

# VII Simposio Internacional de Reproducción Animal

**Córdoba, Argentina  
29, 30 de Junio y 1 de Julio de 2007**

**Traducciones  
IMTT Translation & Training  
[www.imtt.com.ar](http://www.imtt.com.ar)**

---

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
Jerónimo Luis de Cabrera 106, (X5000GVD) Córdoba, Argentina  
Tel/Fax 54 0351 4710559/5418/0669  
e-mail: [irac@iracbiogen.com.ar](mailto:irac@iracbiogen.com.ar)



**COMISION ORGANIZADORA**

**Coordinador General**

Humberto Tríbulo  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Universidad Nacional de Córdoba

**Coordinador Científico**

Gabriel A. Bó  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba  
Facultad de Ciencias Agropecuarias

**Secretaria Ejecutiva**

Mercedes Tríbulo  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba

**Secretaría Administrativa**

Ricardo Tríbulo  
Cdor. Gabriel UllioPatricia Venencia

**Secretaria Técnica**

Dolores Moreno  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba

**Comité Evaluador**

Marcelo Aba  
Javier Aguilar  
Armonía Alonso  
Juan Aller Atucha  
Julian Bartolome  
Martha Beconi  
Gabriel Bo  
Guillermo Brogliatti  
Jorge Cabodevilla  
Santiago Callejas  
Carlos Coronel  
Marcela Cueto  
Lucas Cutaia  
Teresa de Castro  
Luzbel de la Sota  
Mónica de los Reyes  
Alejandro Gibbons  
Marcelo Miragaya  
Dolores Moreno  
Belen Rabaglino  
Rodolfo Ungerfeld



**COORDINADORES REGIONALES**

Dr. Jorge Cabodevila  
Facultad de Ciencias Veterinarias, UNICEN, Tandil, Buenos Aires

Dra. Belén Rabaglino  
Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba

Dr. Raul Scarnatto  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes

Dr. Alejandro Nistal  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, Santa Fé

Dr. Julian Bartolome  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, Gral. Pico, La Pampa

Dr. Antonio Taboada  
Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fé

Mariano Aviles  
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Catolica de Cordoba, Cordoba

Dr. Javier Ortiz  
Facultad de Med. Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno,  
Santa Cruz de la Sierra, Bolivia

Luiz Felipe Krueel Borges  
Laboratorio De Biotecnología E Reproducao Animal, Universidade Federal De Santa Maria – Rs – Brasil

Dr Mario Duchens  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Dr. Rodolfo Ungerfeld  
Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Dr. Juan Carlos Hutter  
Unidersidad de El Salvador, Buenos Aires

Carolina Cristaldo  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asuncion, Paraguay

Dr. Ricardo Tribulo  
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chamical, La Rioja



**INDICE**

<b>FACTORES NUTRICIONALES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN GANADO LECHERO</b>	
JOSÉ EDUARDO SANTOS, UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA, TULARE, USA.	23
<b>CÓMO MEJORAR LA EFICIENCIA DEL TRASPASO NATURAL DE GENÉTICA MEJORADA EN RODEOS DE CARNE Y LECHEROS</b>	
MICHAEL MC. GOWAN, UNIVERSIDAD DE QUEENSLAND, AUSTRALIA.	47
<b>APLICAÇÃO INTEGRADA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA OVULAÇÃO E MANEJO REPRODUTIVO EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS EM CONDIÇÕES EXTENSIVAS</b>	
PIETRO SAMPAIO BARUSELLI, USP, SAO PAULO, BRASIL.	55
<b>PROGRAMAS DE SINCRONIZACION DE CELOS EN VAQUILLONAS DE CARNE: PUNTOS CRITICOS A TENER EN CUENTA</b>	
LUCAS CUTAIA. IRAC, CORDOBA, ARGENTINA	83
<b>EL IMPACTO DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (BVD) SOBRE EL RESULTADO DEL USO DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN RODEOS LECHEROS Y DE CARNE.</b>	
MICHAEL MC. GOWAN, UNIVERSIDAD DE QUEENSLAND, AUSTRALIA.	95
<b>IMPROVING REPRODUCTION USING MORE EFFECTIVE PREGNANCY DIAGNOSIS AND RESYNCH STRATEGIES IN DAIRY CATTLE</b>	
MILO WILTBANK, UNIVERSIDAD DE WISCONSIN, USA.	107
<b>MANEJO Y TRATAMIENTO DE VACAS LECHERAS NO CÍCLICAS O CON QUISTES FOLICULARES</b>	
MILO WILTBANK. UNIVERSIDAD DE WISCONSIN. USA.	119
<b>PERDIDAS DE PREÑEZ EN BOVINOS.</b>	
JOSÉ EDUARDO SANTOS, UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA, USA.	133
<b>SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUCCIÓN DE EMBRIONES EN EL LABORATORIO. PRODUCCIÓN DE EMBRIONES CON SEXO PREDETERMINADO.</b>	
RICHARD REMILLARD, IND LIFETECH, CANADA.	147
<b>AVANCES EN LA APLICACIÓN DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN EQUINOS.</b>	
LUIS LOSINNO, UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO. CÓRDOBA, ARGENTINA	157
<b>AVANCES EN LA APLICACIÓN DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN OVINOS Y CAPRINOS.</b>	
EDGARDO RUBIANES. URUGUAY.	165
<b>NUEVAS ALTERNATIVAS PARA LA SUPEROVULACIÓN DE DONANTES DE EMBRIONES.</b>	
GABRIEL BÓ. IRAC, CORDOBA, ARGENTINA	183

<b>COMUNICACIONES CORTAS</b>	<b>201</b>
<b>TEMA A: MANIPULACIÓN, CRIOPRESERVACIÓN Y CULTIVO DE GAMETAS</b>	<b>203</b>
EFECTO DEL SEMEN SEXADO POR MEDIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA FECUNDACIÓN IN VITRO Y LA ULTRAESTRUCTURA DE BLASTOCISTOS PRODUCIDOS IN VITRO GA Palma, Nora S. Olivier, Christine Neumüller <sup>1</sup> y Fred Sinowatz	205
CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS PATOLOGÍAS ESPERMÁTICAS PRESENTES EN SEMEN PORCINO FRESCO Y REFRIGERADO M. E. Torretta y M. B. Rabaglino	206
PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS POR TRANSFERENCIA NUCLEAR O PARTENOGENÉESIS, ACTIVADOS CON DIHIDROLEUCODINA G.D. Vichera y D.F. Salamote	207
PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS POR INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DEL ESPERMATOZOIDE (ICSI), ACTIVADOS CON DIHIDROLEUCODINA G. Vichera, J. Grasa, F. Pereyra-Bonnet, M. Silvestre y D. Salamote	208
EFECTO DE LA DIHIDROLEUCODIA COMO INHIBIDOR DE LA MEIOSIS EN OVOCITOS BOVINOS. M.G. Català, D.F. Salamone	209
PATRONES DE DISTRIBUCIÓN MITOCONDRIAL Y MADURACIÓN NUCLEAR EN OVOCITOS EQUINOS MADURADOS IN VITRO J. Aguilar, C. Mas, M. Reyley, R. Ludueña, H. Mouguelar, L. Losinno	210
COMPARACIÓN DE DOS DILUYENTES Y DOS TEMPERATURAS DE ENVASADO DE SEMEN BOVINO A.L. Migliorisi, M.L. Hernandez, M.V. Gómez, A.T. Soto, R.L. de la Sota	211
CLONACION, FERTILIZACION IN VITRO (FIV) Y ACTIVACION PARTENOGENETICA EN OVEJAS ADULTAS Y PREPUBERES Pereyra-Bonnet F., Gibbons, A., Cueto, M., Naim, P., y Salamone, D.	212
TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES EN OVEJAS PREPUBERES Pereyra-Bonnet F., Gibbons A., Cueto M., Naim P., Fernández-Martín F., Salamone D.	213
TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ICSI EN PORCINOS Olivera R., Pereyra-Bonnet F., Salamone D	214



PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS PARTENOGENÉTICOS HAPLOIDES O DIPLOIDES POR INDUCCIÓN DE LA EXTRUSIÓN DEL PRIMERO Y/O SEGUNDO CORPÚSCULO POLAR R. Bevacqua; D. Salamone	215
TRANSGÉNESIS EN FELINOS MEDIANTE INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI) UTILIZANDO OVARIOS FRESCOS Y REFRIGERADOS J.M. Jarazo, F. Pereyra-Bonnet, D.F. Salamote	216
UTILIZACIÓN DE DILUYENTES COMERCIALES PARA SEMEN FRESCO EN PROGRAMAS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO. M. Avilés, G. Cuestas, A. Brandán, M. Piccardi, G. Quiñones, L. Boretti, H. Tríbulo	217
 <b>TEMA B: BOVINOS</b>	
 <b>B1 SINCRONIZACION DE CELOS E INSEMINACION ARTIFICIAL</b>	
<b>219</b>	
RESULTADOS DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN PARA IATF DE VACAS CON CRÍA AL PIE Venturini, M. E, Leonahrd, O.	221
UTILIZACIÓN DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES USADOS POR SEGUNDA VEZ EN VACAS PRIMÍPARAS DESTETADAS TEMPORARIAMENTE Venturini, M. E., Leonahrd, O.	222
RESINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS ANGUS: USO DE 0,5 mg DE BENZOATO DE ESTRADIOL EN EL MOMENTO DE COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGIAL CON PROGESTERONA Madero, S.; De Dominis, O.; Cantalops, F.; Catalano, R. y Callejas, S.	223
USO DEL BENZOATO DE ESTRADIOL AL MOMENTO DE RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA O 24 HORAS DESPUES EN VACAS Y VAQUILLONAS PARA CRÍA Venturini, M.; Cledou, G. y Callejas, S.	224
RESINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS ANGUS: USO DE 0,7 mg DE BENZOATO DE ESTRADIOL EN EL MOMENTO DE COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA Madero, S.; De Dominis, O.; Cantalops, F.; Uslenghi, G. y Callejas, S	225
EFFECTO DE DOS DOSIS DE CIPIONATO DE ESTRADIOL ADMINISTRADAS AL FINALIZAR UN TRATAMIENTO CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF Madero, S.; De Dominis, O.; Cantalops, F.; Uslenghi, G. y Callejas, S.	226

EFEECTO DE LA eCG ADMINISTRADA AL FINAL DE UN TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS PARA CARNE De Dominicis, O.; Madero, S.; Cantallops, F. y Callejas, S.	227
USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VAQUILLONAS DE 15 MESES CON SERVICIO NATURAL Striebeck, G.; Cledou, G. y Callejas, S.	228
EFEECTO DE LA PERMANENCIA (7 U 8 DÍAS) DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 0,558 g DE PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF, RETORNO y FINAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO Callejas, S.; Ochionero, P.; Gonzalez Chaves, S. y Cledou, G.	229
EFEECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL MOMENTO DE COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 0,5 g DE PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS PARA CRÍA González Chaves, S.; Chayer, R. y Callejas, S.	230
EFEECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS BRAFORD Callejas, S.; Tous, F.; Benitez, J.P. y Cledou, G.	231
EFEECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL MOMENTO DE COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 1 g DE PROGESTERONA Y DE LA DURACIÓN DEL TRATAMIENTO SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS ANGUS González Chaves, S.; Chayer, R.; Catalano, R.; Cabodevila, J. y Callejas, S.	232
CONTROL DEL CICLO ESTRAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO: COMPARACIÓN ENTRE EL PROTOCOLO OVSYNCH Y DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA Callejas, S.; Calá, V.; Catalano, R.; Ersinger, C.; Cabodevila, J. y Teruel, M.	233
CONTROL FARMACOLÓGICO DEL CICLO ESTRAL EN VACAS HOLANDO ARGENTINO EN PRODUCCIÓN UTILIZANDO UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA COMBINADO CON BENZOATO DE ESTRADIOL O Ngr. Callejas, S.; Ochionero, P.; Cledou, G. y Gonzalez Chavez, S.	234
USO DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE PROGESTERONA PARA CONTROLAR EL CICLO ESTRAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO INSEMINADAS A TIEMPO FIJO Callejas, S.; Ochionero, P.; Gonzalez Chavez, S. y Cledou, G.	235

USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VACAS DE CRÍA CON SERVICIO NATURAL Callejas, S.; Alvarez Castillo, S.; Zarzaso, M. y Cledou, G.	236
EFEITO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL COMENZAR UN TRATAMIENTO CON PROGESTERONA Y DEL USO DE BE O GnRH EN VAQUILLONAS SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF Vater, A.; Rodríguez Aguilar, S.; Otero Illia, M.; Cabodevila, J. y Callejas, S.	237
USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VACAS CON SERVICIO NATURAL Vater, A.; Rodríguez Aguilar, S. y Callejas, S.	238
EFEITO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL MOMENTO DE COLOCAR DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA NUEVOS O USADOS SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF Vater, A.; Rodríguez Aguilar, S.; Otero Illia, M.; Cabodevila, J. y Callejas, S.	239
EFEITO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA Y DEL SEMEN USADO SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF Vater, A.; Rodríguez Aguilar, S.; Otero Illia; Cabodevila, J. y Callejas, S.	240
EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS CON CRÍA INSEMINADAS A TIEMPO FIJO y RESINCRONIZADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA O EL PROTOCOLO COWSYNCH® Vater, A.; Ciancaglini, L Rodríguez Aguilar, S.; Cabodevila, J. y Callejas, S.	241
EVALUACION DEL USO DE DOS ESTERÉS DE ESTRADIOL SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD A LA IATF EN VACAS SECAS, TRATADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA. Cesaroni, G, Butler, H.M, Durand, M.J.	242
EFEITO DE LA APLICACIÓN DE ECG EN PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS EN LACTANCIA. L. Mian, G.M. Brogliatti.	243
EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA CIRCULANTE AO INÍCIO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO SOBRE A TAXA DE PREENHEZ À IATF EM NOVILHAS D.M. de Azeredo, D.C. Rocha, A. Beskow, B.P.L. Petrucci, R. Costa Mattos e R. Macedo Gregory	244
EFEITO DA REDUÇÃO NA DOSE DE BENZOATO DE ESTRADIOL AO FINAL DE UM PROTOCOLO PARA IATF EM NOVILHAS DE CORTE D.C. Rocha, D.M. de Azeredo, A. Beskow, B.P.L. Petrucci, R. Costa Mattos e R. Macedo Gregory	245

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS A PRÁTICA DE DESMAME PRECOCE PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL R.L. Souza Neto, M.M. Dias, F.A. Velho, D.X. Thedy, D. Mendes, A. Barrera e J.B.S.Borges	246
EFFECTOS DE LA SINCRONIZACIÓN CON PROGESTERONA SOBRE LA PERFORMANCE REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS DE ALTA PRODUCCIÓN D. Ibarra , L. Prieto, J. Pimienta, A. Coronel, N. Costa, M. Alvarez y S. Kmaid	247
ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA EN UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN VACAS DE CRIA L. Zapata, R. Picco, J. Franco, P. Spada, J. Bartolomé	248
LA INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO UTILIZANDO PROGESTERONA Y BE + eCG Y GNRH MEJORA LA PERFORMANCE REPRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS EN ANESTRO D. Ibarra, A. Menchaca, A. Arrambide, L. Casas	249
EFFECTO DEL MOMENTO DE LA APLICACION DE PROSTAGLANDINA F2a Y DE LA DOSIS DE PROGESTERONA CONTENIDA EN UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VAQUILLONAS CRUZA <i>Bos indicus</i> INSEMINADAS A TIEMPO FIJO G.A. Bó, I. Reano, P. Chesta	250
RESPOSTA DO FOLÍCULO DOMINANTE A APLICAÇÃO PRÉVIA DE eCG E DESMAME TEMPORÁRIO COM DISTINTOS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO AO PROGESTÁGENO L.F. Borges, R. Ferreira, M. Barreta, G. Zamberlam, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves	251
COMPARACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN E INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN CON EXCESO DE DÍAS VACÍOS M. Duchens, P. Meléndez, L. Moraga	252
TASA DE PREÑEZ CON DIFERENTES DOSIS DE GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS <i>Bos indicus</i> EN EL PERÍODO POST PARTO J.M. Quezada , J.J. Ortiz	253
CIPIONATO DE ESTRADIOL vs. BENZOATO DE ESTRADIOL EN LA SINCRONIZACION DE CELO EN VACAS Y VAQUILLAS ANELORADAS L.F. Isnado , L.M. Quezada, J.J. Ortiz.	254
EFFECTO DE LA UTILIZACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL O DE GnRH Y DE LA APLICACION ANTICIPADA DE PGF EN VAQUILLONAS BRANGUS TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF L. Cutaia, M. Ramos, F. Castilla, G.A. Bó	255

