aplicación del destete precoz fueron siempre 50 puntos porcentuales superiores a los de las vacas con cría al pie. Asimismo, el destete precoz ejerció un efecto positivo sobre la recuperación de la condición corporal de las vacas, incluso en veranos con muy baja disponibilidad de forraje.

La aplicación de destetes temporarios por 3 o 5 días en vacas con baja CC, no redundó en mejoras en la performance reproductiva. Por su parte, la aplicación de tablillas nasales por 14 días, estimuló rápidamente el reinicio de la ciclicidad y permitió a las vacas recuperar la CC durante el entore.

En vacas primíparas y multíparas con cría al pie y con condiciones corporales menores a 4 como lo que hemos trabajado, los tratamientos de progesterona+estradiol han resultado en una muy baja respuesta ovulatoria, por lo que no serían recomendables en estas situaciones. Con la asociación de estos tratamientos al destete precoz se logró que 2/3 de los animales respondieran, pero es necesario optimizar los momentos de aplicación de estas estrategias, para que los resultados justifiquen los costos de la incorporación de estas dos tecnologías a nivel comercial.

### **IMPLICANCIAS PRACTICAS.**

En situaciones en las que se llega al entore con condiciones corporales bajas, como es muy frecuente en los sistemas de cría de nuestro país, el destete precoz aparece como una estrategia válida a aplicar con el fin de mejorar la eficiencia reproductiva del rodeo, sin la necesidad de grandes modificaciones en la base forrajera. En ese sentido, el destete precoz permite además de incrementar los porcentajes de preñez, que estas vacas conciban más temprano en el período de servicios, por lo que parirán también antes produciendo terneras más homogéneas y pesadas y permitiéndoles a las madres un mayor tiempo de recuperación antes del siguiente entore. Por su parte, la recuperación de condición corporal que se produce por la interrupción del amamantamiento, permitirá que las vacas gestadas entren al invierno con mejor CC y por lo tanto ayudará a llegar al parto siguiente con buenas reservas corporales, lo que redundará finalmente en mejores porcentajes de preñez subsecuentes. Además, las vacas que no quedaron preñadas estarán en mejor condición para ser invernadas o terminadas para su venta. Asimismo, esta medida podría admitir modificaciones en el ajuste de la carga animal de estos sistemas. Contestando a una de las dudas que tienen los productores sobre el desarrollo del ternero destetado precozmente, podemos decir que cuando se le administra una adecuada alimentación, si bien se observan diferencias de peso vivo de entre 10-30 kg menos al momento del destete tradicional, éstas se compensan antes del año de vida y el destete precoz no tiene efectos a largo plazo ni productivos ni reproductivos sobre los mismos. Además, si el sistema es netamente criador, la mayor producción de terneros más tempranos compensaría económicamente las diferencias de peso al destete tradicional observadas.

Finalmente, la aplicación de tablillas nasales, una estrategia de muy bajo costo y que no implica grandes modificaciones en el manejo del sistema; sería recomendable a aplicar en vacas que llegan al entore con una condición corporal no muy limitante.



*Emancipate yourselves from mental slavery,  
none but ourselves can free our minds...  
Bob Marley*

## **X. AGRADECIMIENTOS**

Los trabajos de la presente tesis fueron realizados en el Departamento de Reproducción Animal, en el Laboratorio de Fisiología de la Reproducción de la Facultad de Veterinaria y en la Escuela Agraria de UTU “La Carolina”, Ismael Cortinas, Flores. La financiación para los mismos provino de CIDEDEC-Facultad de Veterinaria, CSIC-UdelaR y de International Foundation for Science (IFS, Grant B/3088-1 a T. de Castro). También se recibió apoyo de los laboratorios Universal Lab, Laboratorio Uruguay S.A. y de la Unión Rural de Flores.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento:

Al Flaco, Edgardo Rubianes, mi tutor, orientador y sobretodo amigo desde hace ya 14 años. De quien aprendí lo que es la metodología científica, la inquietud por conocer, la ecografía transrectal y muchas otras cosas que me han sido muy valiosas para mi desarrollo personal y profesional; pero sobretodo aprendí que todo se puede alcanzar si uno está convencido de ello y lucha por conseguirlo.

Al Cabeza, Diego Ibarra, con quien comenzamos juntos en 1998 esta línea de investigación en rodeos de cría y formamos un gran equipo de gente muy joven que dio grandes frutos. Quiero agradecer a los integrantes de este equipo: Federico García Lagos, Lucía Valdez, Mónica Rodríguez y Natalia Benquet por su permanente dedicación y sin quienes estos trabajos no se habrían realizado de esta manera. A Andrea Pinczak, compañera del “fondo” quien colaboró en los ensayos realizados con terneros. A Daniel Laborde, partícipe de la idea de comenzar a trabajar en este tema y con quien compartimos los primeros años de trabajo.

A Pedro Chocho, Mario Elizzalde, Pilar Irazabal, Marcelo Sanjenis, Mauro Iribarren y demás docentes, funcionarios y estudiantes de UTU “La Carolina”, quienes dieron gran apoyo a nuestro equipo y facilitaron la realización de este trabajo.

Al Unge, Rodolfo Ungerfeld, con quien hemos compartido ser parte del Laboratorio de Fisiología de la Reproducción desde sus comienzos, por su permanente estímulo para terminar esta tesis. A Alejo Menchaca, compañero de trabajo desde nuestros inicios con las cabras hasta hoy en rodeos de cría y otros proyectos. Al Turco Kmaid por su apoyo desde Universal Lab. A Milton Pintos por su permanente apoyo y preocupación. A los demás integrantes pasados y actuales del Laboratorio de Fisrep, un grupo dinámico en constante producción.

Al Dr. Daniel Cavestany, Encargado del Departamento de Reproducción, por su apoyo para finalizar la maestría.

Al grupo de Bioquímica: Elsa Garófalo, Ana Meikle, Celia Tasende, y Marcelo Rodríguez, porque siempre los intercambios con ellos han sido académicamente

productivos y por haber dado el mejor curso que recibí en este posgrado.

A Joselo Repetto y Cecilia Cajarville amigos y compañeros, por su colaboración desde el Departamento de Nutrición en estos trabajos.

A Stella Lanzzeri del laboratorio de RIA, por su colaboración en las determinaciones de progesterona.

A Quique Nogueira que desde la CIDECA apoyó siempre a los que hacen investigación en Facultad de Veterinaria.

A León Fernández, María Ferreira, Hugo Gómez, Inés Selios y demás funcionarios de la Facultad, quienes han colaborado de alguna manera.

A las amigas del alma Bettina, La Canaria, Vicky y Leti por “siempre estar”.

A mis padres, por dar todo a sus hijos y nietos y hacer que la familia sea gran soporte en mi vida. A mis hermanos: Lulú, Madale y Cacos, por saber que siempre cuento con ellos. A Ale y Juan por ser parte de esta familia. A mis sobrinos: José, Pauli, Franchi, Toto, Clari y Rodri porque solo con su presencia, hacen la vida mucho más feliz. A mis abuelos: Abuelo de Castro y Papón; porque su gran amor ha hecho que los tenga permanentemente presentes, a Maíta por ser un ejemplo de actitud positiva frente a la vida. A mi prima Paula, por su gran generosidad. A Mabel por cuidarnos tanto a todos.

A Nico, por tu amor y permanente apoyo en todos mis proyectos, y por compartir juntos lo mejor que hemos tenido en la vida; nuestros hijos.

A mis hijos, Santi y Feli, porque simplemente con una sonrisa llenan mi vida de alegría.

## **XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.**

1. Alberio RH, Butler HM, Palma G, Schiersmann GCS, Mihura H, 1984. Efecto de un destete temporario sobre la reactivación sexual posparto de vacas de cría primíparas. *Rev Arg Prod Anim* 4: 933-940.
2. Arthington JD, Kalmbacher RS, 2003. Effect of early weaning on the performance of three-year-old, first-calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *J Anim Sci* 81: 1136–1141
3. Barb C R, Kraeling R R, 2004. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim Reprod Sci* 82-83:155-167
4. Baruselli P, Bo GA, Reis EL, Marques MO, Sa Filho MF, 2005. Introduction of FTAI to reproductive management of beef herds in Brazil. 6<sup>to</sup> Simposio Internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina: pp 151-176.
5. Baruselli P, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA, 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anoestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 82-83: 479-486.
6. Bell DJ, Spitze, JC, Burns GL, 1998. Comparative effects of early weaning or once daily suckling on occurrence of postpartum estrus in primiparous beef cows. *Theriogenology* 50: 707-715
7. Bo GA, Adams GP, Caccia M, Martinez M, Pierson RA, Mapletoft RJ, 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. *Anim Reprod Sci* 39: 193-204.
8. Bo GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Aviles M., Menchaca A, Veneranda G, Baruselli PS, 2005. Implementation of AI programs in beef herds of Argentina. 6<sup>to</sup> Simposio Internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina, pp. 97-128.
9. Breuel KF, Lewis PE, Inskeep EK and Butcher RL, 1993. Endocrine profiles and follicular development in early- weaned postpartum beef cows. *J Reprod Fert* 19: 205-212.
10. Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins IZ, Roche JF, 1998. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biol Reprod* 58: 1445-1450.
11. de Castro T, D Ibarra, L Valdez, M Rodríguez, F García Lagos, N Benquet y E Rubianes. Medidas para acortar el anestro postparto en la vaca de cría. Premio Academia Nacional de Veterinaria 2002.
12. de Castro T, Ibarra D, Valdez L, Lapitz L, Benquet N, Garcia Lagos F, Farro G, Lanzieri S, 2004. Does early weaning influence age at puberty in beef heifers? In: Proceedings of 15<sup>th</sup> International Congress of Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil, pp 21.
13. Edwards S, 1985. The effects of short term calf removal on pulsatile LH secretion in the postpartum beef cow. *Theriogenology* 23: 777-785.
14. Fanning MD, Lunt DK, Sprott LR and Forrest DW, 1995. Reproductive performance of synchronized beef cows as affected by inhibition of suckling with nose tags or temporary calf removal. *Theriogenology* 44: 715-723.
15. Fike KE, Day ML, Inskeep EK, Kinder JE, Lewis PE, Short RE, Hafs HD, 1997. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anoestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J Anim Sci* 75: 2009-2015.