EFEECTO DE LA UTILIZACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL O DE GnRH Y DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF EN VACAS HOLANDO EN LACTANCIA A. Vater, A. Rodríguez Aguilar; A. Cifuentes, L. Cutaia	256
EFEITO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO PROGESTÁGENO COM APLICAÇÃO PRÉVIA DE eCG E DESMAME TEMPORÁRIO EM VACAS PÓS-PARTO L.F. Borges, R. Ferreira, L. Siqueira, J. W. Borsthann, J. Santos, B. Gasperin, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves	257
EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG Y DE LA APLICACION ANTICIPADA DE PGF EN VAQUILLONAS BRANGUS TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF L. Cutaia, M. Ramos, F. Castilla, G.A. Bó	258
TASA DE PREÑEZ CON LA ADMINISTRACION DE GnRH 48 HS LUEGO DE UN TRATAMIENTO CON ESTRADIOL, PROGESTERONA y eCG EN VAQUILLONAS DE DOS AÑOS A. Menchaca, Guzmán Lopez	259
EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN PROTOCOLO DE IATF UTILIZANDO CIPIONATO DE ESTRADIOL EN VAQUILLAS Y VACAS CON CRÍA CRUZA CEBÚ. H. Feliciangeli, M. Rodríguez, M. Caniza	260
PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS CRUZA CEBU SIN CRÍA AL PIE TRATADAS CON CIPIONATO DE ESTRADIOL VERSUS BENZOATO DE ESTRADIOL EN PROGRAMAS DE IATF. H. Feliciangeli, M. Rodriguez, M. Caniza	261
UTILIZACIÓN DE DISPOSITIVOS PRO-CICLAR PREVIAMENTE UTILIZADOS EN PROTOCOLOS DE RESINCRONIZACIÓN A TIEMPO FIJO P. Dietrich, M. Canosa, B. Cieslowski, P. Chesta	262
EFEECTO DEL USO DE UN PROTOCOLO OVSYNCH VS DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 Y ESTRADIOL SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VACAS INSEMINADAS A TIEMPO FIJO P. Chesta, L. Cutaia, R. Ramirez, G. A. Bó	263
EFEECTO DE LA REALIZACION DE UN ENLATADO POR 14 DIAS O DEL USO DE UN TRATAMIENTO HORMONAL PARA MEJORAR LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VACAS EN ANESTRO EN SERVICIO NATURAL C. Rizzi, I. Esquenon, L Cutaia GA. Bo	264
EFEECTO DEL TRATAMIENTO POR 7 O 14 DÍAS EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS CRUZA CEBÚ POR BONSMARA. G.A. Bó, I. Reano, P. Chesta	265

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CIPIONATO DE ESTRADIOL AL INICIO DE UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACION DE CELOS SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VAQUILLONAS BRANGUS IATF G.A. Bó, M. Ramos, P. Chesta	266
TASAS DE PREÑEZ EN VAQUILLAS <i>Bos indicus</i> TRATADAS CON IMPLANTES DE NORGESTOMET Y DIFERENTES PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO F. Pita, R. Matute, G.A. Bo	267
TASA DE PREÑEZ LUEGO DE LA UTILIZACIÓN DE BENZOATO DE ESTRADIOL 24 HORAS ANTES O GnRH EN EL MOMENTO DE LA IATF EN VACAS MULTIPARAS PARA CARNE J.A. Vaca, A. Prando, A Baldo, R.L. de La Sota	268
EVALUACIÓN DE LAS TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA EN VACAS BRANGUS Y BRAFORD CON CRÍA D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, P. Chesta, M. Piccardi, A. Tríbulo, M. Ramos, I. Reano, C. E. Rojas, A. J. García, G.A. Bó	269
EVALUACION DE LAS TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA EN VAQUILLONAS BRANGUS Y BRAFORD D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, P. Chesta, M. Piccardi, A. Tríbulo, M. Ramos, I. Reano, C. E. Rojas, A. J. García, G.A. Bó	270
TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B EN VAQUILLONAS BRANGUS Y BRAFORD DURANTE EL OTOÑO-INVIERNO D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, A. Tríbulo, R. Tríbulo, G. A. Bó, M. Piccardi, P Chesta, I. Reano, C. E. Rojas, A. J. García.	271
<b>B2 SUPEROVULACIÓN DE DONANTES Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES</b>	<b>273</b>
EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE eCG EN TRATAMIENTOS DE SINCRONIZACION DE CELOS EN RECEPTORAS DE EMBRIONES E. Mamani, J. Ortiz y J. M. Quezada	275
RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA DE DOADORAS ANGUS TRATADAS A PARTIR DO D9-D12 DO CICLO ESTRAL OU SUBMETIDAS AO CONTROLE DA EMERGÊNCIA DA ONDA FOLICULAR COM DIB 0,5 OU CIDR-B J.B.S. Borges, Souza Neto, R.L. e J.Braccini Neto	276
SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS DE EMBRIONES TRATADAS CON CIDR, BENZOATO DE ESTRADIOL, D (+) CLOPROSTENOL, ASOCIADO O NO A eCG. J.M. Quezada, J.J. Ortiz	277

RESPUESTA SUPEROVULATORIA ENTRE OVARIO DERECHO Y OVARIO IZQUIERDO EN VACAS DONANTES D. Benavides Sanchez, J. Villareal, G. M. Brogliatti	278
RESPUESTA OVARICA Y NÚMERO DE EMBRIONES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS CON O SIN REGISTRO DE CELO PREVIO A. García Guerra, J. Villareal, A. Albrecht, G. Brogliatti	279
RESPUESTA OVARICA Y NÚMERO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS CON DIFERENTE SCORE CORPORAL A. García Guerra, D. Rodríguez, J. Villareal, A. Albrecht, G. Brogliatti	280
RESPUESTA OVARICA Y NÚMERO DE EMBRIONES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS EN DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL A. García Guerra, G.A. Bó, J. Villareal, A. Albrecht, G. Brogliatti	281
TITULACION DE DOSIS DEL EXTRACTO DE PITUITARIA OVINA OVAGEN® PARA LAS SUPERESTIMULACION DE VACAS DONANTES G. Brogliatti, A. Albrecht, J. Villarreal, L. Cutaia, G.A. Bó	282
TASA DE PREÑEZ EN TRANSFERENCIA DE EMBRIONES UTILIZANDO UN NUEVO MEDIO DE TRANSFERENCIA SINTÉTICO (SYNGRO) J.J. Ortíz , J.M. Quezada	283
UTILIZACION DE SEMEN SEXADO EN PROTOCOLOS DE SUPERESTIMULACION EN VACAS HOLSTEIN E. Balla, H. Tríbulo, F. Barberis, R. Tríbulo, S. Barberis, I. Reano, M.F. Martinez, G. A. Bó	284
EFFECTO DE LA DURACION DEL TRATAMIENTO SUPEROVULATORIO UTILIZANDO DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DISTINTA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA A. Tríbulo, H. Tríbulo, R. Tríbulo, G. A. Bó	285
EFFECTO DE LA DURACION DEL TRATAMIENTO SUPEROVULATORIO UTILIZANDO UN DISPOSITIVO CON PROGESTERONA Y FOLLTROPIN-V SOBRE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES DE DONANTES ANGUS Y BRANGUS A. Tríbulo, H. Tríbulo, R. Tríbulo, G. A. Bó	286
SUPERESTIMULACION DE LA PRIMERA ONDA FOLICULAR EN DONANTES DE EMBRIONES BONSMARA, SIN EL USO DE ESTRADIOL D. Carballo Guerrero, R. Tríbulo, H. Tríbulo, E. Balla, A Tríbulo, M. Piccardi, G.A. Bó	287
EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE CIPIONATO DE ESTRADIOL AL MOMENTO DEL RETIRO DE UN DISPOSITIVO CON PROGESTERONA O BENZOATO DE ESTRADIOL 24 H MÁS TARDE EN PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES A TIEMPO FIJO D. Carballo Guerrero, R. Tríbulo, E. Balla, A. Tríbulo, M. Piccardi, H. Tríbulo, G.A. Bó	288

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ECG DOS DÍAS PREVIOS AL INICIO DE LA SUPERESTIMULACION EN DONANTES DE EMBRIONES CON ANTECEDENTES DE BAJA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS TRADICIONALES D. Carballo Guerrero, A. Tríbulo, R. Tríbulo, E. Balla, H. Tríbulo, P. Chesta, L. Cutaia, M. Piccardi, I. Reano, J. M. Jerez, G. A. Bó.	289
<b>B3 TEMAS VARIOS</b>	<b>291</b>
EFFECTOS DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DE SINCRONIZACION DE PARTOS EN GANADO BOVINO DE CARNE J. A. Carbel	293
SEGUIMIENTO DE LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL, EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL Y ECOTEXTURA TESTICULAR EN TOROS CEBÚ BRAHMAN ENTRE 18 Y 24 MESES DE EDAD H. Lozano, C. Jiménez	294
MEDICIÓN DE PARÁMETROS ESPERMÁTICOS DE TOROS CRIOLLOS VS. OTROS <i>Bos taurus</i> EN ARGENTINA M. G. Lüssenhoff, G. Larraburu, R. Cavia, D. Rodríguez, A. Garcia Guerra, G. M. Brogliatti	295
EFFECTO DE LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS DE TAMBO G.A. Domínguez, L.V. Madoz, M. Magnasco, R.P. Magnasco, R.L. de la Sota	296
FERTILIDAD EN LECHERÍAS DE LA ZONA CENTRAL Y SUR DE CHILE C. Vergara, M. Duchens	297
DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS DE CORTE ENTRE 12 E 14 MESES DE IDADE APÓS O EMPREGO DE eCG J.F. Bragança, R. Ferreira, R. Bohrer, L.F. Borges, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves	298
ADMINISTRACION DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL DE PROGESTERONA EN VACAS EN ANESTRO DURANTE EL SERVICIO NATURAL PARA ADELANTAR LA CONCEPCION M. Colombo, P. DeVillafañe, G. Cledou, J. Bartolomé	299
PROGESTÁGENOS ASSOCIADOS À ESTROGENOS INDUZEM A ATRESIA DE FOLÍCULOS COM BAIXA DEPENDÊNCIA DE GONADOTROFINAS L. Siqueira, R. Ferreira, R. Loguercio, L.F. Borges, J.F. Oliveira, P.B. Gonçalves	300
EFFECTO DE UN PRIMING DE PROGESTERONA SOBRE LA TASA DE CICLICIDAD EN VAQUILLONAS DE 15 MESES DE EDAD P. Chesta, A. Brandan, G. Cuestas, P. Lozano, H. Tríbulo	301
PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CLÍNICA EN UN TAMBO COMERCIAL Y SU EFFECTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA	



M. Magnasco, R.P. Magnasco, R.L. de la Sota	302
EFFECTOS DE LOS ALTOS NIVELES DE UREA EN EL FLUIDO UTERINO SOBRE EL TEJIDO ENDOMETRIAL EN VACAS VACIAS Rabaglino, M. B.; Magariños, M. J.; Orias, F.	303
ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL CORRELACIONADOS CON PORCENTAJES DE PREÑEZ A CAMPO M. Avilés, G. Cuestas, A. Brandán, M. Piccardi G. Quiñones, L. Boretti, H. Tríbulo	304
NIVELES DE PROGESTERONA EN EL POSPARTO DE VACAS LECHERAS CON DIETAS ACIDÓGENAS EN EL PERÍODO SECO A. Alonso, V.A. Rodríguez, F.B. Cravero, E. Chinelatto	305
PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CLINICA Y SUBCLÍNICA DURANTE EL POSTPARTO DE VACAS DE TAMBO Y SU IMPACTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA L.V. Madoz, J. Ploentzke, D. Albarracin, M. Mejia, M. Drillich, R.L. de la Sota	306
DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA EN LECHE EN VACAS VACÍAS Y CÍCLICAS EN ORDEÑE TRATADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL DIB vs. VACAS PREÑADAS EN LACTANCIA E. Balla, D. Maraña, L. Cutaia, G.A. Bó	307
CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE PROGESTERONA EN VACAS DE LECHE EN LACTANCIA TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE PROGESTERONA L. Cutaia, F. Feresin, I. Videla Dorna G.A. Bo	308
EFICACIA DEL CEFTIOFUR PARA EL TRATAMIENTO DE METRITIS PUERPERALES SEPTICAS EN VACAS DE TAMBO M.J. Giuliadori, V. Goncalves, JM Van Konijnenburg, MJ. Rodríguez, R.P. Magnasco, C. Risco, J.C. Aba, I. Videla Dorna, R.L. de la Sota	309
EVALUACIÓN DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA HIDROFÓBICA PARA LIBERACIÓN DE DROGAS ESTEROIDEAS: ESTUDIOS IN VITRO-IN VIVO V. Heredia, I. D. Bianco, P. Chesta, H. Tríbulo, S. Faudone, S. Cuffini y D. M. Beltramo	310
CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE PROGESTERONA EN VACAS DE CARNE TRATADAS CON DISPOSITIVO INTRAVAGINAL PRO-CICLAR (0,75 g de P4) P. Chesta, G. Cuestas, D. Beltramo, H. Tríbulo	311
<b>TEMA C: OVINOS Y CAPRINOS</b>	
<b>C1 SINCRONIZACION DE CELOS E INSEMINACION ARTIFICIAL</b>	<b>313</b>

RESPUESTA ESTRAL OBTENIDA CON EL USO DE PGF2a ASOCIADA A LOS TRATAMIENTOS CORTOS CON PROGESTERONA EN OVEJAS CICLANDO M. Vilariño, A. Menchaca, E. dos Santos, E. Rubianes	315
TASA DE PREÑEZ Y FECUNDIDAD OBTENIDA CON UN TRATAMIENTO CORTO VS UN TRATAMIENTO LARGO ASOCIADO A IATF POR LAPAROSCOPIA EN OVEJAS EN ANESTRO M. Vilariño, A. Pinczak, A. Menchaca	316
<b>C2 TEMAS VARIOS</b>	<b>317</b>
DISTRIBUCIÓN TISULAR DE LOS RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE $\alpha$ ) EN LA VAGINA DE OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y EN ANESTRO ESTACIONAL TRATADAS CON Ngr. S. Acuña, C. Tasende, C. López, E. G. Garófalo	319
LAS SEÑALES QUÍMICAS DE CARNEROS ADULTOS SON MÁS EFECTIVAS EN INDUCIR LA OVULACION EN OVEJAS EN ANESTRO QUE LAS DE CARNEROS JOVENES M. Cuadro, V. Miller, R. Ungerfeld	320
INFLUENCIA DE LA PARIDAD SOBRE LA RESPUESTA OVARICA AL EFECTO MACHO EN OVEJAS POSPARTO DURANTE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA S.P. González-Pensado, A. Ramos, T. De Castro, R. Ungerfeld	321
ESTIMULACION SEXUAL PREVIA DE LOS CARNEROS Y RESPUESTA AL EFECTO MACHO EN OVEJAS TEXEL DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL S.P. González-Pensado, A. Ramos, R. Ungerfeld	322
EFFECTO DE LA PRESENCIA DE CARNEROS DOMINANTES O SUBORDINADOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO SEXUAL DE CARNEROS DE RANGO JERARQUICO MEDIO L. Morena, R. Ungerfeld	323
DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA DE COLÁGENO EN CERVIX CAUDAL DE OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL P. Genovese, R. González, A. Bielli, M. Rodríguez-Piñón	324
EFFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO, LA PARIDAD Y EL TIPO DE PARTO SOBRE EL INTERVALO AL CELO TRAS LA INTRODUCCIÓN DE CARNEROS EN OVEJAS DE PELO EN EL NORESTE DE MÉXICO F. Sánchez Dávila, J. Colín Negrete, H.B. Barragán, E.O. Saéñz, J.F.V. Arredondo, R. Ungerfeld	325
EFFECTO DE LA INTRODUCCIÓN DEL MACHO EN DIFERENTES ETAPAS POSPARTO EN OVEJAS DE PELO EN EL NORESTE DE MÉXICO F. Sánchez-Dávila, J. Colín-Negrete, H.B. Barragán, E.O. Saéñz, J.F.V. Arredondo, R. Ungerfeld	326

INFLUENCIA DE LA ESTACIÓN DEL AÑO Y LA RAZA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE CARNEROS CORRIEDALE Y PAMPINTA D.E. Aguilar, J. Aller, G. Almeida, R. Alberio, T. Vera, C. Faverín	327
EVALUACIÓN POR MEDIO DE COMPUTER ASSISTED SPERM ANALYSIS (CASA) DE SEMEN CONGELADO-DESCONGELADO DE CARNEROS DE RAZAS CORRIEDALE Y PAMPINTA D.E. Aguilar, T. Vera, G. Brogliatti, D. Rodríguez, G. Larraburu, R. Cavia, C. Faverín, J. Aller, R. Alberio	328
EFFECTO DE UN REGULADOR DEL METABOLISMO ENERGÉTICO Y MINERAL SUMINISTRADO A CABRAS MESTIZAS DURANTE EL PERIPARTO L. Moraga, M.A. Soriano, W. von Frey, M. Duchens, C. Núñez	329
<b>TEMA D: EQUINOS</b>	<b>331</b>
RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA EXPRESIÓN DE ACTINA EN EL UTERO DE YEGUAS CON ENDOMETRITIS E. Fumuso, M. Rivulgo, R. Alzola, A. Felipe, D. Rogan	333
EFFECTO DE UN INMUNOMODULADOR SOBRE EL ENDOMETRIO DE YEGUAS SANAS Y RESISTENTES A ENDOMETRITIS E. Fumuso, M. Rivulgo, R. Alzola, A. Felipe, D. Rogan	334
EFFECTO DE UN INMUNOMODULADOR SOBRE EL CONTENIDO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE $\alpha$ ) EN UTERO DE YEGUAS SANAS Y RESISTENTES A ENDOMETRITIS DURANTE EL CICLO ESTRAL S. Acuña, C. Tasende, M. Rivulgo, R. Alzola, A. Felipe, D. Rogan E. Fumuso	335
EVALUACION DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL IMPREGNADO CON PROGESTERONA PARA ACORTAR LA TRANSICIÓN EN YEGUAS M. Azcurra, S. Rodriguez, J. Vlek, M. Morete, I. Videla Dorna R.L. de la Sota	336
PERFILES PLASMÁTICOS DE PROGESTERONA EN EQUINOS TRATADOS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES IMPREGNADOS CON DISTINTAS DOSIS DE PROGESTERONA S. Rodriguez, M. Azcurra, J. Vlek, M. Morete, I. Videla Dorna R.L. de la Sota	337
<b>TEMA E: REPRODUCCIÓN EN PEQUEÑOS ANIMALES Y ANIMALES DE LABORATORIO</b>	<b>339</b>
ESTRUCTURA TESTICULAR EN RATONES SELECCIONADOS POR PESO DURANTE 50 GENERACIONES Bernardi, S.; Brogliatti, G.; Oyarzabal, M. I.	341

EFFECTO DEL INHIBIDOR DE LA AROMATASA, ANASTRAZOLE, EN LA PRÓSTATA Y SEMEN CANINO: RESULTADOS PRELIMINARES

González,G; Guendulain,C; Flores, MF; Gobello,C

342

## FACTORES NUTRICIONALES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN GANADO LECHERO

---

**José Eduardo P. Santos**

Veterinary Medicine Teaching and Research Center  
University of California, Davis  
Tulare, CA – 93274  
jsantos@vmtrc.ucdavis.edu

### Resumen

La nutrición es de gran importancia en el desempeño reproductivo del ganado lechero. Debido a que la energía es el principal nutriente que necesita el ganado adulto, una ingesta de energía insuficiente tiene un efecto negativo en la actividad reproductiva de la hembra bovina. Las vacas con un balance energético negativo presentan una disminución de glucosa, insulina y factor de crecimiento tipo insulina tipo I (**IGF-I**) en plasma; disminución de la frecuencia de picos de LH; disminución de la progesterona en plasma; además de una actividad ovárica limitada. La incidencia del anestro y de la anovulación posparto, además de la fertilidad reducida, aumentan debido a la pérdida de condición corporal durante el periodo posparto temprano. La reanudación de los ciclos ovulatorios está asociada con el balance energético y con un aumento en la concentración plasmática de IGF-I, que está relacionada con la condición nutricional y con las concentraciones de insulina en la sangre. El uso de dietas que generan mayores concentraciones plasmáticas de insulina y glucosa puede mejorar la condición endocrina y metabólica de las vacas. Si se agrega grasa a la dieta, mejora la ingesta de energía, se regula la secreción de  $PGF_{2\alpha}$  en el útero, estimula la dinámica ovárica, mejora la función luteal y mejora la fertilidad. De manera más específica, algunos ácidos grasos podrían afectar la tasa de fertilización y la calidad de los embriones en las vacas lecheras. A pesar de que la ingesta de gosispol no parece afectar el desempeño de la lactancia en las vacas lecheras, podría afectar la fertilidad cuando las concentraciones plasmáticas de gosispol son excesivas. La ingesta excesiva de proteína bruta o proteína degradable en el rumen en la dieta aumenta la concentración de nitrógeno de urea en la sangre y los tejidos y altera la función uterina, lo cual podría reducir las tasas de concepción. A pesar de que la evidencia sugiere que la proteína podría interferir en la reproducción, los cambios en la dieta no deben hacerse de manera que perjudiquen la producción y la rentabilidad.

## Introducción

La selección del ganado lechero por producción de leche, ha relacionado los controles endócrinos y metabólicos del balance nutritivo y los eventos reproductivos de modo tal que la reproducción de los animales lecheros se ve comprometida durante períodos de escasez de nutrientes, como al comienzo de la lactancia. A pesar de que los costos de energía para sintetizar y segregar hormonas, ovular un folículo y sostener un embrión en la primera etapa de desarrollo son probablemente mínimos si se los compara con las necesidades de energía para el mantenimiento y la lactancia, las señales metabólicas y endocrinas asociadas con el balance energético negativo (**NEB**) limitan la reanudación de los ciclos ovulatorios, la calidad de los oocitos y los embriones y el establecimiento y mantenimiento de la preñez en el ganado lechero.

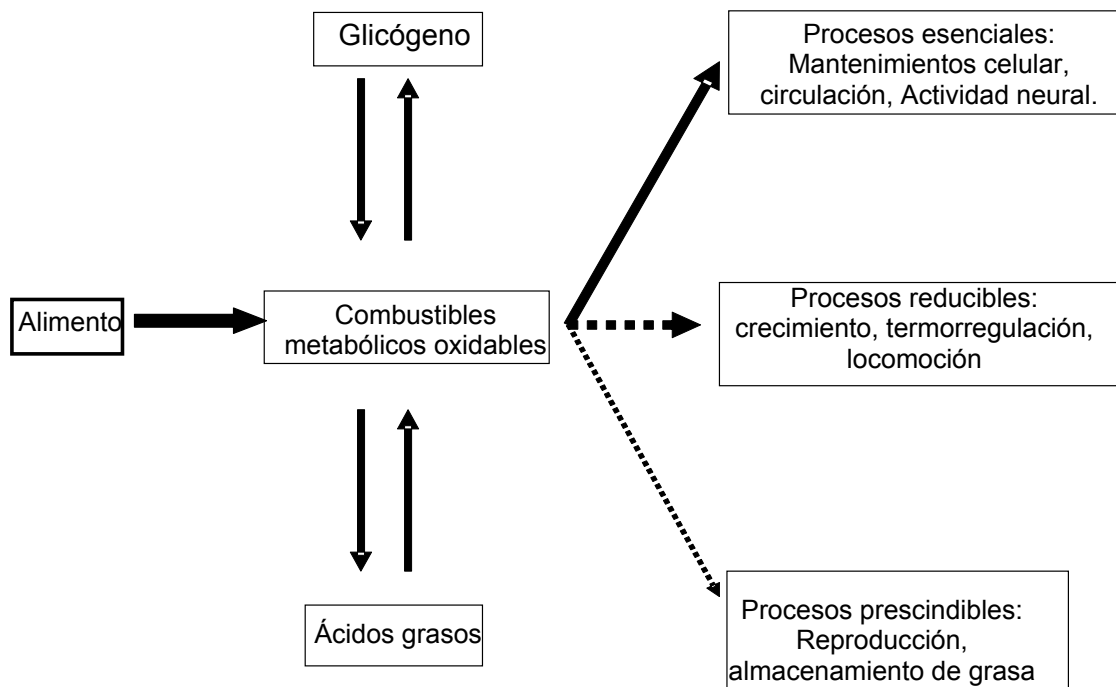
A medida que aumentan las exigencias de síntesis de la leche, las funciones reproductivas pueden deprimirse cuando no se logra una ingesta de nutrientes que compense. En muchos estudios recientes, se ha informado que el desempeño reproductivo se ve comprometido por las exigencias de nutrientes asociadas con los altos niveles de producción. La producción de leche durante las primeras 4 a 6 semanas después del parto aumenta a una tasa más acelerada que la ingesta de energía, y las vacas de alta producción experimentarán algún balance negativo de energía y otros nutrientes durante el periodo posparto temprano. Cuando las vacas experimentan un periodo de NEB, las concentraciones en la sangre de ácidos grasos no esterificados (**NEFA**) aumentan, al tiempo que disminuyen las concentraciones de factor de crecimiento tipo insulina tipo I (**IGF-I**), la glucosa y la insulina. Estos cambios en los metabolitos y las hormonas en la sangre podrían comprometer la fertilidad y la función ovárica. Además se ha informado que el balance energético y la ingesta de materia seca (**DMI**) podrían afectar las concentraciones plasmáticas de progesterona (Vasconcelos et al., 2003; Villa-Godoy et al., 1988), lo cual podría interferir en el desarrollo folicular y el mantenimiento de la preñez.

Durante las últimas décadas, la selección genética y el mejor manejo de los rodeos han aumentado notablemente la producción de leche de las vacas lecheras, al tiempo que ha disminuido la fertilidad (Butler, 1998). La selección por mayor producción de leche del ganado lechero ha cambiado los perfiles endócrinos de las vacas de manera que las concentraciones de somatotropina bovina y prolactina han aumentado, mientras disminuyó la insulina (Bonczek et al., 1988). Estos cambios hormonales y el aumento de las exigencias nutricionales para la producción podrían tener un impacto negativo en la reproducción de vacas lecheras. Sin embargo, se ha demostrado que la nutrición adecuada y el manejo sólido compensan la depresión de la fertilidad en rodeos con una producción promedio de leche superior a los 12.000 kg/vaca/año (Nebel and McGilliard, 1993; Jordan and Fourdraine, 1993). Se han propuesto muchas estrategias nutricionales para mejorar la reproducción de los animales lecheros sin efectos negativos sobre el desempeño durante la lactancia. Se espera que las siguientes estrategias mejoren la reproducción en el ganado lechero: aumentar la DMI durante el periodo de transición, minimizar la incidencia de problemas alrededor del parto, agregar grasa a las dietas, manipular el contenido de ácidos grasos de las fuentes de grasa, equilibrar las dietas para incluir las cantidades adecuadas de proteínas degradables en el rumen (**RDP**) y proteínas no degradables en el rumen (**RUP**) y optimizar el suministro de carbohidratos fermentables en el rumen durante la última etapa de la gestación y la primera de la lactancia. Sin embargo, factores como la alta incidencia de enfermedades metabólicas en el posparto temprano, bajo score de condición corporal (**BCS**) a la primera inseminación, alto nitrógeno ureico en la leche y concentraciones plasmáticas excesivas de gosispol son perjudiciales para la fertilidad del ganado lechero.

## Reanudación de la ciclicidad posparto

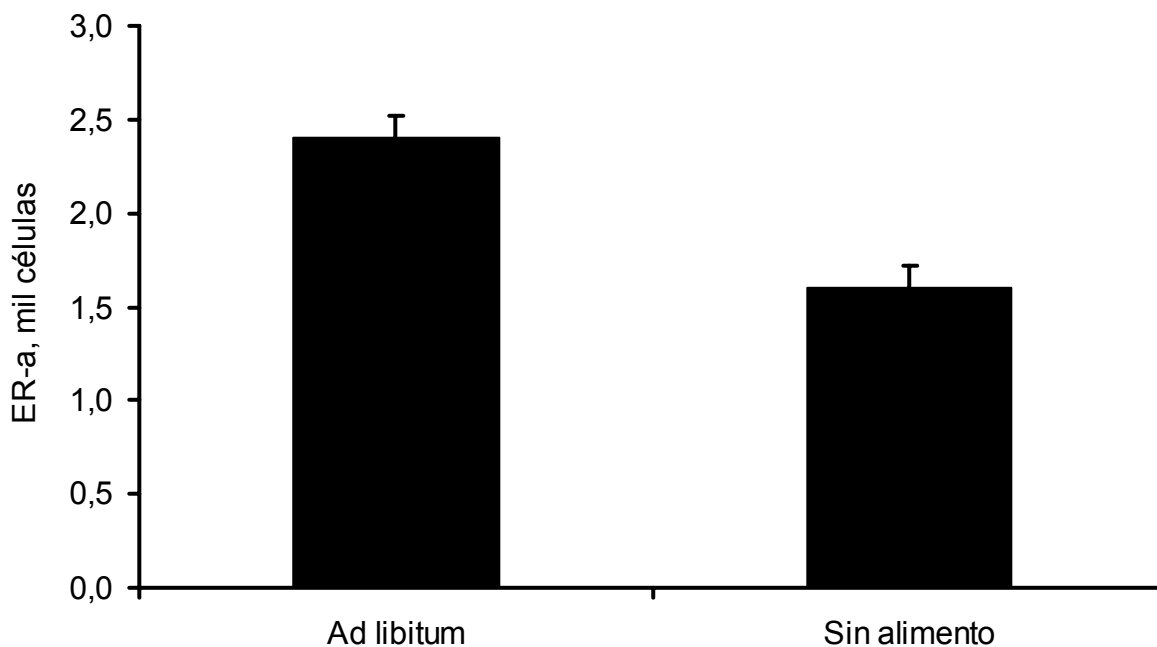
El comienzo de la lactancia genera un gran consumo de nutrientes en vacas de alta producción, lo cual, en muchos casos resulta antagónico para la reanudación de los ciclos ovulatorios. Durante el posparto temprano, la reproducción queda postergada por la supervivencia individual. Por lo tanto, en el caso de la vaca lechera, la lactancia se convierte en una prioridad y las funciones reproductivas quedan relegadas.

Durante periodos de restricción energética, los combustibles oxidables consumidos en la dieta se utilizan en primer lugar para procesos esenciales como el mantenimiento celular, la circulación y la actividad neural (Figura 1; Wade and Jones, 2004).



**Figura 1.** Partición de los combustibles metabólicos por prioridad (Wade y Jones, 2004).

Controles homeorréticos en la lactancia temprana aseguran que los depósitos primarios de adiposidad del tejido corporal, se movilizarán para apoyar la producción de leche. Por lo tanto, la vaca lechera en lactancia temprana que no puede consumir suficientes nutrientes que produzcan energía para satisfacer las necesidades de producción y mantenimiento, sostendrán la alta producción de leche y componentes de la leche a partir de los tejidos corporales. Esto presenta un problema en cuanto a la reproducción debido a que la ovulación retrasada ha sido varias veces relacionada con la condición energética (Beam and Butler, 1998; Beam and Butler, 1997; Canfield et al., 1990; Butler and Smith, 1989). La falta de energía reduce la frecuencia de los pulsos de hormona luteinizante (LH) lo cual limita la maduración folicular y la ovulación. Además, la desnutrición inhibe el comportamiento del celo reduciendo la respuesta del sistema nervioso central al estradiol, ya que reduce la cantidad de receptores  $\alpha$  de estrógeno en el cerebro (Figura 2; Hileman et al., 1999).