16. Gong JG, 2002. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 229-241
17. Grimard B, Humblot P, Mialot JP, Jeanguyot N, Sauvant D, Thibier M, 1997. Absence of response to oestrus induction and synchronization treatment is related to lipid mobilization in suckled beef cows. *Reprod Nutr Dev* 37: 129-140.
18. Hofer CC, 1994. La técnica del destete precoz y la intensificación de los sistemas de cría vacuna. XXII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
19. Hoffman DP, Stevenson J, Minton JE, 1996. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *J Anim Sci* 74: 190-198.
20. Humblot P, Grimard B, Ribon O, Khireddine B, Dervishi V, Thibier M, 1996. Sources of variation of postpartum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous Charolais cows treated with norgestomet implants and PMSG. *Theriogenology* 46: 1085-1096.
21. Inskip EK, 1995. Factors that affect fertility during estrous cycles with short or normal phases in postpartum cows. *J Reprod Fert Suppl* 49: 493-503.
22. Lamb GC, Miller BL, Lynch JM, Thompson KE, Heldt JS, Löest CA, Grieger DM, Stevenson JS, 1999. Ad libitum suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs postpartum anovulation. *J Anim Sci* 77: 2207-2218.
23. Laster DB, Glimp HA, Gregory KE, 1973. Effects of early weaning on postpartum reproduction of cows. *J Anim Sci* 36: 734-740.
24. Lusby KS, Wettemann RP, Turman EJ, 1981. Effects of early weaning from first-calf heifers on calf and heifer performance. *J Anim Sci* 53: 1193-1197.
25. Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG, 2000. The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. *J Anim Sci* 7: 1917-1929.
26. Makarechian MP, Arthur F, 1990. Effects of body condition and temporary calf removal on reproductive performance of range cows. *Theriogenology* 34: 435-442.
27. Mc Millan WH, Hall DRH and Oakley AP, 1995. Induction of early postcalving ovulation and oestrus in suckled beef cows. *Proceedings of the N Z Society of Animal Production* 55: 261-264.
28. McSweeney CS, Kennedy PM, D'Occhio MJ, Fitzpatrick LA, Reid D, Entwistle KW, 1993. Reducing Post-partum anoestrous interval in first-calf *Bos indicus* crossbred beef heifers. II. Response to weaning and supplementation. *Aust J Agric Res* 44:1079-1092.
29. Menchaca A, de Castro T, Chifflet N, Alvarez M, 2005. Uso combinado de IATF y destete precoz en vacas de cría en anestro postparto. XXXIII Jornadas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
30. Mendez J, Vizcarra J, Orcasberro R, 1988. Condición apreciación visual en vacas Hereford. *Rev Plan Agropecuario* 44:33-34.
31. Monje A, Hofer C, Galli I, 1994. Destete precoz. Efecto sobre los vientres, manejo de terneros e impacto de la técnica sobre los sistemas de producción.

- Jornada de difusión técnica destete precoz, EEA INTA Concepción del Uruguay, Argentina.
32. Morgan JHL, Saul GR, 1976. Liveweight responses by early weaned steers grazed on hay aftermath to supplements of oats, linseed meal and hay. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 16:302-307.
  33. Mukasa-Mugerwa E, Tegegne A, Franceschini R, 1991. Influence of suckling and continuous cow-calf association on the resumption of postpartum ovarian function in *Bos indicus* cows monitored by plasma progesterone profiles. *Reprod Nutr Dev* 71:241-247.
  34. Murphy MG, Boland MP, Roche JF, 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckler cows. *J Reprod Fertil* 90: 523-533.
  35. Nett TM, Cermak D, Braden T, Manns J, Niswender G, 1988. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows II. Changes during postpartum period. *Domest Anim Endocrinol* 5: 81-89.
  36. Orcasberro R, 1991. Estado corporal, control del amamantamiento y performance reproductiva de rodeos de cría. INIA Serie Técnica N°13 158-169.
  37. Pereira G, 2003. La ganadería en Uruguay. Contribución a su conocimiento. Publicación de MGAP – DIEA.
  38. Pigurina G, 2000. Situación de la cría en Uruguay. Serie Técnica INIA 108: 1-6.
  39. Randel RD, 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J Anim Sci* 68: 853-862.
  40. Rhodes FM, Burke CR, Clark BA, Day ML, Macmillan KL, 2002. Effect of treatment with progesterone and estradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrus cows which have resumed estrous cycles. *Anim Reprod Sci* 69: 139-150.
  41. Rivera GM, Goñi CG, Chaves MA, Ferrero SB, Bó GA, 1998. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. *Theriogenology*, 49: 1365-1375.
  42. Rubianes E, Valdez L, Rodriguez M, Garcia Lagos F, Benquet N, Pinczak A, Ibarra D, de Castro T, 2002. Prepuberal changes in bull beef calves after early or traditional weaning. In: *Proceedings of VI International Symposium of Reproduction in Domestic Ruminants*, Scotland, UK, pp. A67.
  43. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF, 1990. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J Reprod Fertil* 88: 569-579.
  44. Schallenberger E, 1985. Gonadotropins and ovarian steroids in cattle. III. Pulsatile changes of gonadotropin concentrations in the jugular vein postpartum. *Acta Endocrinol* 109: 37-43.
  45. Shively, T. E, Williams, G L, 1989. Patterns of tonic luteinizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrous beef cows following varying intervals of temporary weaning. *Domest Anim Endocrinol* 6: 379-387.
  46. Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG and Custer EE, 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci* 68: 799-816.
  47. Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP, Williams GL, 1993. Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biol Reprod* 49: 1338-1346.

48. Simeone A, 2000. Destete temporario, destete precoz y comportamiento reproductivo en vacas de cría en Uruguay. Serie Técnica INIA 108: 35-40.
49. Sirois J, Fortune JE, 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 127: 916-924.
50. Smith MF, Burrell WC, Shipp LD, Sprott LR, Songster WN, Wiltbank JN, 1979. Hormone treatments and use of calf removal in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 48: 1285-1292.
51. Snedecor GW, Cochran WC, 1980. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Ames, IA.
52. Soto-Belloso E, Portillo Martínez G, De Ondiz A, Rojas N, Soto Castillo G, Ramírez Iglesia L, Perea Ganchou F, 2002. Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96 h calf removal. *Theriogenology* 57: 1503-1510
53. Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF, 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim Reprod Sci* 38: 49-61.
54. Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG, 1998. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either two energy levels postpartum. *Biol Reprod* 59: 77-783.
55. Stahringer R, 2001. Estrategias para el manejo del anestro postparto en la vaca de cría. VII Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.
56. Statistical Analysis Systems 1999-2000. Version 8.01. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
57. Statistical Analysis Systems 1999-2000. Version 8.01. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
58. Stevenson JS, Knoppel EL, Minton JE, Salfen BE, Garverick HA, 1994. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with or without unrestricted presence of the calf. *J Anim Sci* 72: 690-699.
59. Tathama BG, Hollierb T, Wimalasuriyac R, 2004. Early weaning theory and enterprise benefits for beef cattle. *Animal Production in Australia* 25, 180-183.
60. Tervit HR, Smith HF, Goold PG, Jones KR, Vandien JJD, 1982. Reproductive performance of beef cows following temporary removal of calves. *Proc N Zeal Soc Anim Prod* 42: 83-89.
61. Williams GL, 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *J Anim Sci* 68:831-852.
62. Williams GL, Griffith MK, 1995. Sensory and behavioral control of gonadotrophin secretion during suckling mediated anovulation in cows. *J Reprod Fertil*, 49: 463-475.
63. Yavas Y, Walton JS, 2000a. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A Review. *Theriogenology* 54: 1-23.
64. Yavas Y, Walton JS, 2000b. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A Review. *Theriogenology* 54: 25-55.

## **XII. ANEXOS**

**Publicación I:** de Castro T, Valdez L, Rodríguez M, Benquet N, Rubianes E, 2004. Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storing conditions. *Tropical Animal Health and Production* 36 (4): 381-384.

**Publicación II:** de Castro T, Ibarra D, Valdez L, Rodríguez M, Benquet N, García Lagos F, Rubianes E, 2006. Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anoestrous beef cows. Enviado.

**Publicación III:** de Castro T, Ibarra D, Rodríguez M, Valdez L, Benquet N, Rubianes E, 2006. Resumption of postpartum ovarian cyclicity after different suckling manipulation treatments in primiparous beef cows. Enviado.



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA en**

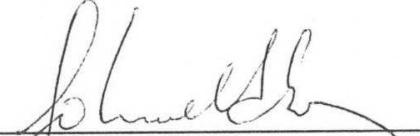
**REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**Alternativas hormonales y de manejo del amamantamiento para  
incrementar la eficiencia reproductiva en vacas de cría**


**Por: Dra. Teresa de Castro**

**Director de tesis: Dr. Edgardo Rubianes**

**Tribunal**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Gabriel Bó (Presidente)**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Luzbel de la Sota**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Ruy Orcasberro**

**Fallo del Tribunal: Aprobada con mención**

**Montevideo, 2 de mayo de 2006**



## Short Communication

### Decline in Assayable Progesterone in Bovine Serum under Different Storage Conditions

T. de Castro<sup>1\*</sup>, L. Valdez<sup>1</sup>, M. Rodriguez<sup>1</sup>, N. Benquet<sup>1</sup> and E. Rubianes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Animal Reproduction Department, Veterinary Faculty, Lasplacas 1550, 11600*

*Montevideo, Uruguay;* <sup>2</sup>*Animal and Forage Sciences Department, Faculty of Agriculture, Montevideo, Uruguay*

\*Correspondence: E-mail: [tdec@adinet.com.uy](mailto:tdec@adinet.com.uy)

de Castro, T., Valdaz, L., Rodriguez, M., Benquet, N. and Rubianes, E., 2004. Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storage conditions. *Tropical Animal Health and Production*, **36**(4), 381–384

*Keywords:* beef cattle, progesterone, storage, RIA

*Abbreviations:* RIA, radioimmunoassay

#### INTRODUCTION

The use of radioimmunoassay (RIA) to determine hormone concentrations in domesticated livestock has widely expanded our knowledge of reproductive endocrinology. However, the treatment and storage of blood or serum samples prior to analysis can influence the value obtained for the hormone level more than the precision and accuracy of the RIA method employed (Oltner and Edqvist, 1982). It is essential therefore, that careful handling and standardized procedures should be used to allow a correct determination of hormone levels.