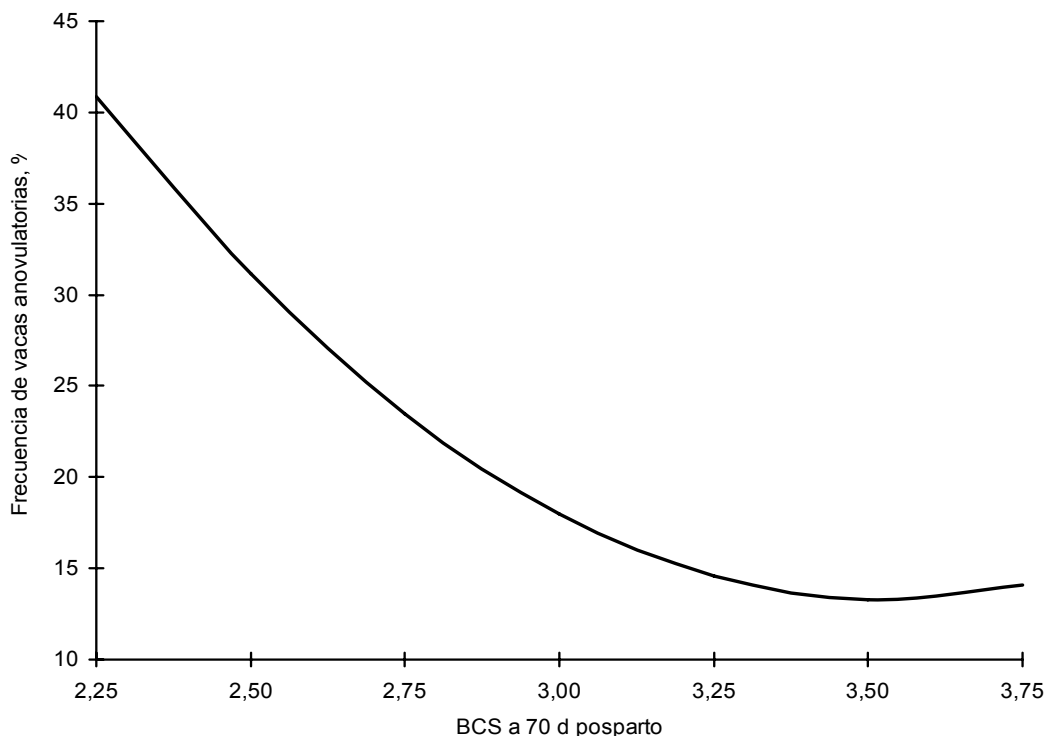
**Figura 2.** Cambios en la cantidad de células que contienen receptores de estrógeno hipotalámico en respuesta a la restricción nutricional en ovejas (Hileman et al., 1999).

En general, la primera ovulación posparto en ganado lechero se presenta de 10 a 14 d después del nadir de NEB (Beam and Butler, 1998; Beam and Butler, 1997; Canfield et al., 1990; Butler and Smith, 1989) y una grave pérdida de BCS provocada por alimentación insuficiente o enfermedades, están asociadas con la anovulación y el anestro en ganado lechero. De hecho, las vacas con bajo BCS a los 60 d posparto probablemente sean anovulatorias (Figura 3; Santos et al., 2004a) lo cual compromete el desempeño reproductivo a la primera inseminación posparto.

El anestro o la anovulación posparto prolongados extiende el periodo del parto a la primera inseminación artificial y reduce la fertilidad durante el primer servicio posparto (Stevenson et al., 2001). De hecho, las vacas anovulatorias no sólo tienen menor detección de celo y menores tasas de concepción sino que también tienen una menor supervivencia embrionaria (Santos et al., 2004b). Por otra parte, una reanudación temprana de la ciclicidad es importante para una concepción temprana. El momento de la primera ovulación posparto determina y limita la cantidad de ciclos estrales que suceden antes del comienzo del periodo de inseminación. Generalmente, en la mayoría de los rodeos lecheros, menos del 20 % de las vacas deberían ser anovulatorias a los 60 d posparto (Stevenson, 2001). La expresión de celo, la tasa de concepción y la supervivencia embrionaria mejoraron cuando las vacas estaban ciclando antes de un programa de sincronización de celo para la primera inseminación posparto (Santos et al., 2004a; Santos et al., 2004b).

La reanudación de la actividad ovárica en vacas lecheras de alta producción se determina por la condición energética del animal. Por lo tanto, el manejo del alimento que minimiza la pérdida de condición corporal durante el periodo posparto temprano y la incidencia de los trastornos metabólicos durante la lactancia temprana podrían aumentar la cantidad de vacas con una primera ovulación durante las semanas 4 a 6 posparto.





**Figura 3.** Relación entre la frecuencia de vacas lecheras en lactancia clasificadas como anovulatorias/en anestro según las concentraciones plasmáticas de progesterona ( $< 1.0$  ng/ml) a los 51 y 63 días en lactancia (DEL) y el escore de condición corporal (BCS) a 70 DEL (Santos et al., 2004a).

### La energía y la reproducción

La ingesta de energía parece ser lo que más influye en la condición energética de las vacas lecheras en lactancia. Villa-Godoy et al. (1988) informaron que la variación en el balance energético en vacas Holstein posparto se veía afectado principalmente por la DMI ( $r = 0,73$ ) y menos por la producción de leche ( $r = -0,25$ ). Por lo tanto, las diferencias entre las vacas en cuanto a la gravedad del balance energético están más relacionadas con la cantidad de energía que consumen que con la cantidad de leche que producen.

Durante periodos de NEB, las concentraciones de glucosa, insulina e IGF-I son bajas además de la frecuencia de pulsos de GnRH y LH. Las concentraciones plasmáticas de progesterona también se ven afectadas por el balance energético de las vacas lecheras. Se ha demostrado que estos metabolitos y estas hormonas afectan la foliculogénesis, la ovulación y la producción de esteroides *in vivo* e *in vitro*. El mecanismo exacto por el cual la energía afecta la secreción de hormonas liberadoras y de gonadotropinas no está bien definido pero resulta claro que niveles más bajos de glucosa, IGF-I e insulina en la sangre pueden afectar este proceso.

Se ha sugerido que el NEB influye en la reproducción en vacas lecheras mediante un impacto en la calidad y la viabilidad del oocito del folículo ovulatorio y del CL producto de la ovulación de ese folículo. Debido a la evidencia de que los factores metabólicos pueden influir sobre el desarrollo folicular temprano, es probable que los cambios en el metabolismo durante periodos de NEB puedan influir sobre los folículos preantrales destinados a ovular semanas más tarde durante el periodo de servicio. Para probar esta hipótesis, Kendrick et al. (1999) asignaron de forma aleatoria 20 vacas lecheras a uno de dos tratamientos para que las vacas consumieran 3,6 % (alta energía) o 3,2 % (baja energía) de su peso corporal. Se aspiraron los folículos de forma transvaginal dos veces por semana y se clasificaron los oocitos según la densidad del cúmulus y la homogeneidad del ooplasma. Las vacas con mejor balance energético (alta energía) tuvieron más IGF-I intrafolicular y progesterona en plasma y tendieron a producir más oocitos clasificados como buenos. Por lo tanto, el NEB no sólo demora la reanudación de los ciclos ovulatorios, sino que también podría influir la calidad de los oocitos una vez que se inseminan las vacas.

### **Manipulación nutricional para aumentar la ingesta de energía**

Los esfuerzos en la nutrición para minimizar el alcance y la duración del NEB podría mejorar el desempeño reproductivo. El primer factor y el más importante que afecta a la ingesta de energía en vacas lecheras es la disponibilidad del alimento (Grant and Albright, 1995). Por lo tanto, las vacas lecheras deben tener a su disposición una dieta palatable de alta calidad para asegurar el máximo de DMI. Sin embargo, la DMI es limitada durante la última etapa de la gestación y la primera de la lactancia, lo cual puede comprometer la ingesta total de energía y el desempeño reproductivo. Se han propuesto muchas estrategias de manejo nutricional para aumentar la ingesta de energía durante la lactancia temprana. La utilización de forrajes de alta calidad, el aumento de la relación concentrado:forraje o la adición de grasa a las dietas son algunas de las formas más comunes de mejorar la ingesta de energía de las vacas.

La ingesta de energía aumenta en proporción directa con el aumento de grano en la dieta hasta el 55 al 60 % de la materia seca (**DM**). Las dietas con más del 60 % de concentrado y poco contenido de fibra se relacionan con una mayor osmolaridad, menor pH y mayor concentración de ácidos grasos volátiles (**VFA**) en el rumen y en el sistema portal, además de una disminución en la DMI.

Las dietas con mayores cantidades de concentrado tienen un mayor contenido de carbohidratos no fibrosos (**NFC**). El almidón es el NFC más importante en las dietas para animales de alta producción. La degradación del almidón en el rumen aumenta la proporción de propionato en relación con otros VFA y mejora la síntesis de glucosa en el hígado. Tanto la glucosa como el propionato son secretagogos de insulina y las dietas con almidón degradable en el rumen aumentan la producción de glucosa desde el hígado (Theurer et al., 1999) y las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina (Santos et al., 2000).

En varios estudios se ha demostrado la importancia de la insulina como una señal relacionada con los efectos de los cambios agudos en la ingesta de nutrientes sobre los parámetros reproductivos en el ganado lechero. Se cree que en los animales lecheros en posparto temprano con NEB, la expresión reducida del receptor 1A de la hormona de crecimiento en el hígado (**GHR-1A**) es responsable de las concentraciones plasmáticas más bajas de IGF-I en vacas (Radcliff et al., 2003). Debido a que IGF-I es una señal hormonal importante que influye en eventos reproductivos tales como la estimulación de la mitogénesis celular, la producción hormonal y el desarrollo embrionario, entre otras funciones, las

mayores concentraciones de IGF-I en el posparto temprano son importantes para una reanudación temprana de la ciclicidad y el establecimiento de la preñez. Es interesante notar que la insulina se relaciona con la expresión de GHR-1A en vacas lecheras (Butler et al., 2003; Rhoads et al., 2004), lo cual resulta en mayores concentraciones de IGF-I en plasma. Debido a que IGF-I y la insulina son importantes para la reproducción en bovinos, la utilización de dietas que generan mayores concentraciones de insulina debería resultar beneficiosa para la reproducción.

Gong et al. (2002) administraron a vacas de alto y de bajo mérito genético dietas isocalóricas que difirieron en la capacidad de inducir concentraciones plasmáticas altas o bajas de insulina. Los autores observaron que las dietas que indujeron alta insulina redujeron el intervalo a la primera ovulación posparto, aumentaron la proporción de vacas que ovularon dentro de los 50 d posparto y mejoraron la tasa de concepción a la primera IA (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de las dietas diseñadas para alterar las concentraciones plasmáticas en los parámetros reproductivos de vacas lecheras posparto de alto y bajo mérito genético (Gong et al., 2002).

	Dieta			
	Baja insulina		Alta insulina	
	Bajo	Alto	Bajo	Alto
Mérito genético				
Insulina en plasma, <sup>1</sup> ng/mL	0,34	0,21	0,48	0,32
Ovulación en los primeros 50 d posparto, <sup>1</sup> %	60	50	100	80
Días a la primera ovulación	43	54	28	41
Tasa de concepción a la primera IA, %	62,5	37,5	66,7	44,4

<sup>1</sup> Efecto de la dieta alta en insulina (P < 0,05).

Recientemente, la monensina (Rumensin 80®, sodio de monensina, Elanco, Greenfield, IN) fue aprobada para su uso en ganado lechero en lactancia para mejorar la eficiencia de la producción de leche. Sin embargo, a pesar de que en la etiqueta no se la recomienda para el tratamiento de la cetosis subclínica, la administración de monensina en vacas lecheras en transición aumenta las concentraciones plasmáticas de glucosa y reduce la cetosis subclínica. Debido a que la monensina aumenta la producción de propionato en el rumen y las concentraciones plasmáticas de glucosa, se espera que la administración de monensina mejore las concentraciones plasmáticas de insulina y tenga un impacto sobre el desempeño reproductivo. Cuando las vacas fueron tratadas con una cápsula de liberación controlada que libera alrededor de 335 mg de monensina/d, el riesgo de cetosis, displasia de abomaso y muchas otras enfermedades se redujo, pero no se alteraron los parámetros reproductivos (Tabla 2; Duffield et al., 1999).

**Tabla 2.** Efecto de la monensina en una cápsula de liberación controlada en las tasas de concepción en vacas lecheras (Duffield et al., 1999).

	Tratamiento	
	Monensina	Control
Vacas, n	406	403
Tasa de concepción, %		
Primera IA	35,2	34,5
Segunda IA	37,6	41,5
Tercera IA	40,7	38,6
> 3 IA	60,0	64,1

*Alimentación con grasa y ácidos grasos*

La alimentación con grasa es un método común para aumentar la densidad energética de la dieta. Sin embargo, las fuentes de grasa suplementaria no sólo aportan calorías sino que tienen un impacto sobre el metabolismo de los tejidos, ya sea alterando de la expresión de los genes (ácidos grasos poliinsaturados; Sumida et al., 1993), aportando precursores (acetil Co-A) para la síntesis de otros ácidos grasos o esteroides (Staples et al., 1998), o compitiendo con otros componentes celulares (Thatcher et al., 2004).

El uso de grasa en dietas de ganado lechero suele aumentar la densidad energética de la ración y mejora la lactancia y la reproducción (Tabla 3; Ferguson et al., 1990).

**Tabla 3.** Efecto de la alimentación con 500 g de ácidos grasos saturados libres sobre la reproducción de vacas lecheras (Ferguson et al., 1990).

	Tratamiento	
	Control, sin grasa suplementaria	500 g/d ácidos grasos saturados libres
Vacas, n	138	115
Tasa de concepción 1 <sup>a</sup> IA, %	42,6 <sup>a</sup>	59,1 <sup>b</sup>
Tasa de concepción general, %	40,7 <sup>a</sup>	59,3 <sup>b</sup>
Preñadas, %	86,2 <sup>c</sup>	93,0 <sup>d</sup>

<sup>a,b</sup> Superíndices en la misma fila son diferentes ( $P < 0,05$ ).

<sup>c,d</sup> Superíndices en la misma fila son diferentes ( $P = 0,08$ ).

Algunos han sugerido que la administración de grasa mejora la reproducción a pesar del aporte de calorías (Staples et al., 1998). Estos efectos podrían estar relacionados con la composición del ácido graso de la fuente de grasa, ya que cada ácido puede presentar diferentes efectos a nivel de los tejidos y de las células.

Hay diferentes fuentes comerciales de grasas inertes en el rumen entre las que se encuentran los ácidos grasos hidrogenados y las sales de calcio de los ácidos grasos. Estas fuentes de calcio fueron diseñadas para aumentar la ingesta calórica de las vacas lecheras con un impacto mínimo en la actividad microbiana del rumen. Más recientemente, ha aumentado el interés por diseñar fuentes de grasa ricas en ácidos grasos poliinsaturados de  $\omega$ -6 (ácido linoleico, *cis*-9 *cis*-12 C18:2<sub>n6</sub>) y  $\omega$ -3 (ácido linoleico  $\alpha$ , C18:3<sub>n3</sub>; eicosapentaenoico - EPA, C20:5<sub>n3</sub>; docosahexaenoico - DHA, C22:6<sub>n3</sub>) para ser absorbidos en el intestino. Debido a que la actividad microbiana en el rumen que causa lipólisis y biohidrogenación altera la composición de las fuentes de grasa ricas en ácidos grasos poliinsaturados, se han desarrollado métodos para proteger los ácidos grasos de la actividad microbiana en el rumen. Staples et al. (1998) revisaron la literatura sobre los efectos de la administración de grasa en la reproducción de vacas lecheras e indicaron que el aumento de la grasa en la ración suele generar mejoras en el desempeño reproductivo de las vacas. Los autores indicaron que los efectos positivos de la grasa suplementaria se observaron a pesar del aporte de calorías (Staples et al., 1998).

Lamentablemente, los métodos disponibles actualmente para *proteger* los lípidos de la biohidrogenación microbiana no son muy efectivos en la prevención de la saturación de los ácidos grasos poliinsaturados en el rumen (Lundy III et al., 2004). No obstante, intentamos aumentar el aporte de ácidos grasos poliinsaturados en forma de sal de Ca en 3 experimentos para mejorar el desempeño reproductivo de vacas lecheras en lactancia (Bruno et al., 2004; Cerri et al., 2004; Juchem et al., 2004a, Juchem et al., 2004b).

#### *Efecto de las sales de calcio de aceite de palma y de pescado sobre el desempeño en la lactación y la reproducción de las vacas lecheras*

Se asignaron setecientas treinta y ocho vacas Holstein multíparas de un tambo comercial a uno de dos grupos en un diseño al azar bloqueado (Juchem et al., 2007a; Juchem et al., 2007b). Se agruparon las vacas por pariciones y producción de leche previa a la parición y, dentro de cada grupo, fueron asignadas de manera aleatoria a uno de los dos grupos de tratamiento: dietas con sebo (1,65 % de DM en la dieta) o dietas con sales de Ca de aceite de pescado y de palma (CaSFO, 1,8 % de DM en la dieta) para aportar cantidades iguales de ácidos grasos. Todas las vacas recibieron una dieta previa al tratamiento durante los primeros 25 d en lactancia que consistió de una mezcla de cada suplemento de grasa (0,8 % de sebo + 0,9 % de CaSFO) y recibieron la dieta de tratamiento hasta los 145 d en lactancia. Las fuentes suplementarias de grasa fueron diseñadas para no aportar ácidos grasos  $\omega$ -3 como eicosapentaenoico (EPA, C20:5<sub>n3</sub>) y docosahexaenoico (DHA, C22:6<sub>n3</sub>) cuando se administró sebo o aproximadamente 10 g de EPA y 10 g de DHA cuando se administraron sales de calcio. Según estudios anteriores (Thatcher et al., 2004), desarrollamos la hipótesis de que una dieta con una sal de calcio de ácidos grasos  $\omega$ -3 regularía la síntesis de prostaglandina en el útero y favorecería la supervivencia embrionaria en vacas lecheras en lactancia.