Frozen plasma or serum samples can be stored for long periods without significant loss in hormone concentrations, but progesterone concentrations in bovine plasma and serum decrease proportionally with time elapsed between collection and separation from cellular elements (Oltner and Edqvist, 1982; Reimers *et al.*, 1983; Breuel *et al.*, 1988; Pulido *et al.*, 1991). Temperature also plays an important role in the rate of progesterone metabolization by red blood cells, since refrigeration delays the progesterone decline (Oltner and Edqvist, 1982; Reimers *et al.*, 1983; Breuel *et al.*, 1988; Pulido *et al.*, 1991). Although not as rapid and pronounced as in the cow, a 50% decline in ovine progesterone concentrations was found when heparinized ovine blood was stored at 22°C for 24 h (Wiseman *et al.*, 1982), while in dogs, pigs, llamas and horses no changes have been found in progesterone concentrations after storing whole blood at different temperatures (Oltner and Edqvist, 1982; Aba *et al.*, 1996).

Since immediate centrifugation is not always feasible in field work, a possible alternative could be to use an icebox to maintain blood samples at a lower temperature until centrifugation can be performed. However, the effects on assayable progesterone of different handling procedures need to be evaluated. The aims of the present study were to determine progesterone concentrations in bovine serum after storage at different temperatures and for different periods.

## MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at the farm of UTU-La Carolina and Veterinary Faculty, Uruguay (34°S). Six primiparous Aberdeen Angus cows in luteal phase were selected to assure high progesterone concentrations. Twenty-four millilitres of blood without anticoagulant were collected from each cow by jugular venepuncture, and placed in two 12 ml glass tubes. One of the tubes was maintained at ambient temperature (AT,  $n = 6$ ) and the other was immediately placed in an icebox (LT,  $n = 6$ ). At 1, 4, 8 and 24 h after collection, 1 ml serum aliquots were taken from the tubes, placed in a vial and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until hormone determination. Records of maximum and minimum ambient temperature for that day were  $35^{\circ}\text{C}$  and  $26^{\circ}\text{C}$ , respectively, thus AT tubes were always at  $>25^{\circ}\text{C}$ . The temperature in refrigerated samples, measured by inserting a thermometer inside the tubes, was  $10^{\circ}\text{C}$ .

Serum progesterone concentrations were measured in duplicate using a solid-phase  $^{125}\text{I}$  RIA kit (Diagnostic Product Co., Los Angeles, CA, USA). The analytical detection limit of the assay was 0.1 ng/ml and the intra-assay and inter-assay coefficients of variation were 6.4% and 8.0%, respectively.

Since the range of initial progesterone concentrations of all cows was wide (3.56–8.93 ng/ml), for statistical analysis the progesterone values determined in 1 h samples were taken as 100% and the values of the subsequent samples were expressed as a percentage of the initial value (Breuel *et al.*, 1988). The effects of temperature, time and temperature  $\times$  time were analysed by mixed procedure using Statistical Analysis System (SAS, 1999–2000). Results are expressed as mean  $\pm$  SEM.

## RESULTS AND DISCUSSION

Mean initial progesterone concentrations were  $5.68 \pm 0.55$  ng/ml. Temperature ( $p < 0.0001$ ), time ( $p < 0.0001$ ) and temperature  $\times$  time ( $p < 0.02$ ) affected the progesterone concentration. A significant decline ( $p < 0.02$ ) in progesterone in samples stored at  $>25^{\circ}\text{C}$  was found in the first 4 h, whereas in refrigerated samples the decline ( $p < 0.02$ ) was first observed at 8 h (Figure 1).

When whole cow blood with anticoagulants was stored at room temperature, in the first 8 h progesterone concentrations decreased to 40% of the initial measurement (10% decline/h) and only 8% or less of initial progesterone remained at 24 h, whereas with storage at  $4^{\circ}\text{C}$  the decline was only to 80% of the initial progesterone in the first 6 h and to 55% by 24 h (Oltner and Edqvist, 1982; Reimers *et al.*, 1983). The decline found in

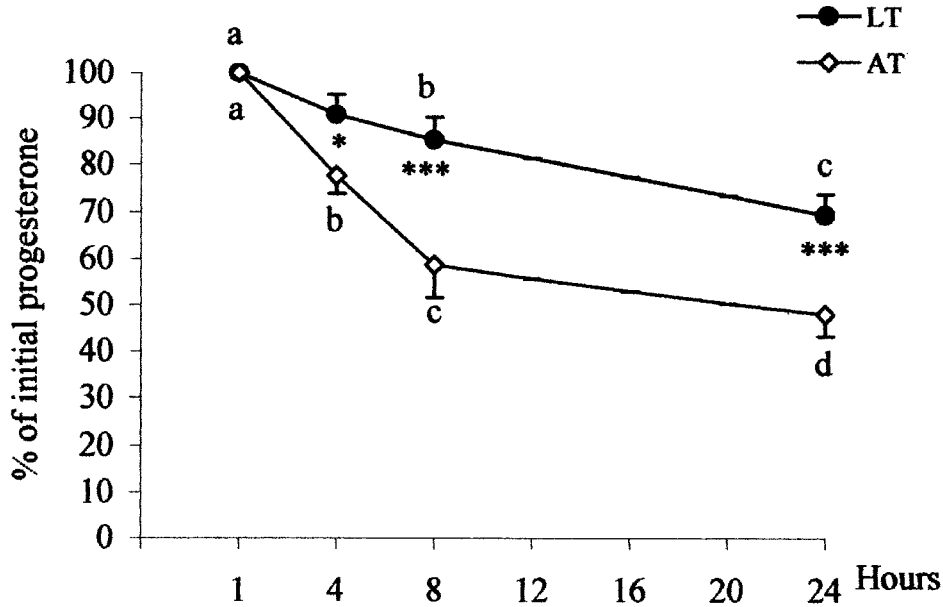


Figure 1. Mean cow serum progesterone percentage in samples stored in whole blood without anticoagulant at 10°C (LT, ●) or >25°C (AT, ◇). For the same treatment, values with different letters (a, b, c, d) at  $p < 0.02$ . For the same time, values differ at  $*p < 0.05$ ,  $***p < 0.001$  between groups. Standard error is indicated by vertical bars.

our study in clotted blood was less than that observed in non-clotted blood by these authors. However, our results are similar to observations by Reimers (1983), who found a decline to around 60% of initial progesterone concentrations in the first 8 h and to approximately 50% at 24 h. This was probably due to a decreased exposure of progesterone to the cells once the blood had clotted. In contrast, Breuel and colleagues (1988) did not find differences between heparinized and clotted samples.

The rate of serum progesterone decline per hour in the first 3 h was higher in ambient temperature than in refrigerated stored samples ( $6.9\% \pm 1.3\%/h$  vs  $2.6\% \pm 1.5\%/h$  for AT and LT respectively,  $p < 0.05$ ); between 5 and 8 h of storage the rate of decline was  $4.5\% \pm 1.5\%/h$  and  $1.7\% \pm 0.7\%/h$  for AT and RT ( $p = 0.1$ ); and between 9 and 24 h it was  $0.9\% \pm 0.4\%/h$  and  $1.1\% \pm 0.3\%/h$  for AT and RT ( $p = \text{NS}$ ). Moreover, in samples stored at ambient temperature the rate of decline was higher ( $p < 0.01$ ) in the first 4 h than in the interval between 9 and 24 h. A glucose-dependent progesterone conversion of red cells has been reported (Oltner and Edqvist, 1982), as a marked decrease in glucose in samples stored at room temperature was found, whereas in refrigerated samples the decline in glucose was only minor. The more rapid rate of

progesterone decline in the first hours compared with the last hours in samples kept at ambient temperature in our study could probably be due to glucose utilization and depletion in these samples.

Refrigerating blood at 10°C markedly reduced the progesterone decline in bovine serum. Thus, when no centrifugation facilities are available, an icebox is an effective means of storing samples between collection and centrifugation that allows measurement in the first 4–8 h of around 90% of the initial progesterone concentrations.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Pedro Chocho, Mario Elizalde, Mauro Iribarren and the staff of UTU 'La Carolina' for providing and handling the animals; Milton Pintos for continual assistance; Stella Lanzzeri for the progesterone assay; and Celia Tasende, Elize Vanlier and Ana Meikle for technical assistance. This research was supported by the International Foundation for Science, Stockholm, Sweden, through a grant to Teresa de Castro, and by CSIC-UdelaR, Uruguay.

#### REFERENCES

- Aba, M.A., Ghezzi, M., Quiroga, M., Solana, H. and Auza, N., 1996. Concentrations of progesterone during storage of whole blood from llama (*Lama glama*): effects of anticoagulants, storage time and temperature. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **37**, 123–125
- Breuel, K.F., Spitzer, J.C., Gimenez, T., Henricks, D.M. and Gray, S.L., 1988. Effect of holding time and temperature of bovine whole blood on concentration of progesterone, estradiol 17 $\beta$  and estrone in plasma and serum samples. *Theriogenology*, **30**, 613–627
- Oltner, R. and Edqvist, L.E., 1982. Changes in progesterone levels during storage of heparinized whole blood from cow, horse, dog and pig. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **23**, 1–8
- Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G. and Posadas, E., 1991. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology*, **35**, 965–975
- Reimers, T.J., McCann, J.P. and Cowan, R.G., 1983. Effects of storage times and temperatures on T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, LH, prolactin, insulin, cortisol and progesterone concentrations in blood samples from cows. *Journal of Animal Science*, **57**, 683–691
- SAS, 1999–2000. *Statistical Analysis Systems, Version 8.01*, (SAS Institute Inc., Cary, NC)
- Wiseman, B.S., Vincent, D.L., Thomford, P.J., Scheffrahn, N.S., Sargent, G.F. and Kesler, D.J., 1982. Changes in porcine, ovine, bovine and equine blood progesterone concentrations between collection and centrifugation. *Animal Reproductive Science*, **5**, 157–165

(Accepted: 17 February 2003)

## Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anestrous beef cows

T. de Castro<sup>1,3</sup>, D. Ibarra<sup>1</sup>, L. Valdez<sup>1</sup>, M. Rodriguez<sup>1</sup>, N. Benquet<sup>1</sup>, F. Garcia Lagos<sup>1</sup>, E. Rubianes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Sciences, Lasplaces 1550, 11600 Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, Montevideo, Uruguay.

### Abstract

To study the effects of early weaning (EW) and progesterone-estradiol treatment on the postpartum reproductive efficiency of beef cows, 110 anestrous Aberdeen Angus and Hereford cows with a mean body condition score of  $3.5 \pm 0.04$  (1-8 scale) were used. At 70 d postpartum, cows were randomly assigned to one of four treatment groups: 1) S (n = 28), cows suckled throughout the experiment; S+C (n = 28), cows suckled throughout the experiment and treated with a CIDR-B (1.38 g progesterone; InterAg, New Zealand) for 7 d plus 2 mg of estradiol benzoate (EB, Dispert, Uruguay) at CIDR insertion and 1 mg EB 24 h after CIDR withdrawal (D0); 3) EW (n = 27), cows with calves weaned (D0); 4) EW+C (n = 27), cows with calves weaned and received the same CIDR-EB treatment as group S+C 7 d before weaning. After treatments, cows were mated by natural service for a period of 60 d and weekly serum P4 concentrations were measured. A greater proportion of EW+C cows had serum P4 concentrations  $\geq 1$  ng/ml one week after treatments (64, 32, 23 and 0% for EW+C, S+C, EW, and S, respectively;  $P < 0.05$ ). The interval from treatment to resumption of postpartum estrous cycles was influenced by treatment ( $12.9 \pm 1.8$ ,  $18.6 \pm 1.9$ ,  $31.3 \pm 3.6$ , and  $41.5 \pm 2.2$  d for EW+C, EW, S+C, and S, respectively;  $P < 0.04$ ). Early weaned cows had greater pregnancy rates compared to suckled cows (88.9, 88.9, 35.7, and 28.6% for EW+C, EW, S+C, and S, respectively;  $P < 0.05$ ). Early weaning and progesterone-EB treatments were both effective means to induce an earlier onset of estrous cycles and enhance postpartum rebreeding efficiency in anestrous beef cows.

**Keywords:** postpartum anestrous, CIDR-B, suckling, body condition score.

### Introduction

Prolonged postpartum anestrus in suckled cows is a major cause of poor reproductive efficiency in beef herds. Suckling and malnutrition are the most important factors effecting the length of postpartum anestrus, and

primiparous cows are the group that have the longest postpartum anestrous interval and reduced pregnancy rates (Randel, 1990; Stagg *et al.*, 1998; Williams, 1990; Yavas and Walton, 2000b).

To reduce the postpartum anestrous interval in grazing cows, alternatives such as calf-suckling manipulation strategies and hormonal treatments are available. Bonding of maternal offspring is an essential component in inhibiting episodic LH release and thus in extending the postpartum anestrous interval (Williams, 1990; Williams and Griffith, 1995; Stagg *et al.*, 1998). Reducing the suckling stimulus by calf isolation results in increased episodic LH release, which results in the onset of estrous cycles and enhancement of pregnancy rates in anestrous beef cows (Stagg *et al.*, 1998; Williams, 1990); therefore, early weaning before the breeding season has been used to enhance postpartum rebreeding efficiency in beef herds (Laster *et al.*, 1973; Lusby *et al.*, 1981; Arthington and Kalmbacher 2003). Treatment with progesterone (P4) and estradiol enhances dominant ovarian follicle turnover and ovulation of new healthy follicles in cows that have initiated estrous cycles following calving (Bo *et al.*, 1995) and is being recommended for the application of fixed-time artificial insemination (FTAI) in suckled cows (Baruselli *et al.*, 2004; Bo *et al.*, 2005). Although P4-estradiol treatments have been widely used to induce and synchronize estrus and ovulation in suckled beef cows (Grimard *et al.*, 1997; Mackey *et al.*, 2000; Yavas and Walton, 2000a; Baruselli *et al.*, 2004; 2005), results are highly variable. The inclusion of early weaning to P4-estradiol based treatments could increase ovulatory response to these treatments (Mackey *et al.*, 2000); however, field trials with cows in marginal body condition score (BCS) are few.

In beef production systems in Uruguay, where cattle husbandry occurs under extensive rangeland conditions, cows usually calve with a less desirable BCS and forage during the summer (breeding season) is often sparse; therefore, the development of reproductive management strategies to enhance pregnancy rates during the subsequent breeding season is very valuable. The objectives of the present study were to determine whether early weaning, progesterone-estradiol treatments,

<sup>3</sup>Corresponding author: tdec@adinet.com.uy

Tel/Fax: +598-2-6287067

Received: December 20, 2006

Accepted: March 1, 2007

and these treatment combinations are effective at inducing the onset of estrous cycles and enhancing postpartum rebreeding efficiency of anestrus beef cows with a marginal BCS.

### Materials and Methods

The present study was conducted at UTU La Carolina farm, Flores, Uruguay (34°S) from December to February, using 110 Aberdeen Angus and Hereford cows (39 primiparous and 71 multiparous). All cows had calved between September 17<sup>th</sup> and November 17<sup>th</sup> and were kept together grazing on rangeland. The study included all animals from the herd that were at least 52 d postpartum at the beginning of the experiment. The BCS was assessed biweekly during the experimental period using a scale of 1-8 (1 is severe emaciation and 8 is obese; Vizcarra *et al.*, 1986); this scale was adapted for beef cows from the scale described by Earle (1976) for dairy cattle. Anovulation was confirmed in all cows by the absence of a corpus luteum (CL) at two repeated ultrasonographic examinations 14 d apart before starting treatments (D -14 and 0) using a real-time, B-mode scanner equipped with a 5-7.5 MHz linear-array transducer (Scanner 480, Pie Medical, Maastricht, Netherlands) and palpation of uterine tone.

### Treatments

At mean of 70 d postpartum, cows were randomly assigned to one of four treatment groups according to parity, breed, days postpartum, and BCS. Day 0 (76.9 ± 2.0 d postpartum, mean ± SEM; range, 52 - 100 d) was the predetermined day of the beginning of the breeding period and the day when either early weaning was applied and/or progesterone devices were withdrawn for all animals. Treatments were as follows: 1) Group S (n = 28), cows were suckled throughout the experiment; 2) Group S+C (n = 28), cows suckled throughout the experiment and treated with an intravaginal progesterone device (CIDR-B; 1.38 g progesterone; InterAg, New Zealand) for 7 d plus 2 mg of estradiol benzoate i.m. (EB; Dispert, Uruguay) at CIDR insertion and 1 mg EB was administered 24 h after CIDR withdrawal (D0); 3) Group EW (n = 27), cows with calves weaned at D 77 postpartum (D0); 4) EW+C group (n = 27), cows with calves weaned at D77 postpartum that received the same CIDR-EB treatment as group S+C 7 d before weaning. After treatments (D0), cows were mated by natural service for 60 d using bulls of proven fertility. The first week after treatments, a 1:9 bull:cow ratio was used, and a 1:20 bull:cow ratio was used for the remaining of the breeding period. Pregnancy diagnosis was performed using ultrasonography 50 d after the end of the breeding period.

### Blood collection and RIA

Blood samples were collected weekly by tail venipuncture on D7, 14, 21, 28, 35, 42, and 49. Samples were immediately refrigerated and centrifuged within 4 h after collection (de Castro *et al.*, 2004a). Serum was separated and stored at -20°C until assayed for P4. Serum P4 concentrations were measured using a solid-phase, I<sup>125</sup> radioimmunoassay kit (Diagnostic Product Co, Los Angeles, CA, USA). The detection limit of the assay was 0.1 ng/ml and the intra- and inter-assay coefficients of variation were 6.4 and 8.0%, respectively. Progesterone concentrations ≥ 1 ng/ml for at least two consecutive weekly samples were considered indicative of resumption of ovarian activity associated with ovulation (McSweeney *et al.*, 1993; Silveira *et al.*, 1993).

### Statistical analysis

The interval from treatment to the onset of estrus was analyzed using ANOVA. The model included the effects of treatment, BCS, parity, and breed (Stata, 2003). Chi-square analysis was used to compare frequencies. Logistic regression was used to analyze effects of treatments, BCS, parity, and breed on final pregnancy rates (Stata, 2003). Effects of group, time, and the group by time interaction on BCS were analyzed using the Mixed Model of the Statistical Analysis System (SAS, 1999/2000). Differences were considered significant at P < 0.05. Results are expressed as the mean ± SEM.

### Results

The effects of calf isolation and progesterone-estradiol treatments on resumption of estrous cycles are depicted in Fig. 1. The association of early weaning with P4-EB treatment resulted in a greater proportion of cows that had initiated estrous cycles at the beginning of the breeding period. Few suckled cows (9 of 28) had luteal-phase P4 concentrations within the first week in response to P4-EB treatment. Five weeks after treatments, 90 to 100% of the early weaned cows (EW and EW+C) had initiated estrous cycles, but only about 50% of suckled cows (S and S+C) did so by the end of the breeding period.

Data for intervals from treatment to resumption of estrous cycles and pregnancy rates (number of cows pregnant divided by total cows mated) after 2 mo of the breeding period are shown on Table 1. The interval from treatment to resumption of postpartum estrous cycles was influenced by treatment (P < 0.001). The combination of P4-EB treatment with EW resulted in a shorter interval to resumption of estrous cycles. An effect of BCS at the beginning of the experiment on interval from treatment to resumption of estrous cycles

was found ( $P < 0.006$ ). Cows with  $BCS \leq 3$  had longer intervals to resumption of estrous cycles ( $P = 0.02$ ) compared to cows with a  $BCS \geq 3.5$ . Although P4-EB treated cows that were suckling calves initiated estrous cycles during the postpartum period 10 d earlier than suckled cows, this had no effect on final pregnancy rates compared to untreated suckled cows (Table 1). Both

groups of early weaned cows (EW and EW+C) had greater pregnancy rates compared to suckled cows ( $P < 0.001$ ). There was also an effect of BCS at the beginning of the experiment on final pregnancy rate ( $P < 0.03$ ). Cows with a  $BCS \leq 3$  had lesser pregnancy rates compared to cows with a  $BCS \geq 3.5$ . There was no effect of parity on reproductive responses.