Los resultados de 3,5 % de leche corregida por grasa (FCM) y grasa de leche no se vieron

afectados por la fuente de ácidos grasos pero los resultados de proteína verdadera fueron mayores en las vacas alimentadas con sebo. La administración de CaSFO alteró la composición de ácidos grasos en la grasa de leche y aumentó el linoleico, EPA, DHA, y *trans-9 cis-11* CLA. El score de condición corporal fue menor en vacas alimentadas con CaSFO que con sebo. La ingesta individual por vaca de DM a los 52 y 100 d posparto fue similar ( $P = 0,50$ ) con CaSFO y con sebo con un promedio de 26 kg/d. La digestibilidad de DM en todo el tracto fue mayor en vacas alimentadas con CaSFO, pero la eficiencia del uso del alimento (3,5 % FCM/ DMI) fue similar en ambos tratamientos. En ninguno de los tratamientos se observó un efecto sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa y NEFA.

En general, el desempeño reproductivo de las vacas lecheras no se vio afectado por el tratamiento (Tabla 4).

**Tabla 4.** Respuestas reproductivas en la primera y la segunda IA en vacas multíparas alimentadas con sales de calcio de aceites de pescado y palma (CaSFO) o sebo (Experimento 1).

Parámetro	Tratamiento <sup>2</sup>		OR (95 % CI) <sup>1</sup>	Valor P
	CaSFO	Sebo		
Ciclando, <sup>2</sup> %	82,2 (343)	83,2 (356)	0,98 (0,7 – 1,5)	0,68
Primera IA				
Tasa de preñez, %				
d 28	35,9 (343)	40,7 (356)	0,81 (0,9– 1,7)	0,19
d 39	31,2 (340)	35,7 (356)	0,81 (0,9 – 1,7)	0,21
d 67	26,3 (335)	32,0 (353)	0,76 (0,9– 1,8)	0,10
Pérdida de preñez, %				
d 28 a 39	11,7 (120)	12,4 (145)	0,96 (0,5 – 2,3)	0,85
d 39 a 67	12,9 (101)	8,9 (124)	1,44 (0,3 – 1,5)	0,34
d 28 a 67	23,5 (115)	20,4 (142)	1,18 (0,5 – 1,5)	0,55
Segunda IA				
Tasa de preñez, %				
d 39	19,9 (176)	23,0 (178)	0,96 (0,7 – 2,0)	0,47
d 67	18,7 (176)	17,4 (178)	1,20 (0,5 – 1,6)	0,74
Pérdida de preñez, %				
	5,7 (35)	24,4 (41)	0,23 (1,1 – 26,2)	0,04
Preñadas 140 DEL	49,8 (343)	54,2 (356)	0,86 (0,9 – 1,6)	0,25

<sup>1</sup> OR = odds ratio; CI = intervalo de confianza; se utilice sebo en el grupo de referencia.

<sup>2</sup> Los números entre paréntesis representan el total de vacas.

Después de analizar las muestras de sales de Ca, determinamos que la cantidad de grasa libre disminuyó a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento. Durante los primeros días después de la fabricación, el contenido de grasa libre era de aproximadamente el 12 % y disminuyó a menos del 6 % después de 60 d. La mayoría de los efectos negativos del CaSFO sobre la supervivencia embrionaria se observaron en vacas inseminadas en condiciones de estrés calórico y cuando el contenido de ácido graso libre de las sales de calcio fue alto. Por lo tanto, sospechamos que algunos de los efectos negativos

observados estuvieron relacionados con la mayor disponibilidad de ácidos grasos poliinsaturados libres en el rumen.

*Efecto de las sales de calcio de aceite de palma y de pescado sobre el desempeño de la lactación y la reproducción de las vacas lecheras en condiciones de estrés calórico*

Debido a los efectos negativos observados en las vacas que recibieron CaSFO en condiciones de estrés calórico en el experimento anterior y al contenido más alto de grasa libre en las sales de calcio administradas durante el periodo de estrés calórico, realizamos una réplica del mismo experimento en el verano de 2003 (Bruno et al., 2004).

El tratamiento con respecto a la dieta y el diseño experimental fueron iguales a los descriptos anteriormente. Se asignaron trescientas treinta y una vacas Holstein multíparas a tratamientos entre el 1 y el 31 de agosto y el estudio se realizó de mayo a diciembre de 2003.

El grupo de DMI tuvo un promedio de 25,7 kg/d. La producción de leche, 3,5 % FCM, y la grasa de leche fueron similares en ambos tratamientos pero las vacas que recibieron CaSFO produjeron leche con concentraciones menores de proteína verdadera y con producciones menores de proteína de la leche. De igual manera, las concentraciones de lactosa y sólidos no grasos también fueron más bajos en vacas que recibieron CaSFO. El desempeño reproductivo según se determinó por tasas de concepción, pérdidas de preñez, días de vacas vacías y proporción de vacas preñadas al final del estudio fueron similares en ambos tratamientos.

*Efecto de la administración de sales de Ca ricas en ácidos grasos trans y  $\omega$ -6 durante la transición sobre la lactancia, la salud y la reproducción de vacas lecheras*

Se asignaron cuatrocientas veintitrés vacas lecheras parto Holstein a una de dos dietas de tratamiento que diferían en la fuente de grasa suplementaria (Juchem et al., 2004a; 2004b). El estudio comenzó 25 d antes de la fecha esperada de parto y las vacas recibieron las fuentes de grasa suplementaria hasta los 70 d a 75 d posparto. Las fuentes de grasa suplementaria se agregaron en cantidades iguales para ambos tratamientos antes (1,9 % de la DM de la dieta; ~250 g/vaca/d) y después del parto (1,5 % de la DM de la dieta; ~250 g/vaca/d) y se utilizaron sales de Ca de aceite de palma (**PO**) o sales de calcio de linoleico y una mezcla de ácidos grasos trans monoenoicos (**LFTA**). Las sales de calcio fueron las únicas fuentes de grasa suplementaria administradas a las vacas durante todo el estudio.

La producción de leche fue similar en ambos tratamientos durante el experimento de 70 d. Sin embargo, debido a que el contenido de grasa de leche disminuyó al comienzo de la semana 3 posparto, el 3,5 % de la producción de FCM fue menor en vacas que recibieron LFTA. La producción de la proteína de leche fue similar entre los tratamientos pero la leche de las vacas alimentadas con LFTA tuvo un mayor contenido de proteína verdadera de leche (2,78 vs 2,74 %;  $P < 0,01$ ). La alimentación con LFTA alteró el perfil de ácidos grasos de la grasa de leche a tan sólo 2 semanas posparto. Las vacas alimentadas con LFTA tuvieron grasa de leche con mayor concentración de ácido linoleico, cis-9 cis-11 CLA y ácidos grasos trans. La tasa de concepción en la primera inseminación posparto fue mayor en vacas que recibieron LFTA que en aquellas que recibieron PO (36,1 vs 28,1 %;  $P = 0,09$ ).

*Efecto de las fuentes de grasa que difieren en el perfil de ácidos grasos sobre la tasa de fertilización y en la calidad embrionaria en vacas lecheras en lactancia*

Debido a los posibles efectos de los LFTA sobre las tasas de concepción de vacas lecheras en lactancia, evaluamos los efectos de estos ácidos grasos sobre la tasa de fertilización y la calidad embrionaria. Se asignaron ciento cincuenta y cuatro vacas lecheras Holstein en lactancia a una de dos dietas de tratamiento como se describió en el tratamiento anterior. Después de sincronizar el ciclo estral y la ovulación, las vacas fueron inseminadas y los úteros lavados 5 d después de la IA (Cerri et al., 2004). Se detectó un total de 161 ovulaciones en 154 vacas y 14 (18,7 %) y 12 (15,2 %) vacas que recibieron PO y LFTA respectivamente, experimentaron una doble ovulación cuando se las inseminó. La cantidad de estructuras recuperadas fue de 45 y 41 con PO y LFTA respectivamente y la tasa de recuperación (cantidad de estructuras/cantidad de cuerpos lúteos) fue similar en ambos tratamientos con un promedio de 53,4 %. La tasa de fertilización tendió a ser más alta ( $P = 0,11$ ) para vacas que recibieron LTA que para aquellas que recibieron PO (87,2 vs 73,3 %). De igual modo, la cantidad de espermatozoides accesorios por estructura colectada fue mayor ( $P < 0,001$ ) para vacas que recibieron LTA que para aquellas que recibieron PO (34,3 vs 21,5), lo cual explicaría, al menos en parte, la mayor tasa de fertilización. Las vacas que recibieron sales de Ca de LFTA durante el periodo de transición y comienzos del periodo de lactancia tuvieron una mayor ( $P = 0,06$ ) proporción de embriones clasificados como de alta calidad en comparación con las vacas que recibieron sales de Ca de PO (73,5 vs 51,5 %). Además, la cantidad total de células (19,4 vs 14,0;  $P = 0,13$ ) y la proporción de células vivas (94,2 vs 85,3 %;  $P = 0,09$ ) tendió a ser mayor en las vacas que recibieron LTA que en aquellas que recibieron PO. Los resultados de este experimento indican que las mejoras en la fertilidad de las vacas lecheras en la primera IA posparto observadas en el estudio anterior podrían atribuirse a las mejoras en la tasa de fertilización y calidad embrionaria cuando las vacas reciben fuentes de grasa que contienen ácidos grasos trans y linoleico durante el periodo de transición.

### Fuente de Se y reproducción

Durante el periodo posparto inmediato, el sistema inmunológico de la vaca se debilita (Goff, 2006) y se deprimen los sistemas de defensa humoral e innato. La incidencia de las enfermedades y los trastornos puede ser alta durante este periodo y tiene un impacto negativo sobre el desempeño reproductivo. Por ejemplo, el *riesgo*, de preñez (*odds ratio*) se redujo si las vacas habían retenido membranas fetales (RFM) o si habían perdido una unidad de BCS (Loeffler et al., 1999). La reducción de la inmunidad adquirida e innata al momento del parto, aumenta el riesgo de trastornos de salud como RFM, metritis y mastitis. El selenio ha sido relacionado con la inmunidad por mucho tiempo. Los animales que recibieron levadura de selenio como suplemento tuvieron un aumento del 18 % de selenio en plasma con respecto al selenito de sodio en algunos estudios (Weiss, 2003). En algunas regiones escasea el Se, especialmente en el sudeste, mientras en otros estados como California tienen buenas cantidades de Se.

Realizamos un experimento para evaluar una fuente suplementaria de selenio orgánico y su efecto sobre las respuestas inmunológicas y reproductivas en vacas lecheras en Florida (FL) y California (CA) (Silvestre et al., 2006a; Silvestre et al., 2006b; Rutigliano et al., 2006a; Rutigliano et al., 2006b). Los



objetivos fueron evaluar los efectos de Se orgánico sobre la salud y el desempeño reproductivo de vacas lecheras. Se asignaron las vacas aproximadamente 25 d antes de la fecha esperada de parto a una de dos fuentes de Se, orgánico (levadura de selenio [SY; Sel-Plex®, Alltech]) o Se de sodio inorgánico (selenito de sodio, SS) administrado a 0,3 ppm (según DM) hasta los 80 d posparto. En ambos sitios, las vacas siguieron el mismo protocolo de estudio y la salud se monitoreó a diario durante todo el estudio. Se registró la temperatura rectal todas las mañanas durante 10 d posparto. En FL, la vaginoscopia del tracto reproductivo se realizó a 5 y a 10 DEL. Se evaluó la incidencia de RFM, metritis, metritis puerperal, endometritis subclínica por citología uterina, cetosis, displasia de abomaso y mastitis en las vacas. Se sometió a las vacas a uno de dos programas de sincronización de la ovulación, un protocolo de presincronización con Ovsynch, en el cual la presincronización se realizó con 2 PGF<sub>2α</sub> con 14 días de diferencia y la última dosis de PGF<sub>2α</sub> inyectada 12 d antes de la iniciación del protocolo Ovsynch, o un protocolo Ovsynch presincronizado con CIDR, en el cual las vacas tuvieron un CIDR durante 7 d, PGF<sub>2α</sub> al momento de la remoción del CIDR y el protocolo Ovsynch 3 d más tarde.

Las concentraciones plasmáticas de Se aumentaron con los días posparto pero la fuente de Se no influyó en las concentraciones de Se en las vacas en CA. Sin embargo, en FL, la administración de levadura de selenio mejoró las concentraciones plasmáticas de selenio (0,087 vs 0,069 ± 0,004 µg/ml; P < 0,01). La incidencia de enfermedades posparto no difirió entre tratamientos en ninguno de los sitios pero las vacas que recibieron levadura de selenio tuvieron una menor incidencia de flujo vaginal purulento que aquellas que recibieron SS en FL. La dieta alteró la frecuencia de las vacas multíparas a las que se les detectó > 1 evento de fiebre (temperatura rectal > 39,5 °C; levadura de selenio, 13,3 % [25/188] vs SS, 25,5 % [46/181]; P < 0,05) pero el efecto de la levadura de selenio no se observó en vacas primíparas con una frecuencia mucho mayor de fiebre (40,5 %). Los puntajes de flujo a la vaginoscopia a los 5 y 10 d posparto fueron mejores para el grupo de levadura de selenio; 47,1 (217/460) vs 35,0 % (153/437) transparente, 43,4 [200/460] vs 47,8 % [209/437]) mucopurulento, y 9,3 (43/460) vs 17,1 % (75/437) purulento para los grupo de levadura de selenio y SS respectivamente (P < 0,05). La administración de selenio orgánico (Se-yeast, Sel-Plex®) mejoró la salud uterina y la tasa de preñez del segundo servicio durante el verano.

La dieta no alteró las tasas de preñez del primer servicio en CA y FL ni del segundo servicio en CA. Sin embargo, la tasa de preñez del segundo servicio en FL fue mayor en las vacas que recibieron levadura de selenio que en aquellas que recibieron SS [SY, 17 % (34/199) vs SS, 11,3 % (24/211); P < 0,05]. La ventaja de la levadura de selenio en las tasas de preñez del segundo servicio es curiosa. Desarrollamos la hipótesis de que las vacas en el grupo de levadura de selenio pudieron restablecer mejor un entorno embrio-trófico en el segundo servicio después de pérdidas embrionarias tempranas o tardías.

La inmunidad innata (es decir, función neutrófila) se determinó por capacidad fagocítica y oxidativa y fagocítica de los neutrófilos en sangre total en ambos sitios. En CA, la fuente de Se suplementario no tuvo efecto sobre las actividades fagocíticas de los neutrófilos pero en FL las vacas que recibieron levadura de selenio tuvieron una mejor función neutrófila que aquellas que recibieron SS. El porcentaje de neutrófilos que fagocitaron *Escherichia coli* y sufrieron oxidación no difirieron entre grupos de dietas a los 26 d preparto (44,6 ± 4,6 %). En muestras posteriores, se detectó una interacción de dieta por parición por día (P < 0,05); la levadura de selenio mejoró la función neutrófila al parto en vacas multíparas (42 ± 6,14 % vs 24,3 ± 7,2 %; Figura 1) y a 7, 14 y 37 d posparto en vacas primíparas (53,9 vs 30,7 %, 58,6 vs 41,9 %, y 53,4 vs 34,8 %, respectivamente; error estándar = 6,8%). Queda claro que la función neutrófila se deprime en las vacas primíparas al momento del parto y no se restablece hasta los 7

a 14 d posparto. Por otra parte, la función neutrófila de las vacas multíparas no se restableció hasta los 14 a 21 d posparto. El Se orgánico mejoró la fagocitosis y la actividad fagocítica de los neutrófilos tanto en vacas multíparas como en vacas primíparas. Sin embargo, las vacas primíparas parecieron responder más en cuanto a que la levadura de selenio estimuló la función neutrófila entre 0 y 21 d posparto, mientras que la estimulación de la levadura de selenio en vacas multíparas fue evidente sólo el día del parto. En la mayoría de nuestros experimentos posparto, detectamos diferencias evidentes entre las vacas primíparas y multíparas por una variedad de respuestas bioquímicas y fisiológicas.