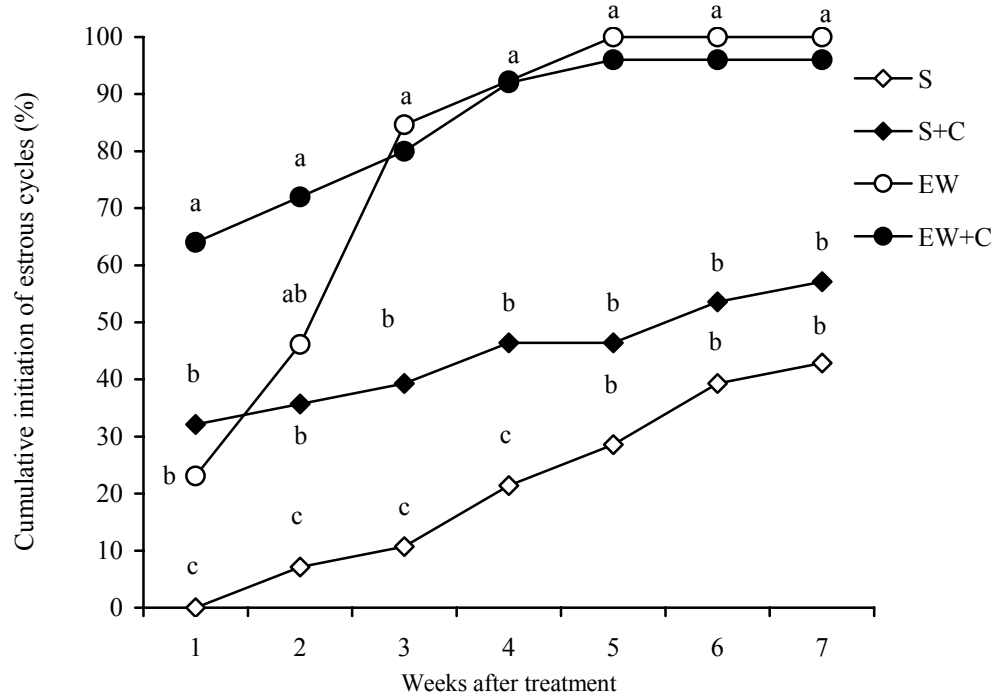


Figure 1. Cumulative percentage of cows resuming estrous cycles (progesterone concentrations  $>1$  ng/ml in 2 consecutive weekly samples) that were either suckled (S); suckled and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (S+C), early weaned (EW), or early weaned and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (EW+C). Within week, different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

Table 1. Interval (d) from treatment to resumption of luteal function (mean  $\pm$  SEM) and pregnancy rates in beef cows that were either suckled (S); suckled and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (S+C), early weaned (EW), or early weaned and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (EW+C) at 77 d postpartum.

Group	Interval from treatment to resumption of luteal function (d)	Pregnancy rate (%)
S	41.5 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	28.6 <sup>a</sup>
S+C	31.3 $\pm$ 3.6 <sup>b</sup>	35.7 <sup>a</sup>
EW	18.6 $\pm$ 1.9 <sup>c</sup>	88.9 <sup>b</sup>
EW+C	12.9 $\pm$ 1.8 <sup>d</sup>	88.9 <sup>b</sup>

Within a column, different superscripts differ ( $P < 0.04$ ).

Cows used in the study had a mean BCS of  $3.5 \pm 0.04$  at the beginning of the experiment. Data for BCS change after treatments in cows kept together grazing on rangeland are shown on Fig. 2. There were effects of

group ( $P < 0.0001$ ), time ( $P < 0.0001$ ), and a group by time interaction ( $P < 0.0001$ ) on BCS. Early weaned cows had a greater BCS than suckled cows at 1 and 2.5 mo after treatment by 0.5 and 1 point, respectively (Fig. 2;  $P < 0.05$ ).

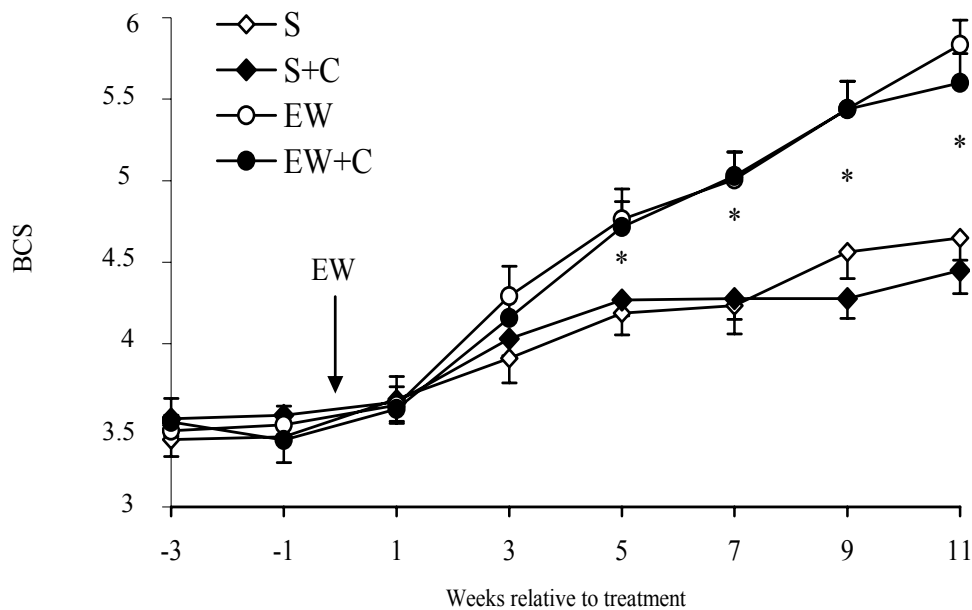


Figure 2. Body condition score evolution in beef cows kept together grazing on rangeland and were either suckled (S); suckled and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (S+C), early weaned (EW), or early weaned and received a 7-d progesterone-estradiol treatment (EW+C). \* Within week, differences between groups are significant ( $P < 0.05$ ).

### Discussion

Present results indicate that early weaning induced resumption of estrous cycles; 100% of the cows had initiated estrous cycles within the first month of the breeding period. This is consistent with previous reports that showed that weaning shortly after parturition shortened the period of postpartum anovulation by 20 to 50 d (Williams, 1990; Hoffman *et al.*, 1996), and weaning before the breeding season had the same effect by shortening the period 17 d (Lusby *et al.*, 1981). In the present study, early weaning increased final pregnancy rates by 60% points; this is in agreement with earlier studies (Williams, 1990; Williams and Griffith, 1995). Using primiparous cows with marginal BCS, Lusby *et al.* (1981) reported that estrous cycles were initiated by 85 d postpartum in 90% of the EW cows compared to 34% of the suckled cows, and weaning increased pregnancy rates by 38%. Furthermore, when calves were isolated and suckling was restricted to once a day, 50% of the anestrus cows had ovulations within 10 d after treatments compared to 3% of the suckled cows (Stagg *et al.*, 1998). All the cows in the present study were in anestrus at the beginning of the breeding period (mean,  $77 \pm 2.0$  d postpartum) and only around 50% of suckled cows had initiated estrous cycles by the end of the breeding period, which explains the lesser pregnancy rates obtained in this group and confirms that postpartum anestrus duration is one of the major causes of poor reproductive efficiency in beef herds (Short *et al.*, 1990; Stagg *et al.*, 1998).

Association of P4-EB treatment with early weaning resulted in 64% of anestrus cows having luteal-phase P4 concentrations within the first week of the breeding period and consequently shortened the interval from treatment to resumption of estrous cycles. Mackey *et al.* (2000) found that most cows had ovulations after calf isolation and 6 d of P4 treatment in cows with a greater BCS than those used in the present study. Cows in the present study had a lesser BCS and none had initiated estrous cycles before treatment initiation. Considering that early weaning and P4-EB treatment increases labor costs and costs of application, some alternatives should be studied so that results can justify the implementation of this program by beef cattle producers. Initiating early weaning before starting progesterone treatment could be an interesting alternative to increase LH pulsatility during progesterone treatment (Mackey *et al.*, 2000) and allow follicles to reach larger diameter and subsequently obtain a better ovulation response. Moreover, this could allow cows to recover energy status before inducing ovulation.

Early weaning exerted a positive effect on BCS recovery. Cows with weaned calves had a 0.5 and a 1 unit increase in BCS at 1 and 2.5 mo after weaning respectively compared to suckled cows when grazing under the same conditions. This confirms that suckled cows require more nutrients than non-suckled cows (Hoffman *et al.*, 1996). Similarly, Lusby *et al.* (1981) reported that cows with early-weaned calves gained on average 0.5 kg/day during a 2 mo breeding period. This has important practical implications because these cows





will have greater stores of fat at the beginning of the subsequent winter and will probably have an enhanced BCS by the following calving.

Early weaning has been associated with increased labor and reduced growth rate of calves (Yavas and Walton, 2000b); therefore, this technique has had limited implementation by beef producers. In previous studies however, early-weaned male (Rubianes *et al.*, 2002) and female (de Castro *et al.*, 2004b) beef calves had less body weight after weaning compared to controls, but when the feed supply there was a compensatory growth within 10 mo after birth. Moreover, puberty was attained at similar age and live weight in heifers (de Castro *et al.*, 2004b) and bulls (Rubianes *et al.*, 2002). These findings suggest that early weaning has obvious benefits in rangeland systems when forage is sparse or cows have marginal BCS to the extent that rebreeding performance is compromised.

When suckled cows were treated with P4-EB in the present study, only 32% responded with luteal-phase P4 concentrations indicative of estrous cycle initiation within the first week after treatment; however, these cows resumed estrous cycles 10 d earlier than suckled, non-treated cows. Although there was not a large number of animals, results of the present study indicate a lesser response in the onset of estrous cycles than that reported by Fike *et al.* (1997) who found that 71% of anestrus cows responded to a similar treatment, but those cows had a greater BCS. Pregnancy rates after an estrus-induction treatment were less in cows with greater energy mobilization from body energy stores although BCS and body weight were not different between cows with greater or lesser pregnancy rates (Grimard *et al.*, 1997). In the present study, no differences were detected in BCS between cows with and without ovulations in response to the P4-EB treatment. Although these treatments have been used in postpartum *B. taurus* and *B. indicus* beef cows and resulted in approximately 50% pregnancy rates after FTAI (Bo *et al.*, 2005), using a large number of animals (13,500), there is a clear correlation between BCS and pregnancy rates following FTAI. In a previous study (de Castro *et al.*, 2001), primiparous cows with a marginal BCS (mean  $2.6 \pm 0.1$ , 1-8 scale) treated with P4-EB failed to have ovulations although signs of behavioral estrus were induced pharmacologically by the treatment. Thus, the lesser BCS in the present study could be the cause of the lesser ovulation response to P4-EB treatment in suckled cows. Bo *et al.* (1995) clearly showed that treatment with P4 and estradiol induced ovulation of new, healthy follicles in cattle having initiated estrous cycles following parturition; however, it is not clear if this mechanism is operative in anestrus cows, probably due to a different sensitivity of the LH secretory system to estradiol negative feedback (Rhodes *et al.*, 2002). Treatments of small doses of P4 in anestrus Jersey cows did not stimulate sufficient

pituitary release of LH to increase the size of the dominant follicle, and the association with EB treatment delayed subsequent follicular development (Rhodes *et al.*, 2002). In addition, Baruselli *et al.* (2005) showed that when prostaglandin-F<sub>2</sub> $\alpha$  was administered to Zebu heifers at the beginning of a P4-EB treatment to reduce P4 concentrations, a greater ovulation response was observed because the dominant follicle was allowed to reach a larger diameter. Thus, maybe P4-EB treatments applied to low-BCS anestrus cows are exerting greater negative feedback on LH release resulting in a smaller dominant follicle and a reduced ovulation response. On the other hand, the use of eCG stimulates follicular growth and has been shown to increase cyclicity and pregnancy rates in cows with nutritional stress (Roche *et al.*, 1992; Macmillan and Burke, 1996; Bo *et al.*, 2003). The administration of eCG at P4 device removal in suckled cows with a low BCS and/or in the absence of large follicles ( $\leq 8$  mm) increased pregnancy rates after FTAI (Bo *et al.*, 2003; 2005). Therefore, these low-BCS, suckled cows may require the addition of eCG to assure final follicular development and ovulation to enhance pregnancy rates. The marginal response confirms results of previous studies (Grimard *et al.*, 1997) where lesser pregnancy rates after estrus synchronization/induction treatments in postpartum cows are mainly due to a lesser ovulation rate.

Considering that conception should occur by approximately 85 d postpartum to obtain 1 calf/cow/year, early weaning at the beginning of the breeding season in anestrus beef cows with a marginal BCS appears to be an acceptable alternative to enhance pregnancy rates in beef herds grazing under rangeland conditions. The association of P4-EB treatment with early weaning induced a greater percentage of cows to initiate estrous cycles within the first week of mating. This program would be useful to concentrate and advance the onset of the subsequent calving season, thus yielding a more uniform calf crop with heavier calf weights and also allowing cows to have more time to restore for subsequent breeding season. The lesser proportion of suckled cows responding to P4-EB suggests that these treatments should not be used for cows with a marginal BCS.

### Acknowledgments

The authors want to thank to Pedro Chocho, Mario Elizalde, and the staff of UTU "La Carolina" for providing and handling animals, Milton Pintos for permanent assistance, Stella Lanzzari for the progesterone assay, Celia Tasende and Jose Piaggio for assistance with data analyses, and Sergio Kmaid from Universal Lab for providing the CIDR-B devices. This research was supported by the International Foundation for Science, Stockholm, Sweden, through a grant to Teresa de Castro (B/3088-1) and by CSIC-UdelaR, Uruguay.

## References

- Arthington JD, Kalmbacher RS.** 2003. Effect of early weaning on the performance of three-year-old, first-calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *J Anim Sci*, 81:1136-1141.
- Baruselli P, Bo GA, Reis EL, Marques MO, Sa Filho MF.** 2005. Introduction of FTAI to reproductive management of beef herds in Brazil. *In: Proceedings of 6<sup>th</sup> International Symposium on Animal Reproduction*, 2005, Cordoba, Argentina. Cordoba: Instituto de Reproduccion Animal. pp.151-176.
- Baruselli P, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA.** 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*, 82-83:479-486.
- Bo GA, Baruselli PS, Martínez MF.** 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*, 78:307-326.
- Bo GA, Adams GP, Caccia M, Martínez M, Pierson RA, Mapletoft RJ.** 1995. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. *Anim Reprod Sci*, 39:193-204.
- Bo GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Aviles M, Menchaca A, Veneranda G, Baruselli PS.** 2005. Implementation of AI programs in beef herds of Argentina. *In: Proceedings of 6<sup>th</sup> International Symposium on Animal Reproduction*, 2005, Cordoba, Argentina. Cordoba: Instituto de Reproduccion Animal. pp.97-128.
- de Castro T, Valdez L, Rodriguez M, Benquet N, Rubianes E.** 2004a. Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storing conditions. *Trop Anim Health Prod*, 36:381-384.
- de Castro T, Ibarra D, Valdez L, Lapitz L, Benquet N, Garcia Lagos F, Farro G, Lanzieri S.** 2004b. Does early weaning influence age at puberty in beef heifers? *In: Proceedings of 15<sup>th</sup> International Congress of Animal Reproduction*, Porto Seguro, Brazil. Belo Horizonte, Brazil: CBRA. pp.21. (abstract).
- de Castro T, Ibarra D, Garcia Lagos F, Valdez L, Rodriguez M, Benquet N, Laborde D, Irazabal P, Rubianes E.** 2001. Effects of early or temporary weaning and progesterone-EB treatments on reproductive performance of low BCS primiparous cows. *In: Proceedings of 4<sup>th</sup> International Symposium on Animal Reproduction*, Cordoba, Argentina. Cordoba: Instituto de Reproduccion Animal. pp.254. (abstract).
- Earle D.** 1976. A guide to scoring dairy cow condition. *J Agric Farmers Victoria*, 74:228-231.
- Fike KE, Day ML, Inskeep EK, Kinder JE, Lewis PE, Short RE, Hafs HD.** 1997. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J Anim Sci*, 75:2009-2015.
- Grimard B, Humblot P, Mialot JP, Jeanguyot N, Sauviant D, Thibier M.** 1997. Absence of response to estrus induction and synchronization treatment is related to lipid mobilization in suckled beef cows. *Reprod Nutr Dev*, 37:129-140.
- Hoffman DP, Stevenson J, Minton JE.** 1996. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *J Anim Sci*, 74:190-198.
- Laster DB, Glimp HA, Gregory KE.** 1973. Effects of early weaning on postpartum reproduction of cows. *J Anim Sci*, 36:734-740.
- Lusby KS, Wettemann RP, Turman EJ.** 1981. Effects of early weaning from first-calf heifers on calf and heifer performance. *J Anim Sci*, 53:1193-1197.
- Macmillan KL, Burke CR.** 1996. Effects of estrous cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, 42:307-320.
- Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG.** 2000. The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. *J Anim Sci*, 7:1917-1929.
- McSweeney CS, Kennedy PM, D'Occhio MJ, Fitzpatrick LA, Reid D, Entwistle KW.** 1993. Reducing post-partum anestrus interval in first-calf *Bos indicus* crossbred beef heifers. II. Response to weaning and supplementation. *Aust J Agric Res*, 44:1079-1092.
- Randel RD.** 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J Anim Sci*, 68:853-862.
- Rhodes FM, Burke CR, Clark BA, Day ML, Macmillan KL.** 2002. Effect of treatment with progesterone and estradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrus cows which have resumed estrous cycles. *Anim Reprod Sci*, 69:139-150.
- Roche JF, Crowe MA, Boland MP.** 1992. Postpartum anestrus in dairy and beef cows. *Anim Reprod Sci*, 28:371-378.
- Rubianes E, Valdez L, Rodriguez M, Garcia Lagos F, Benquet N, Pinczak A, Ibarra D, de Castro T.** 2002. Prepuberal changes in bull beef calves after early or traditional weaning. *In: Proceedings of VI International Symposium of Reproduction in Domestic Ruminants*, Crieff, Scotland, UK. City Publishing House. pp.A67. (abstract).
- SAS.** 1999/2000. Statistical Analysis Systems: Version 8.01. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE.** 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci*, 68:799-816.
- Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP, Williams GL.** 1993. Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biol Reprod*, 49:1338-1346.
- Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG.** 1998. Effect of calf isolation on follicular wave



dynamics, gonadotrophin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either two energy levels postpartum. *Biol Reprod*, 59:77-783.

**Stata.** 2003. Statistical software: release 8.2. College Station, TX: Stata Corporation.

**Vizcarra JA, Ibañez W, Orcasberro R.** 1986. Repeatability and reproducibility of two systems to evaluate body condition in Hereford beef cows. *Inv Agron*, 7:45-47.

**Williams GL, Griffith MK.** 1995. Sensory and

behavioral control of gonadotrophin secretion during suckling mediated anovulation in cows. *J Reprod Fertil*, 49:463-475.

**Williams GL.** 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J Anim Sci*, 68:831-852.

**Yavas Y, Walton JS.** 2000a. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, 54:1-23.

**Yavas Y, Walton JS.** 2000b. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, 54:25-55.

---

# Resumption of postpartum ovarian cyclicity after different suckling manipulation treatments in primiparous beef cows

T. de Castro<sup>A,B,E</sup>, D. Ibarra<sup>B,C</sup>, M. Rodriguez<sup>B</sup>, L. Valdez<sup>B</sup>, N. Benquet<sup>B</sup> and E. Rubianes<sup>D</sup>

<sup>A</sup>Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Fundación IRAUy, Camino Cruz del Sur 2250, Montevideo, Uruguay.