La anti-IgG a Ovalbulmin no difirió entre los grupos de dieta a los 60 y 22 d posparto ( $0,18 \pm 0,01$  y  $0,97 \pm 0,04$  densidad óptica). A pesar de que la concentración de anti-IgG a Ovalbulmin no difirió entre grupos de dietas en las vacas primíparas ( $1,40 \pm 0,08$  densidad óptica), las concentraciones fueron más altas en vacas con levadura de selenio SY a 21 y 42 dpp ( $1,91 \pm 0,1$  vs  $1,24 \pm 0,07$ ;  $1,44 \pm 0,7$  vs  $0,99 \pm 0,07$  densidad óptica respectivamente;  $P < 0,01$ ). Por lo tanto, nuestra medición de inmunidad adquirida mejoró en vacas lecheras multíparas en respuesta a la levadura de selenio pero no fue así en las vacas primíparas.

Nuestros hallazgos indican que la suplementación con levadura de selenio mejoró las mediciones de inmunidad celular y humoral, la salud uterina y la tasa de preñez al segundo servicio en las vacas en FL, conocido como un estado con deficiencia de Se. Sin embargo, en CA la fuente de Se no tuvo impacto alguno sobre la salud, mediciones de respuesta inmune ni en el desempeño reproductivo.

## Gosipol y reproducción

El gosipol fue descubierto por científicos chinos después de notar que no nació ningún niño en una década en una población cuyos habitantes cocinaban con aceite de semilla de algodón. Desde entonces, innumerables informes han confirmado el efecto adverso del gosipol sobre la fertilidad en mamíferos. El gosipol altera el metabolismo de las membranas celulares, afecta la glicólisis, influye sobre el metabolismo mitocondrial y energético en la célula y aumenta la fragilidad de las membranas celulares, como en los glóbulos rojos. De hecho, la fragilidad de los eritrocitos ha sido uno de los indicadores de posible toxicosis con gosipol.

Risco et al. (1992) fueron unos de los primeros en demostrar que el gosipol puede ser tóxico e incluso matar bovinos en crecimiento. Administraron raciones a terneros con 200, 400 u 800 mg/kg de gosipol libre (**FG**) por 120 días. Las dietas con 400 y 800 mg/kg de FG fueron consideradas tóxicas y podían llegar a causar la muerte de rumiantes en crecimiento. Los terneros más jóvenes tienen poca capacidad de desintoxicarse de gosipol y la toxicidad es fácilmente inducida con la administración de productos derivados del algodón.

Los efectos negativos del gosipol sobre la fertilidad de los rumiantes son claros en los machos. Estudios realizados en la University of Florida y en Kansas State University han demostrado que sólo 8 g/d de FG administrados a toros jóvenes redujo la calidad de los espermatozoides y la actividad sexual (Chenoweth et al., 2000; Velasquez-Pereira et al., 1998).

Hay poca información disponible sobre los efectos de la semilla de algodón o del gopisol sobre la fertilidad de las vacas lecheras. La hembra rumiante parece ser relativamente insensible al efecto adverso del gopisol sobre la fertilidad debido a la desintoxicación del rumen, pero información de estudios *in vitro* indica que existe cierta inhibición del desarrollo embrionario y de la esteroidogénesis ovárica (Randel et al., 1992). Sin embargo, en un estudio reciente de la University of Florida (Brocas et al., 1997) se observó un efecto diferente del gopisol sobre los gametos y los embriones bovinos. La administración de alimento de semillas de algodón a vacas lecheras no afectó la cantidad de oocitos que se colectaron por vaca, la tasa de clivaje posterior a la fertilización y maduración *in vitro* ni la proporción de oocitos o embriones que se desarrollaron como blastocistos. Cuando se exponen los oocitos *in vitro* a niveles fisiológicos de gopisol (similar a los observados en el plasma de las vacas que se alimentan con productos derivados del algodón), la tasa de clivaje y el desarrollo posterior no se vieron afectados. Por otra parte, al agregar una concentración más alta de gopisol al medio se redujo la tasa de clivaje de los embriones. Según estos datos, los autores llegaron a la conclusión de que los embriones en desarrollo son sensibles a las altas concentraciones de gopisol y las dietas que aumentan el nivel plasmático de gopisol pueden afectar la fertilidad de las vacas.

Se realizaron tres experimentos para determinar los efectos de tres concentraciones de FG en la dieta de vaquillonas lecheras Holstein sobre parámetros reproductivos mediante la evaluación del desarrollo folicular, la función luteal, la calidad embrionaria y el desarrollo embrionario (Coscioni et al., 2003a; Coscioni et al., 2003b; Villaseñor et al., 2003). En los 3 experimentos, las vaquillonas pospuberales fueron asignadas de forma aleatoria a una de tres dietas con igual cantidad de calorías e igual cantidad de nitrógeno que sólo diferían en el contenido de FG (de semilla de algodón Pima quebrada): control (C; 0 mg de FG/kg de peso corporal); medio (M; 20 mg de FG/kg de peso corporal); y alto (H; 40 mg de FG/kg de peso corporal).

En el experimento 1 (Coscioni et al., 2003a), la emergencia de la primera y la segunda onda folicular (**FW**) fueron similares ( $P > 0,15$ ) para C (1,1 y 9,1 d), M (1,0 y 8,9 d), y H (1,9 y 8,8 d). La desviación del folículo dominante (**DF**) después de la emergencia de la primera (C=3,5 vs M=3,5 vs H=3,4;  $P=0,99$ ) y la segunda FW (C=4,0 vs M=4,6 vs H=4,5;  $P=0,61$ ) no se vio afectada por los tratamientos. El tratamiento no tuvo efecto en el crecimiento del CL en todo el ciclo estral ( $P=0,68$ ). La duración del ciclo estral ( $P=0,60$ ), el diámetro máximo del folículo dominante de la primera y la segunda FW ( $P=0,96$ ,  $P=0,64$ ), el periodo de dominancia folicular del folículo dominante de la primera y la segunda FW ( $P=0,99$ ,  $P=1,0$ ) y el diámetro del folículo ovulatorio ( $P=0,36$ ) no se vieron influenciados por la ingesta de gopisol en la dieta.

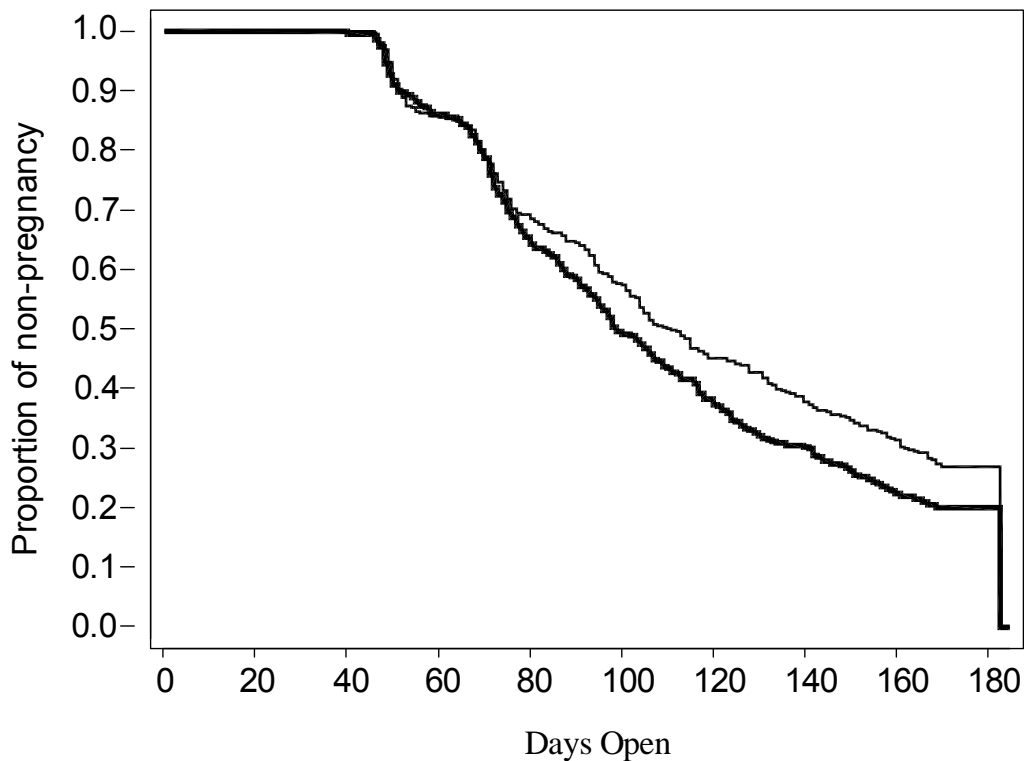
En los experimentos 2 y 3 (Coscioni et al., 2003b, Villaseñor et al., 2003), la cantidad de estructuras colectadas por vaquillona fueron respectivamente 9,4; 8,4; y 8,8 para C, M, y H ( $P=0,88$ ). La cantidad de embriones grado 1 y 2 fue similar en todos los tratamientos ( $P=0,87$ ) y tuvieron un promedio de 3,5; 3,6 y 3,3 para C, M y H respectivamente. Sin embargo, las vaquillonas que recibieron la dieta H (5,8) tuvieron mayor cantidad ( $P < 0,01$ ) de embriones grado 3 y degenerados que las que recibieron las dietas C (3,6) y M (3,2). La cantidad de oocitos infertilizados fue mayor ( $P < 0,01$ ) en las vaquillonas que recibieron dietas con gopisol que en las dietas control. El alto contenido de gopisol en la dieta retrasó el desarrollo embrionario y las vaquillonas alimentadas con las dietas C y M tuvieron una menor proporción de embriones clasificados como mórula que aquellas alimentadas con la dieta H (33,3 vs 20,2 vs 47,7 %;  $P < 0,02$ ). La cantidad total de células en embriones teñidos frescos fue similar en C, M y H (16,6 vs 14,8

vs 16,4; P=0,40). Sin embargo, la cantidad de células vivas fue mayor en C que en M pero no difirió en H (13,5 vs 10,4 vs 12,2; P=0,05). De igual modo, el porcentaje total de células vivas fue mayor en C que en M pero no difirió en H (80,2 vs 72,2 vs 78,1; P=0,02). Las horas de desarrollo para los embriones cultivados *in vitro* se redujo con el ácido acético de gosipol (77,1 vs 64,9 h; P=0,05) pero no se observó interacción alguna entre la dieta de la vaquillona y el medio de cultivo (P=0,50). La cantidad de células después del cultivo fue mayor en C que en M y en H (23,1 vs 20,3 vs 14,6; P<0,01) pero el medio de cultivo no afectó la cantidad de células (P=0,50). Los resultados indican que el consumo de hasta 40 mg de FG/kg de peso corporal no influyó sobre el desarrollo de CL y folículos en vaquillonas lecheras pero que la dieta de 40 mg de FG/kg de peso corporal aumentó la cantidad de embriones degenerados y obstaculizó el desarrollo embrionario antes del día 7 después de la IA. Además, las concentraciones de gosipol *in vitro* de 10 µg/ml dieron como resultado un retraso en el desarrollo embrionario.

Los resultados de estos estudios indican que la ingesta de FG hasta 40 mg/kg de peso corporal/d no afecta el desarrollo del CL y el folículo en vaquillonas Holstein pero puede afectar la fertilidad mediante la disminución de la fertilización y la demora del desarrollo embrionario. La reducción de la concepción y el aumento de la pérdida de preñez en bovinos lecheros alimentados con gosipol previamente demostrado en nuestro laboratorio podrían estar relacionados con una menor calidad y viabilidad embrionaria. Cuando las vacas lecheras en lactancia recibieron embriones de vaquillonas alimentadas con gosipol o con > 20 mg de gosipol libre/kg de peso corporal, las tasas de preñez se redujeron (P = 0,02) en aquellas vacas que recibieron embriones de vaquillonas alimentadas con gosipol (Galvão et al., 2004). De hecho, cuando las vacas se alimentaron con 720 o 950 mg/kg de FG en la dieta durante los primeros 180 d en lactancia, el consumo de gosipol aumentó de aproximadamente 17 a 24 g/d durante el curso del tratamiento, lo cual provocó diferencias marcadas en las concentraciones plasmáticas de gosipol en los primeros 150 d posparto (Santos et al., 2002). Estos cambios en las concentraciones plasmáticas de gosipol redujeron las tasas de concepción y aumentaron las pérdidas de preñez (Tabla 5), lo cual resultó en una reducción de las tasas de preñez generales durante el estudio completo (Figure 4; Santos et al., 2003).

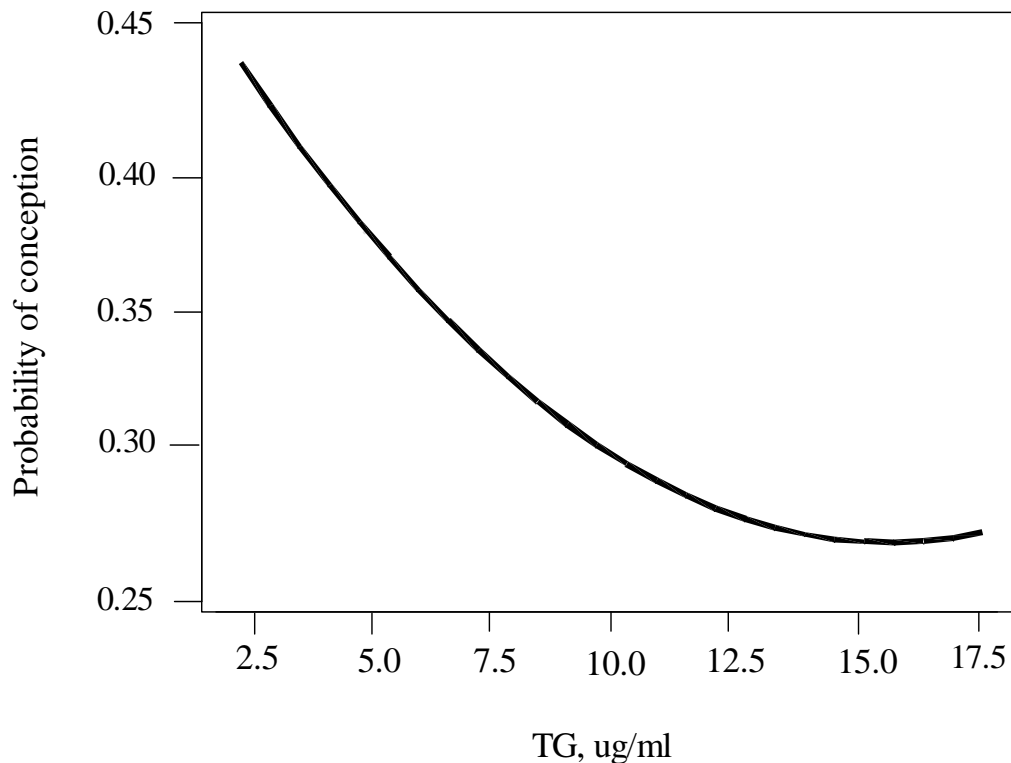
**Tabla 5.** Los efectos de la concentración de gosipol en la dieta sobre los parámetros reproductivos en vacas lecheras (Santos et al., 2003).

Parámetro (%)	Gosipol		P <
	Bajo	Alto	
Detección de celo	51,5	57,0	0,10
Concepción a la 1ª IA, %	28,2	29,3	0,73
Proporción preñadas	79,1	70,6	0,01
Abortos	3,3	7,9	0,01



**Figura 4.** Curvas de supervivencia de la proporción de vacas que siguen sin preñarse al recibir una dieta de bajo contenido de gossipol con semilla de algodón Upland entera (thick line; LSM = 111,2; SEM = 2,35) y de vacas alimentadas con la dieta con alto contenido de gossipol con una mezcla de semilla de algodón Upland entera y Pima partida (thin line; LSM = 119,1; SEM = 2,59). La dieta con alto contenido de gossipol redujo ( $P < 0,01$ ) las tasas de preñez (Santos et al., 2003).

Por lo tanto, la alimentación de vaquillonas Holstein con dietas que aportan  $> 20$  mg de FG/kg de peso corporal pueden suprimir el desarrollo embrionario. Cuando estos embriones se transfieren en vacas en lactancia, el mantenimiento de la preñez se ve comprometido. Además, cuando las vacas en lactancia reciben dietas que provocan concentraciones plasmáticas de gossipol que superan  $5 \mu\text{g/ml}$ , las tasas de concepción y el mantenimiento de la preñez se reducen. De hecho, cuando el impacto de las concentraciones plasmáticas de gossipol sobre las tasas de preñez después de la primera inseminación posparto fue evaluado, la concepción disminuyó de forma cuadrática a medida que aumentaron las concentraciones plasmáticas de gossipol (Figure 5, Santos et al., 2003). Por lo tanto, es prudente administrar a vacas lecheras en lactancia cantidades de semilla de algodón que generen bajas concentraciones plasmáticas de gossipol en plasma.