<sup>B</sup>Department of Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Sciences, Lasplacas 1550, 11600 Montevideo, Uruguay.

<sup>C</sup>Department of Bovines, Faculty of Veterinary Sciences, Lasplacas 1550, 11600 Montevideo, Uruguay.

<sup>D</sup>Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, Garzón 780, Montevideo, Uruguay.

<sup>E</sup>Corresponding author. Email: tdec@adinet.com.uy

**Abstract.** The aims of this experiment were to study suckling manipulation strategies, such as early weaning, suckling inhibition with nose plates or temporary weaning for 5 days, on resumption of ovarian cyclicity in anoestrous beef cows. Seventy-four primiparous Aberdeen Angus and Hereford cows with a mean body condition score of  $3.8 \pm 0.1$  (mean  $\pm$  s.e.m, 1–8 scale) grazing together on rangeland were used. At 71 days postpartum (Day 0) animals were assigned to one of four groups as follows: (1) suckling group (S,  $n = 14$ ): cows were suckled throughout all the experiment; (2) nose plates group (NP,  $n = 20$ ): nose plates were placed to calves for 14 days; (3) temporary weaning group (TW5d,  $n = 20$ ): calves were isolated from their dams for 5 days; (4) early weaning group (EW,  $n = 20$ ): calves were definitely weaned. After treatments, weekly serum progesterone concentrations were measured for 9 weeks. EW and NP cows had shorter intervals between treatments and resumption of ovarian cyclicity ( $19.6 \pm 1.7$  and  $24.5 \pm 3.3$  days versus  $40.6 \pm 3.5$  and  $37.5 \pm 4.0$  days for EW, NP, TW5d and S, respectively,  $P < 0.01$ ). A higher proportion of the EW group showed luteal progesterone concentrations the first week after treatments (20 versus 5, 0 and 0% for EW, NP, TW5d and S, respectively,  $P < 0.05$ ), then proportions of EW and NP cows resuming postpartum cyclicity were similar throughout the remainder of the study. Temporary weaning for 5 days showed no effects on ovarian cyclicity resumption. When body condition score is not very limiting, restricting suckling over 14 days with nose plates is a useful strategy to induce postpartum cyclicity in range cow herds with effects similar to early weaning.

**Additional keywords:** early weaning, nose plates, temporary weaning.

## Introduction

Suckling and undernutrition determine the length of postpartum anoestrous interval and therefore are impediments to biological and economic efficiency in range cow herds (Randel 1990; Hawkins *et al.* 2000; Yavas and Walton 2000). Uruguay has more than 12 million beef cattle raised predominantly on extensive rangeland conditions and national weaning rates are less than desirable (mean 62%), mainly due to extended postpartum anoestrous intervals (Quintans *et al.* 2009). Strategic management of suckling at the beginning of the breeding season to shorten postpartum anoestrous interval and to ensure that conception can occur appears to be essential in systems that have a great dependence on range vegetation (McSweeney *et al.* 1993; de Castro *et al.* 2006). Early weaning at 30–60 days postpartum induces cyclicity and increases pregnancy rates in anoestrous beef cows (Williams 1990; Hoffman *et al.* 1996; de Castro *et al.* 2006). However, it has been associated with increased labour and difficult management of the early weaned calf, consequently it is recommended in situations when cows are in such poor body condition at breeding that adequate rebreeding performance is compromised (Yavas and Walton

2000). Beef production systems in Uruguay normally wean their calves at 5 or 6 months of age, so weaning at 70 days postpartum is considered early weaning (de Castro *et al.* 2006). Intermediate alternatives such as temporary weaning or restriction of weaning with nose plates could be useful in situations when body condition score (BCS) is not very limiting (Stahring 2001). Effects of temporary weaning for 48–96 h on resumption of ovarian cyclicity and subsequent pregnancy rates are highly variable depending mainly on BCS, days postpartum and parity (Makarechian and Arthur 1990; Williams 1990). Application of nose plates to calves to temporarily prevent suckling is commonly used by cow-calf producers and can be a low-cost alternative to shorten postpartum anoestrous interval (Holness and Hopley 1978; Mukasa-Mugerwa *et al.* 1991; Stahring 2001). However, solid results under field conditions are scarce (Mukasa-Mugerwa *et al.* 1991; Quintans *et al.* 2009). The aims of this experiment were to study the effectiveness of different suckling manipulation strategies such as early weaning, suckling inhibition with nose plates or temporary weaning for 5 days, on resumption of ovarian cyclicity of primiparous beef cows.

## Materials and methods

This study was conducted at 'UTU La Carolina' farm, Flores, Uruguay (34°S) from December to February, using 74 primiparous Aberdeen Angus and Hereford cows that calved normally between 1 September and 1 November and were kept together grazing on rangeland. BCS was assessed fortnightly during the experimental period using a scale of 1–8, whereby 1 = severe emaciation and 8 = obese (Vizcarra *et al.* 1986). Cows used in the study had a moderate BCS at the beginning of the experiment (mean  $\pm$  s.e.m.,  $3.8 \pm 0.1$ ) and had a mean liveweight of  $375.5 \pm 3.3$  kg.

Both ovaries of each cow were examined twice, 14 days apart (Days -14 and 0) using a real-time B-mode scanner equipped with a 7.5-MHz linear array transducer (Aloka 500, Aloka, Japan) to determine presence of a corpus luteum. After ultrasonography, uterine tone was palpated and scored as flaccid, moderate or intense. Anovulatory status was confirmed in all cows by the absence of a corpus luteum and palpation of a flaccid uterine tone at both examinations.

According to BCS, postpartum interval and breed animals were assigned to 1 of 4 homogeneous groups. Day 0 ( $71.4 \pm 1.6$  days postpartum) was the day when suckling manipulation treatments were initiated. Treatments were as follows: (1) suckling group (S,  $n = 14$ ): cows were suckled throughout the experiment; (2) nose plates group (NP,  $n = 20$ ): in order to prevent suckling nose plates were placed onto calves for 14 days; (3) temporary weaning group (TW5d,  $n = 20$ ): calves were isolated from their dams for 5 days; (4) early weaning group (EW,  $n = 20$ ): calves were definitely weaned at 71 days postpartum.

After treatments, blood samples were collected weekly by tail vein venipuncture for 9 weeks (coinciding with duration of breeding season). Samples were immediately refrigerated in an ice box and centrifuged at 2000g at room temperature within 4 h after collection (de Castro *et al.* 2004). Serum was separated and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until assayed for progesterone. Serum progesterone concentrations were measured using a solid phase  $^{125}\text{I}$  radioimmunoassay kit (Diagnostic Product Co., Los Angeles, CA, USA). The detection limit of the assay was 0.1 ng/mL and the intra- and inter-assay coefficients of variation were 6.4 and 8.0%, respectively. Progesterone concentrations  $\geq 1$  ng/mL for at least 2 consecutive weekly samples were taken as indicative of the resumption of ovarian activity associated with ovulation (McSweeney *et al.* 1993; Silveira *et al.* 1993).

### Statistical analyses

Intervals of days between treatments and resumption of ovarian cyclicity in different groups were compared using ANOVA, Chi-square analysis was used to compare proportions of cycling cows on different weeks after treatments and effects of group, time and group  $\times$  time on BCS were analysed by mixed procedure using the Statistical Analysis System (SAS, 1999–2000, Cary, NC, USA). Results are expressed as mean  $\pm$  s.e.m.

## Results

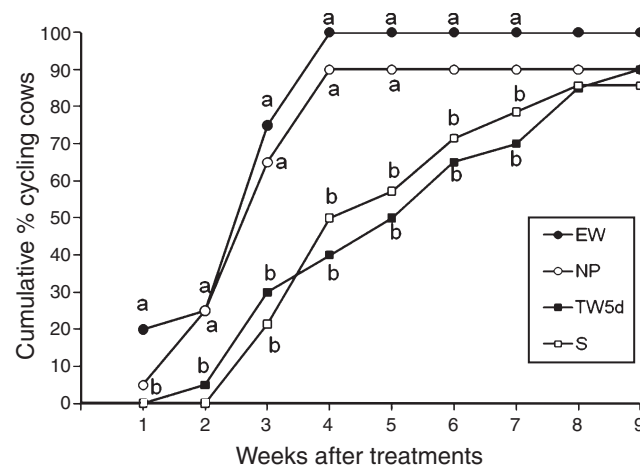
The proportion of cows cycling in successive weeks after application of the different suckling manipulation techniques (according to progesterone concentrations  $>1$  ng/mL) are

shown in Fig. 1. A higher proportion of cows from the EW group resumed cyclicity the first week after treatments (Fig. 1), while inhibiting suckling by placing nose plates to calves exerted a similar effect than early weaning on resumption of postpartum cyclicity during the remainder of the study. In contrast temporary weaning for 5 days had no effect on ovarian cyclicity resumption. The first month after treatments 90–100% of EW and NP cows were cycling compared with only 40–50% of TW5d and S cows ( $P < 0.05$ ). Therefore, EW and NP cows had shorter intervals between treatments and resumption of ovarian cyclicity ( $19.6 \pm 1.7$  and  $24.5 \pm 3.3$  days, respectively), compared with TW5d and S cows ( $40.6 \pm 3.5$  and  $37.5 \pm 4.0$  days, respectively,  $P < 0.01$ ). Since treatments were performed at 70 days postpartum TW5d and S cows showed a postpartum anovulatory interval  $\geq 110$  days.

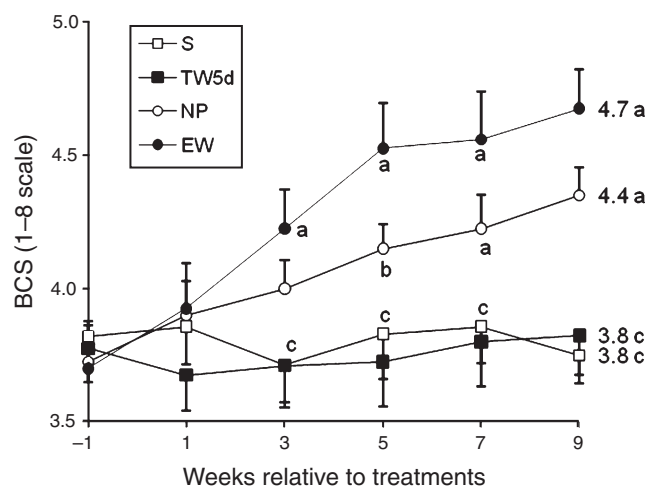
Changes in BCS after treatments in cows that were kept together grazing on rangeland are shown in Fig. 2. An effect of group ( $P < 0.0001$ ), time ( $P < 0.0001$ ), and group  $\times$  time ( $P < 0.0001$ ) on BCS was found. As can be seen in Fig. 2, EW cows immediately increased their BCS and 5 and 9 weeks after treatments showed higher BCS than S cows by 0.7 and 0.9 points, respectively. Cows that were prevented from being suckled with the application of nose plates to the calves for 14 days increased their BCS during the breeding period and maintained 0.6 points of BCS more ( $P < 0.05$ ) than S cows 9 weeks later. BCS of S and TW5d cows remained constant throughout the study.

## Discussion

This study clearly shows that early weaning and suckling inhibition for 14 days with nose plates at 70 days postpartum in moderate BCS primiparous cows were effective in stimulating postpartum cyclicity with the maximum number of cows cycling the first month after treatments. Calf isolation increased luteinising hormone pulsatility and induces cyclicity in



**Fig. 1.** Cumulative percentage of primiparous cows reassuming cyclicity (progesterone concentrations  $>1$  ng/mL) after early weaning (EW), inhibition of suckling with nose plates applied to calves over 14 days (NP), temporary weaning for 5 days (TW5d) or cows that were continuously suckled (S). Suckling manipulation treatments were performed at 71 days postpartum. For the same date different superscripts differ at  $P < 0.05$ .



**Fig. 2.** Changes in body condition score (BCS) in primiparous beef cows kept together grazing on rangeland after: early weaning (EW), inhibition of suckling with nose plates applied to calves over 14 days (NP), temporary weaning for 5 days (TW5d) or cows that were continuously suckled (S). Suckling manipulation treatments were done at 71 days postpartum. For the same date different superscripts differ at  $P < 0.05$ .

anoestrous beef cows (Williams 1990; Stagg *et al.* 1998), therefore, early weaning before the breeding season has been associated with enhanced postpartum rebreeding efficiency in beef herds (Laster *et al.* 1973; Lusby *et al.* 1981; Arthington and Kalmbacher 2003), which is consistent with the present results. Similarly to early reports (Lusby *et al.* 1981) early weaning exerted a positive effect on BCS recovery, possibly due to a reduction of nutrient requirements for milk production.

Although it has been stated that continual presence of a cow's calf is an essential component in suckling-mediated anovulation (Silveira *et al.* 1993; Yavas and Walton 2000) in the present study the presence of a non-suckling nose-plated calf shortened the interval to first ovulation. It has been shown that earlier in the postpartum period the presence of a penned calf without suckling shortened the interval to first ovulation compared with unrestricted suckled cows (Hoffman *et al.* 1996; Lamb *et al.* 1999), moreover, dams maintained with their own muzzled calves that did not pseudo-suckle exhibited the typical luteinising hormone pulse frequency associated with weaning (Silveira *et al.* 1993). One study found a reduction in postpartum anoestrous length with application of nose plates although this was longer compared with permanently weaned cows (Mukasa-Mugerwa *et al.* 1991). Moreover, when nose plates were applied at 14 or 21 days, pregnancy rates were increased in cows with moderate BCS while no effect was found in low BCS cows (Stahringer 2001). Induction of cyclicity observed in NP cows suggests that this can be useful in increasing rebreeding efficiency. In the present study, cows whose calves received nose plates for 14 days increased their BCS, showing that demands for milk production were reduced. Hence, the effects of suckling restriction with nose plates on resumption of ovarian cyclicity could be exerted via interruption of suckling-mediated inhibition of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and/or reduction of energy requirements for milk production.

Temporary calf removal for 5 days did not show any advantageous effects on resumption of ovarian cyclicity. Results regarding application of temporary weaning are controversial, with some studies reporting reduced postpartum anoestrous duration and increased pregnancy rates after 48–72-h calf removal (Smith *et al.* 1979; Tervit *et al.* 1982; Alberio *et al.* 1984), while others found no effects of 48-h calf removal on pregnancy rates (Makarechian and Arthur 1990). Earlier reports suggest that up to 6 days of calf removal were necessary to ensure ovulation in all cows in good BCS (Williams 1990), consequently maybe the duration of calf removal should be prolonged to find consistent results; however, it would be associated with extra management and feeding costs of the calves. Duration of postpartum anovulatory period of 110 days in suckled primiparous cows in the present study is representative of common range conditions that account for the low weaning rates of 63% historically observed in beef herds in Uruguay.

## Conclusions

This study demonstrates that when BCS is not limiting, restricting suckling over 14 days with nose plates at the beginning of the breeding season is a useful strategy to induce postpartum cyclicity in range cow herds. Temporary weaning for 5 days was ineffective in inducing cyclicity in postpartum beef cows.

## Acknowledgements

The authors thank Pedro Chocho, Mario Elizalde and the staff of UTU 'La Carolina' for providing and handling animals; Milton Pintos for permanent assistance and Stella Lanzzeri for the progesterone assay. This research was supported by the International Foundation for Science, Stockholm, Sweden, through a grant to Teresa de Castro (B/3088-1), by CSIC-UdelaR, Uruguay and SNI-ANII (National Researchers System).

## References

- Alberio RH, Butler HM, Palma G, Schiersmann GCS, Mihura H (1984) Effects of temporary weaning on postpartum sexual reactivation of primiparous beef cows. *Revista Argentina de Produccion Animal* **4**, 933–940.
- Arthington JD, Kalmbacher RS (2003) Effect of early weaning on the performance of three-year-old, first-calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *Journal of Animal Science* **81**, 1136–1141.
- de Castro T, Valdez L, Rodriguez M, Benquet N, Rubianes E (2004) Decline in assayable progesterone in bovine serum under different storing conditions. *Tropical Animal Health and Production* **36**, 381–384. doi:10.1023/B:TROP.0000026669.06351.26
- de Castro T, Valdez L, Rodriguez M, Benquet N, García Lagos F, Ibarra D, Rubianes E (2006) Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anoestrous beef cows. *Animal Reproduction* **3–4**, 396–402.
- Hawkins DE, Petersen MK, Thomas MG, Sawyer JE, Waterman RC (2000) Can beef heifers and young postpartum cows be physiologically and nutritionally manipulated to optimize reproductive efficiency? In 'Proceedings of the American Society of Animal Science 1999'. pp. 1–10. (American Society of Animal Science: Miles City, MT, USA)
- Hoffman DP, Stevenson J, Minton JE (1996) Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *Journal of Animal Science* **74**, 190–198.
- Holness DH, Hopley JDH (1978) The effects of plane of nutrition, live weight, temporary weaning and breed on the occurrence of oestrus in beef cows during the postpartum period. *Animal Production* **26**, 47–54. doi:10.1017/S0003356100011995

- Lamb GC, Miller BL, Lynch JM, Thompson KE, Heldt JS, Löest CA, Grieger DM, Stevenson JS (1999) Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. *Journal of Animal Science* **77**, 2207–2218.
- Laster DB, Glimp HA, Gregory KE (1973) Effects of early weaning on postpartum reproduction of cows. *Journal of Animal Science* **36**, 734–740.
- Lusby KS, Wettemann RP, Turman EJ (1981) Effects of early weaning from first-calf heifers on calf and heifer performance. *Journal of Animal Science* **53**, 1193–1197.
- Makarechian M, Arthur PF (1990) Effects of body condition and temporary calf removal on reproductive performance of range cows. *Theriogenology* **34**, 435–443. doi:10.1016/0093-691X(90)90002-B
- McSweeney CS, Kennedy PM, D'Occhio MJ, Fitzpatrick LA, Reid D, Entwistle KW (1993) Reducing post-partum anoestrous interval in first-calf *Bos indicus* crossbred beef heifers. II. Response to weaning and supplementation. *Australian Journal of Agricultural Research* **44**, 1079–1092. doi:10.1071/AR9931079
- Mukasa-Mugerwa E, Tegegne A, Franceschini R (1991) Influence of suckling and continuous cow-calf association on the resumption of postpartum ovarian function in *Bos indicus* cows monitored by plasma progesterone profiles. *Reproduction, Nutrition, Development* **31**, 241–247. doi:10.1051/rnd:19910305
- Quintans G, Vázquez AI, Weigel KA (2009) Effect of suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrous interval in primiparous cows under range conditions. *Animal Reproduction Science* **116**, 10–18. doi:10.1016/j.anireprosci.2008.12.007
- Randel RD (1990) Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* **68**, 853–862.
- Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP, Williams GL (1993) Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of Reproduction* **49**, 1338–1346. doi:10.1095/biolreprod49.6.1338
- Smith MF, Burrell WC, Shipp LD, Spratt LR, Songster WN, Wiltbank JN (1979) Hormone treatments and use of calf removal in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* **48**, 1285–1292.
- Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG (1998) Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction* **59**, 777–783. doi:10.1095/biolreprod59.4.777
- Stahring R (2001) Management strategies for postpartum anoestrous beef cows. In 'Proceedings of VII National Veterinary Congress, Uruguay'. (Uruguayan Society of Veterinary Medicine: Montevideo, Uruguay)
- Tervit HR, Smith HF, Goold PG, Jones KR, Vandien JJD (1982) Reproductive performance of beef cows following temporary removal of calves. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* **42**, 83–89.
- Vizcarra JA, Ibañez W, Orcasberro R (1986) Repeatability and reproducibility of two systems to evaluate body condition in Hereford beef cows. *Investigaciones Agronómicas* **7**, 45–47.
- Williams GL (1990) Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal of Animal Science* **68**, 831–852.
- Yavas Y, Walton JS (2000) Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology* **54**, 25–55. doi:10.1016/S0093-691X(00)00323-X

Manuscript received 26 June 2010, accepted 12 November 2010