**Figura 5.** La probabilidad de concepción después de la primera inseminación artificial (IA) posparto según las concentraciones plasmáticas totales de gosispol (TG) ( $\mu\text{g/ml}$ ). El efecto cuadrático de TG en plasma sobre la probabilidad de concebir después de la primera IA posparto fue significativo ( $P < 0,006$ ).

### Implicancias

La ingesta inadecuada de nutrientes y las reservas corporales insuficientes durante la lactancia temprana son los principales factores que afectan el desempeño reproductivo de las vacas lecheras. El aumento del balance energético aumentando la ingesta de energía a través de NFC adicionales o de grasa suplementaria en la dieta reduce los días a la primera ovulación y mejora la tasa de concepción posparto. Cada vez más evidencia indica que el aporte de ácidos grasos insaturados para la absorción en el intestino podría afectar tejidos reproductivos y alterar la función reproductiva y la fertilidad. Presentamos resultados de 4 experimentos que indican que el desempeño reproductivo de las vacas lecheras se ve influenciado por ácidos grasos en la dieta cuando la concentración energética en la ración se mantiene. Sin embargo, se necesitan mejores métodos para proteger estos ácidos grasos si se desea utilizar cálculos precisos del aporte de lípidos insaturados en la formulación de la ración de bovinos lecheros para mejorar la fertilidad. La fuente de Se podría influenciar la salud y la reproducción de vacas

lecheras, pero la respuesta parece depender de las concentraciones de Se existentes en los ingredientes de la dieta. Finalmente, a pesar de que las vacas en lactancia pueden consumir cantidades sustanciales de gossypol sin efectos perjudiciales para la salud y la lactancia, cuando las concentraciones plasmáticas de gossypol aumentan por encima de 5 µg/ml, el desarrollo embrionario, además del establecimiento y mantenimiento de la preñez se ven comprometidos.

## Referencias

Beam, S.W., and W.R. Butler. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81:121-131.

Beam, S.W., and W.R. Butler. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56:133-142.

Bonczeck, R.R., C.W. Young, J.E. Wheaton, and K.P. Miller. 1988. Responses of somatotropin, insulin, prolactin, and thyroxine to selection for milk yield in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 71:2470-2478.

Brocas, C, R.M. Rivera, F.F. Paula-Lopes, L.R. McDowell, M.C. Calhoun, C.R. Staples, N.S. Wilkinson, A.J. Boning, P.J. Chenoweth, and P.J. Hansen. 1997. Deleterious actions of gossypol on bovine spermatozoa, oocytes, and embryos. *Biol. Reprod.* 57:901-907.

Bruno, R.G.W., K.N. Galvão, S.O. Juchem, W.W. Thatcher, E.J. DePeters, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004. Effect of Ca salts of palm and fish oils on lactation and reproduction of dairy cows under heat stress. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):336 (Abstr.).

Butler, S.T., A.L. Marr, S.H. Pelton, R.P. Radcliff, M.C. Butler, and W.R. Butler. 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J. Endocrinol.* 176:205-217.

Butler, W. R. 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 2533-2539.

Butler, W.R., and R.D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function. *J. Dairy Sci.* 72:767-783. Butler, 1998

Canfield, R.W., C.J. Sniffen, and W.R. Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73:2342-2349.

Cerri, R.L.A., R.G.S. Bruno, R.C. Chebel, K.N. Galvão, H. Rutigliano, S.O. Juchem, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):297 (Abstr.).

Chenoweth, P.J., C.C. Chase, Jr., C.A. Risco, and R.E. Larsen. 2000. Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls. *Theriogenology.* 53:1193-203.

Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, J.E.P. Santos, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003a. Effect of gossypol intake and plasma gossypol concentrations on follicle development and luteal function in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Chebel, J.E.P. Santos, J.H. Kirk, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003b. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on

embryo quality and development in superovulated Holstein dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Duffield, T.F., K.E. Leslie, D. Sandals, K. Lissemore, B.W. McBride, J.H. Lumsden, P. Dick, and R. Bagg. 1999. Effect of a monensin-controlled release capsule on cow health and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 82:2377-2384.

Ferguson, J.D., D. Sklan, W.V. Chalupa, and D.S. Kronfeld. 1990. Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73:2864-2879.

Galvão, K.N., J.E.P. Santos, A.C. Coscioni, S.O. Juchem, R.C. Chebel, W.M. Sischo, and M. Viñalaseñor. 2006. Embryo survival from gossypol-fed heifers after transfer to lactating cows treated with human chorionic gonadotropin. *J. Dairy Sci.* 89: 2056-2064.

Goff, J. P. 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *J. Dairy Sci.* 89: 1292-1301.

Gong, J. G., D. G. Armstrong, G. Baxter, C. O. Hogg, P. C. Garnsworthy, and R. Webb. 2002. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology.* 57: 1591-1602.

Grant, R.J., and J.L. Albright. 1995. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2791.

Hileman S.M., L.S. Lubbers, H.T. Jansen, and M.N. Lehman. 1999. Changes in hypothalamic estrogen receptor-containing cell numbers in response to feed restriction in the female lamb. *Neuroendocrinology.* 69:430-437.

Jordan, E.R., and R.H. Fourdraine. 1993. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. *J. Dairy Sci.* 76:3247-3256.

Juchem, S.O., R.L.A. Cerri, M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Bruno, H.M. Rutigliano, A.C. Coscioni, E.J. DePeters, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004a. Effect of feeding Ca salts of palm oil (PO) or of a blend of linoleic and monoenoic trans fatty acids (LTFA) on lactation and health of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):95-96 (Abstr.).

Juchem, S.O., R.L.A. Cerri, R. Bruno, K.N. Galvão, E.W. Lemos, M. Villaseñor, A.C. Coscioni, H.M. Rutigliano, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004b. Effect of feeding Ca salts of palm oil (PO) or of a blend of linoleic and monoenoic trans fatty acids (LTFA) on uterine involution and reproductive performance in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):310 (Abstr.).

Juchem, S.O., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, R.C. Chebel, K.N. Galvão, E.J. DePeters, W.W. Thatcher, and F. Silvestre. 2007a. Reproduction and uterine prostaglandin secretion of dairy cows fed calcium salts of fish oil. *J. Dairy Sci.* (submitted March 2007).

Juchem, S.O., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, R.C. Chebel, K.N. Galvão, R. Bruno, E.J. DePeters, T. Scott, W.W. Thatcher, and D. Luchini. 2007b. Effect of calcium salts of fish and palm oils on lactational performance of Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* *In press.*

Kendrick, K.W., T.L. Bailey, A.S. Garst, A.W. Pryor, A. Ahmadzadeh, R.M. Akers, W.E. Eyestone, R.E. Pearson, and F.C. Gwazdauskas. 1999. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration. *J. Dairy Sci.* 82:1731-1740.



Loeffler, S. H., M. J. de Vries, and Y. H. Schukken. 1999. The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 2589-2604.

Lundy, III, F.P., E. Block, W.C. Bridges, Jr., J.A. Bertrand, and T.C. Jenkins. 2004. Ruminant biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *J. Dairy Sci.* 87:1038-1046.

Nebel, R.L., and M.L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3257-3268.

Radcliff, R.P., B.L. McCormack, B.A. Crooker, and M.C. Lucy. 2003. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 920-3926.

Randel R.D., C.C. Chase Jr., and S.J. Wyse. 1992. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. *J. Anim. Sci.* 70:1628-1638.

Rhoads, R.P., J.W. Kim, B.J. Leury, L.H. Baumgard, N. Segole, S.J. Frank, D.E. Bauman, and Y.R. Boisclair. 2004. Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. *J. Nutr.* 134:1020-1027.

Risco, C.A., C.A. Holmberg, and A. Kutches. 1992. Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. *J. Dairy Sci.* 75:2787-2798.

Rutigliano, H.E., R.L.A. Cerri, F.S. Lima, L.F. Vettorato, D.B. Araujo, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2006a. Effects of source of supplemental Se on health and immune status of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):165 (Abstr.).

Rutigliano, H.M., F.S. Lima, R.L.A. Cerri, L.F. Greco, J.M. Vilela, V. Magalhaes, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2006b. Effects of source of supplemental Se and method of presynchronization on reproduction and lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):151 (Abstr.).

Santos, J.E.P., S.O. Juchem, R.L.A. Cerri, K.N. Galvão, R.C. Chebel, W.W. Thatcher, C. Dei, and C. Bilby. 2004a. Effect of bST and reproductive management on reproductive and lactational performance of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 68-881.

Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, and K.N. Galvão. 2004b. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83C:513-535.

Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and C.H. Holmberg. 2003. Type of cottonseed and gossypol in diets of lactating dairy cows: Plasma gossypol, reproduction, and health. *J. Dairy Sci.* 86:892-905.

Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and B.C. Baldwin. 2002. Effect of type of cottonseed and gossypol intake on plasma gossypol and performance of lactating Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:1491-1501.

Santos, J.E.P., J.T. Huber, C.B. Theurer, C.M. Nussio, L.G. Nussio, M. Tarazon, and D. Fish. 2000. Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. *J. Dairy Sci.* 83:1004-1015.

Staples, C.R., J.M. Burke, and W.W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:856-871.

Stevenson, J.S. 2001. Reproductive management of dairy cows in high milk-producing herds. *J. Dairy Sci.* 84(E. Suppl.):E128-E143.

Silvestre, F.T., D.T. Silvestre, C. Crawford, J.E.P. Santos, C.R. Staples, and W.W. Thatcher. 2006a. Effect of selenium (Se) source on innate and adaptive immunity of periparturient dairy cows. *Biol. Repro.* 39<sup>th</sup> Annual Meeting. Special Issue. Pp. 132.

Silvestre, F.T., D.T. Silvestre, J.E.P. Santos, C. Risco, C.R. Staples, and W.W. Thatcher, 2006b. Effects of selenium (Se) sources on dairy cows. *J. Anim. Sci.* 89 (Suppl. 1):52.

Sumida, C., R. Graber, and E. Nunez. 1993. Role of fatty acids in signal transduction: modulators and messengers. *Prost. Leukot. Essent. Fatty Acids* 48:117-122.

Thatcher, W.W., T. Bilby, C.R. Staples, L. MacLaren, and J. Santos. 2004. Effects of polyunsaturated fatty acids on reproductive processes in dairy cattle. *In: Proc. Southwest Nutrition & Management Conference, Bioproducts, Inc. Pre-Conference Symposium. Phoenix, AZ, February 26.*

Theurer C.B., J.T. Huber, A. Delgado-Elorduy, and R. Wanderley. 1999. Invited review: summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1950-9.

Vasconcelos, J.L.M., S. Sangsritavong, S.J. Tsai, and M.C. Wiltbank. 2003. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology.* 60:795-807.

Velasquez-Pereira, J., P.J. Chenoweth, L.R. McDowell, C.A. Risco, C.A. Staples, D. Prichard, F.G. Martin, M.C. Calhoun, S.N. Williams, and N.S. Wilkinson. 1998. Reproductive effects of feeding gossypol and vitamin E to bulls. *J. Anim Sci.* 76:2894-2904.

Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, R.S. Emery, T.L. Chaplin, and R.L. Fogwell. 1988. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:1063-1069.

Villaseñor, M., A.C. Coscioni, K.N. Galvão, S.O. Juchem, J.E.P. Santos, and B. Puschner. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo development and viability *in vivo* and *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Wade, G.N., and J.J. Jones. 2004. Neuroendocrinology of nutritional infertility. *Am. J. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 287:1277-1296.

Weiss, W. P. 2003. Selenium nutrition of dairy cows: comparing responses to organic and inorganic selenium forms. Pg 33-343 in *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*, Alltech Inc., Lexington, KY.



## CÓMO MEJORAR LA EFICIENCIA DEL TRASPASO NATURAL DE GENÉTICA MEJORADA EN RODEOS DE CARNE Y LECHEROS

---

**Michael McGowan**

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Queensland, Brisbane, Australia

### **Resumen**

Durante los últimos 25 años, se han realizado avances importantes en la genética cuantitativa y molecular que permite la selección precisa de toros con genética superior por características importantes de salud y producción. La transferencia de esta genética mejorada, en la mayoría de los rodeos comerciales de carne y algunos rodeos lecheros, es a través del servicio natural. Por lo tanto, es de suma importancia identificar a los toros genéticamente superiores que son los que tienen la mayor posibilidad de preñar eficientemente a la mayoría de las hembras que deben servir. Este enfoque para la selección de toros de reposición maximizará los beneficios de salud, bienestar y productividad de programas de mejoramiento genético de animales de carne y algunos lecheros también. Para cada componente principal de la fertilidad del toro (normalidad anatómica, producción y calidad de semen, capacidad de servicio y libido) se han desarrollado medidas objetivas estandarizadas y valores mínimos para cada medida establecida. Los estudios de población realizados en América del Norte y Australia han demostrado que entre el 20 y 30 % de los toros en edad de servicio son subfértiles o infértiles. La mayoría es subfértil. No se ha realizado el examen reproductivo de rutina de toros que se utilizan para la reproducción natural en el Reino Unido desde la desaparición del Milk Marketing Board (Junta de comercialización de la leche) y hasta hace poco tiempo, se examinaban pocos toros sistemáticamente antes de la compra o el uso.

## Introducción

En los rodeos de carne y lecheros que utilizan principalmente el servicio natural, si los factores femeninos no son limitantes, es decir, si las hembras tienen una probabilidad normal de concepción, es posible que la fertilidad del toro sea un factor importante que afecte la tasa de concepción y el patrón de concepción y por ende, el patrón de parición. El patrón de parición afecta principalmente la eficiencia y calidad de manejo y de salud de la progenie y es un factor principal al determinar el patrón de concepción de la próxima temporada de servicio. De acuerdo con los datos del Censo de agricultura de 2003, hay alrededor de 96.000 toros que se pueden utilizar o están siendo utilizados para servicio en el Reino Unido. Los informes anecdóticos de productores en todo el Reino Unido indican que la infertilidad o subfertilidad del toro es una causa importante de desempeño reproductivo malo o por debajo del óptimo en los rodeos. En muchos casos, el enfoque que han tomado los productores para minimizar el impacto de utilizar inadvertidamente un toro subfétil o infértil con los rodeos en servicio ha sido emplear prácticas como la rotación regular de toros o aumentar la cantidad de toros de servicio para cada grupo reproductivo. Estas prácticas aumentan los costos de los toros por ternero producido y reducen la tasa de mejoras genéticas en estos rodeos. Si los productores tuvieran más confianza en el posible rendimiento reproductivo de los toros que van a utilizar, puede que tiendan a:

- a) Comprar menos toros pero mejores (sin aumentar necesariamente su gasto anual en toros de reposición).
- b) Servir más hembras con cada toro, es decir, aumentar la relación tradicional hembra-toro de 30 vacas/vaquillonas por toro a 50 vacas/vaquillonas por toro.

## Cómo identificar toros genéticamente superiores

Desde comienzos de la década de 1990, los valores reproductivos estimados (VRE) (cálculos imparciales del potencial genético de animales de servicio según el rendimiento del animal y sus congéneres en otros rodeos) han estado disponibles para los productores de carne de Reino Unido para ayudar en la selección precisa de animales genéticamente superiores. Hay índices genéticos similares disponibles para toros reproductores lecheros utilizados en IA y se pueden determinar fácilmente para los toros lecheros que se quiere utilizar para servicio natural. Con respecto a maximizar la tasa de mejoramiento genético en un rodeo, vale la pena reiterar que “el toro es la mitad del rodeo” y por lo tanto, cualquier programa de mejoramiento genético debe concentrarse primero en la selección del toro. Lowman (2004) ha revisado recientemente cómo se calculan los VRE y cómo se deben aplicar a la selección de bovinos reproductivos de carne. La tabla 1 ofrece una lista de características en bovinos de carne en la que generalmente están disponibles los VRE. Además, se debe reconocer que cualquier característica que haya sido medida objetivamente y registrada sistemáticamente y para la que se pueda calcular una estimación de su genética, se puede calcular un VRE. Recientemente, los investigadores del Australian Beef Cooperative Research Centre (CRC) han calculado un VRE para la velocidad del vuelo, una medida sensible del temperamento animal.

**Tabla 1** VRE actualmente disponibles en el Reino Unido para bovinos de carne

<i>VRE de Parición</i>	<i>VRE de Crecimiento</i>	<i>VRE de Carcasa</i>	<i>VRE maternos</i>
Duración de la gestación	Peso a los 200 días	Escore muscular	Leche de 200 días
Facilidad de parición	Peso a los 400 días	Profundidad del músculo	
Peso al nacer	Profundidad de grasa		

Se han producido grandes desarrollos en el campo de la biología molecular que han dado lugar a una variedad de pruebas con marcadores genéticos para características de salud y producción y enfermedades genéticas específicas como la protoporfiria en Limousine, enfermedad de orina olor a jarabe de arce (MSUD) en Hereford y Shorthorn, y manosidosis en Angus, Galloway y Saler. Recientemente se puede acceder comercialmente a marcadores de ternura y marmolado de la carcasa de bovinos de carne. El uso de la genética molecular para mejorar las poblaciones de ganado ha sido revisado por Dekkers y Hospital (2002). La selección asistida por marcadores es especialmente beneficiosa cuando las características tienen poca heredabilidad y cuando no pueden medirse hasta que el animal alcanza la edad reproductiva o después de la faena.

### ¿Cuál es el impacto del uso de un toro subfétil en un rodeo reproductivo?

Las tasas generales de preñez inferiores (especialmente en rodeos que utilizan periodos de servicio cortos) y una amplia distribución de la parición, son las consecuencias más importantes de utilizar inadvertidamente un toro subfétil en un rodeo reproductivo. El último puede afectar marcadamente la eficiencia y calidad del manejo y la salud, lo que hace que se retengan menos vaquillonas para reproducción debido a las tasas de crecimiento subóptimas y pesos de carcasas y calidad de carcasa menores que lo esperado en los terneros vendidos para faena.

Si se toma un ejemplo simple, dos toros de carne, de los cuales dos tienen VRE altos (+40) para el peso de 400 días, el toro A es de fertilidad normal pero el toro B es subfétil (tiene una desviación espiral prematura del pene en uno de cada tres intentos de servicio y obtuvo una tasa de preñez inferior al 30 %). Cada toro sirve a 50 vacas fértiles, 3 meses al año, durante 4 años. En total, el toro B engendra aproximadamente 60 terneros menos y la proporción de la parición de este rodeo en los primeros 21 días de cada temporada de parición es significativamente inferior que en el rodeo del toro A. Los productores de rodeos de carne pero también los de rodeos lecheros que tienen pariciones por temporada, generalmente no aprecian totalmente la importancia del rendimiento reproductivo del ganado en los primeros 21 días de la temporada de servicio, ya que determina enormemente el patrón de parición posterior y, por lo tanto, la eficiencia con la que se puede manejar el ganado.

### **Estrategias para maximizar los beneficios de la utilización de toros genéticamente superiores (GS) en programas reproductivos naturales**

1. *augmentar la cantidad de terneros engendrados por los toros GS.*

Esto se logra haciendo lo siguiente:

- a) Aumentar la cantidad de hembras servidas por cada toro. Generalmente los productores en el Reino Unido utilizan una relación toro:hembra conservadora que es tradicionalmente de un toro por cada 30 hembras reproductoras. Sin embargo, Rupp et al (1977) mostraron que la detección de celo de los toros era similar en las relaciones toro:hembra de 1:25, 1:44 y 1:60. También mostraron que cuando los toros eran seleccionados por ser físicamente normales y no tener ninguna anomalía que pudiera afectar la función reproductiva, producir semen con motilidad satisfactoria y con menos del 30 % de espermatozoides anormales, alcanzaban relaciones de preñez similares a los 21 días cuando hicieron servicios con relaciones toro: hembra de 1:44 y 1:60. La decisión de aumentar la cantidad de hembras por toro debe ser acompañada con un examen de aptitud reproductiva de rutina de todos los toros antes del servicio. McGowan (2004) describió en detalle el enfoque para este examen. Para cada componente de fertilidad, se han desarrollado medidas objetivas estandarizadas y se han creado valores mínimos estándar (Entwistle and Fordyce, 2003). Análisis de datos de una clínica veterinaria en Escocia que ahora realiza BBSE de rutina muestran que el 13,4% de 224 toros examinados produjeron eyaculados con > 30 % de espermatozoides anormales.
- b) Seleccionar toros que tengan una alta capacidad de servicio. La capacidad de servicio es una medida entre la habilidad de servicio normal y la libido del toro. Se ha mostrado que tiene una relación positiva con la tasa de preñez alcanzada durante los primeros 21 días de la temporada de servicio. En un estudio con toros Hereford de un año, que lograron un promedio de 3,9 servicios en 30 minutos cuando se los expuso a hembras en celo inmovilizadas, preñaron el 58 % de 50 hembras con las que los colocaron durante 21 días. Esto contrasta con la tasa de preñez del solamente 15 % de los toros que lograron un promedio de 0,3 servicios en un test de capacidad de servicio de 30 minutos. Muchos estudios de campo han mostrado que aproximadamente uno de cinco toros tiene una libido baja o capacidad de servicio reducida. También se ha mostrado que la libido es una característica moderadamente heredable (las estimaciones varían entre 0,5 y 0,6) Generalmente, la capacidad de servicio se evalúa mejor observando a los toros en un campo con una pequeña cantidad de vaquillonas o vacas inmovilizadas. Las pautas para realizar este test han sido desarrolladas por Australian Cattle Veterinarians (Entwistle and Fordyce, 2003). La clasificación general de los toros según su capacidad de servicio, determinada durante un periodo de prueba de 20 minutos, es baja (0 a 1 servicio), moderada (2 a 3 servicios) y alta (4 o más servicios). Aunque se utilicen relaciones toro-hembras conservadoras, los toros con una capacidad de servicio alta pueden lograr tasas de preñez más altas en las primeras 6 semanas de servicio que los toros con una capacidad de servicio baja.

## *2. criar y seleccionar toros de reposición para asegurarse de que sigan siendo aptos funcionalmente en su vida activa*

El análisis preliminar de los datos del UK Cattle Tracing System (sistema de rastreo de bovinos del Reino Unido) mostró que de los 571 toros vendidos para fines reproductivos, se registraron 124 dentro del plazo de 2,5 años desde la compra. Hay evidencia contundente de que los toros que se alimentan con raciones con alto contenido energético y proteico entre el destete y los 12 meses de edad para lograr tasas de crecimiento de 1,5 kg/día o más, tienen un riesgo superior de descarte prematuro debido a la enfermedad degenerativa de las articulaciones que afecta las extremidades posteriores y la zona lumbar. Los estudios detallados de autopsias realizadas recientemente en Suecia (Dutra et al, 1999), han mostrado que los toros que crecen rápidamente tienen una incidencia

alta de lesiones que se relaciona con la enfermedad degenerativa de las articulaciones que afecta las principales articulaciones de las extremidades posteriores. Además, hay una clara evidencia de que los toros alimentados con raciones de alto contenido energético hasta los 2 años de edad tienen un rendimiento reproductivo reducido. Los toros tienen medidas superiores de grasa en la parte trasera y en la necropsia muestran una gran cantidad de grasa depositada en el cuello del escroto, alrededor del plexo pampiniforme y sobre los testículos. El efecto neto de este "aislamiento escrotal" inducido es una reducción de la producción diaria de espermatozoides y de la calidad de espermatozoides producida. Además, hay evidencia que muestra que los toros con demasiada condición tienen una libido reducida. Tal vez tenga mayor importancia el riesgo de degeneración testicular grave en estos toros si se reduce significativamente su plan de nutrición después de la compra. Además, es sabido que los bovinos alimentados con raciones con alto contenido de granos de cereal durante periodos prolongados tienen un riesgo significativamente mayor de problemas de pezuña, además de problemas como vesiculitis y abscesos en el hígado. Es posible que los toros que han sido alimentados para lograr pesos de venta finales y tasas de crecimiento muy altas no se adapten bien a los rigores de los sistemas de servicios naturales de las producciones tradicionales y pueden estar más expuestos a los factores de estrés de ambiente y manejo.

Por lo tanto, se debe alimentar a los toros de reposición con raciones a base de forraje principalmente para lograr tasas de crecimiento moderadas (aproximadamente 1 kg/día) y para tener un escore de condición corporal entre 2,5 y 3,0 (en una escala del 1 al 5) en el momento del servicio. La conformación de los toros de reposición también se debe evaluar críticamente. Los toros con una mala conformación de pezuña o extremidades excesivamente rectas tienen un riesgo mayor de descarte prematuro y es posible que transmitan estas características indeseables a su progenie.

### 3. *servir con toros GS de un año*

La principal ventaja de servir con toros GS de un año es acortar el intervalo generacional y el consiguiente aumento de la tasa de mejoramiento genético en el rodeo reproductivo y un mejor retorno de la inversión en esta genética superior. Si los toros van a servir al año, es importante identificar aquellos toros que tienen un espermiograma maduro (es decir, producen eyaculados que contienen por lo menos 400 millones de espermatozoides/ml, 50 % de motilidad espermática y 70 % de espermatozoides morfológicamente normales) y comportamiento de servicio normal. Existe una variación considerable al comienzo de la pubertad dentro y entre las razas, por ejemplo, para los toros Charolais, el rango informado es entre 231 y 371 días. Un determinante importante del comienzo de la pubertad es el desarrollo testicular que es influenciado considerablemente por la tasa de crecimiento del toro y el VRE de la circunferencia escrotal del reproductor. Los periodos más importantes en el crecimiento de los testículos son entre los 3 y 5 meses y entre los 8 y 14 meses de edad. A los 24 meses de edad, los testículos tendrán el 90 % del tamaño maduro de los toros que tienen por lo menos un plan de nutrición moderado. La medida de la circunferencia escrotal es probablemente el indicador más sensible del comienzo de la pubertad. Se ha informado que la medida de la circunferencia escrotal de los toros reproductores lecheros y de carne en la pubertad es de un promedio de 28 cm con un rango entre 26 y 30 cm. Si los toros sirven al año, deben tener una circunferencia escrotal de por lo menos entre 30 y 32 cm. Es importante identificar a los toros jóvenes que producen semen de calidad satisfactoria. Después del comienzo de la pubertad, hay un periodo de aproximadamente de entre 3 ó 4 meses durante el cual los testículos son totalmente funcionales y la proporción de espermatozoides morfológicamente normales aumenta progresivamente a los porcentajes de los adultos normales (es decir, mayor al 70 %). Sin embargo, como sucede con el comienzo de la pubertad, en los toros que ya pasaron la pubertad hay una variación considerable en la duración del tiempo requerido para producir semen de calidad satisfactoria. Estudios realizados en



Canadá han demostrado que aproximadamente entre el 30 % y el 60 % de los toros de 12 y 14 meses de edad respectivamente tienen semen de calidad satisfactoria. Por lo tanto, si los toros van a servir al año de edad, se deben identificar esos toros que llegan a la pubertad en forma precoz y que rápidamente alcanzan una función testicular normal; en otras palabras, se deben seleccionar toros de madurez precoz. Además, es sabido que los toros vírgenes transitan una "curva de aprendizaje" con respecto al desarrollo del comportamiento sexual normal. Se debe considerar proveer experiencia sexual a los toros de un año seleccionados antes del servicio. Esto se puede lograr colocándolos con algunas hembras en celo durante varias semanas antes de comenzar el servicio. Los toros de un año que han sido seleccionados por un desarrollo testicular satisfactorio y calidad de semen y conducta sexual normal pueden servir en relaciones de toro:hembras de 1:30.

## Conclusiones

En rodeos lecheros y de carne con servicio natural, si se desean obtener los beneficios de los avances importantes en la genética cuantitativa y molecular, se debe hacer un examen de aptitud reproductiva sistemático de rutina para permitir la identificación de los toros genéticamente superiores que son los que fecundarán eficientemente rodeos de por lo menos 50 hembras reproductoras. Una mayor investigación de marcadores de fertilidad como la fertilidad asociada con proteínas en el plasma seminal (Killian et al, 2000) puede permitir una identificación más precisa de toros con fertilidad superior.

## Referencias

- Dekkers JCM and Hospital F (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Review Genetic* 3:22-32
- Dutra F, Carlsten J and Ekman S (1999) Hindlimb skeletal lesions in 12-month old bulls of beef breeds. *Zentralbl Veterinarmed A* 46:489-508
- Entwistle K and Fordyce G (2003) Evaluating and reporting bull fertility. Published by the Australian Cattle Veterinarians, Brisbane Australia
- Lowman B.(2004) Estimated breeding values for beef cattle. *In Practice* 26: 206-211
- Killian G, Chapman D, Cancel A, Gerena R (2000) Protein markers for fertility in seminal plasma. *In Proc. 14<sup>th</sup> ICAR, Stockholm* 2:277
- McGowan MR (2004) Approach to conducting bull breeding soundness examinations. *In Practice* 26:485-491



**APLICAÇÃO INTEGRADA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA  
OVULAÇÃO E MANEJO REPRODUTIVO EM BOVINOS DE  
CORTE CRIADOS EM CONDIÇÕES EXTENSIVAS**

---

**Pietro S. Baruselli<sup>1</sup>, José Nélio S. Sales<sup>1</sup>, Gabriel A. Crepaldi<sup>1</sup>,  
Márcio O. Marques<sup>2</sup>, Luciano Penteado<sup>3</sup>, Gabriel Bo<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, Rua Prof. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil.

<sup>2</sup>Geraembryo, Cornélio Procópio, PR, Brasil.

<sup>3</sup>Firmasa-IATF, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>4</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba, J.L. de Cabrera 106, X5000GVD, Argentina  
(e-mail: [barusell@usp.br](mailto:barusell@usp.br))

## **INTRODUÇÃO**

O rebanho bovino brasileiro é composto por mais de 200 milhões de animais (MAPA, 2007), sendo que o gado zebu (*Bos indicus*) corresponde a aproximadamente 80% desse patrimônio. A predominância dessa raça se deve a maior adaptabilidade às condições climáticas (altas temperaturas e umidade) e a disponibilidade de alimentos (sazonalidade quali-quantitativa da produção de forrageiras) encontrados no Brasil tropical. Porém, apesar dessas características adaptativas dos zebuínos às condições tropicais, na grande maioria dos rebanhos brasileiros observa-se comprometimento nos índices reprodutivos. Dessa forma, torna-se necessária a adoção de técnicas que objetivam melhorar a eficiência reprodutiva, com conseqüente aumento na produção de bezerros e na rentabilidade da propriedade.

Aliadas a otimização da eficiência reprodutiva, as técnicas de melhoramento genético possibilitam selecionar indivíduos com maior desenvolvimento ponderal, rendimento de carcaça, produção leiteira, capacidade de conversão alimentar, precocidade, entre outras características zootécnicas. Assim, a eficiente multiplicação de animais superiores por biotécnicas da reprodução pode proporcionar maior retorno econômico à atividade. Desta forma, elevados índices reprodutivos, associados ao melhoramento genético do rebanho, devem ser metas que norteiam os técnicos e criadores a alcançarem maior produtividade.

Segundo o Anualpec de 2004, o rebanho bovino brasileiro é composto por mais de 73 milhões de vacas e novilhas em idade reprodutiva. Nesse mesmo ano a produção de bezerros foi de aproximadamente 42 milhões, representando taxa de desmama de 57,6%. Levando em conta uma taxa

de mortalidade de bezerros de 8%, a taxa de nascimento do rebanho brasileiro é de 65%, o que resulta em intervalo entre partos de 18 meses (540 dias). Projeta-se, também, um período de serviço (parto/concepção) de 8,5 meses (255 dias). Esses dados são indicativos de que o rebanho brasileiro apresenta baixa eficiência reprodutiva com comprometimento da produtividade.

Com um hipotético aumento de 10% na eficiência reprodutiva, ou seja, com a elevação da taxa de nascimento de 65 para 75%, o intervalo entre partos passaria para 16 meses (480 dias) e o período de serviço (parto/concepção) para 6,5 meses (195 dias). Com essa melhora na eficiência reprodutiva seria possível produzir 6,5 milhões de bezerros a mais com o mesmo rebanho, totalizando 48,5 milhões de bezerros produzidos por ano. Esse aumento na produção representa significativo incremento na produtividade e rentabilidade do rebanho bovino brasileiro.

Trenkle & Wilham (1977) demonstraram que, do ponto de vista econômico, o desempenho reprodutivo de um rebanho é cinco vezes mais importante do que o crescimento ponderal e 10 vezes mais importante do que a qualidade da carcaça de seus indivíduos. Assim, um programa de inseminação artificial, que tecnicamente procura introduzir material genético superior para aumentar o crescimento ponderal e a qualidade da carcaça, não deve comprometer a eficiência reprodutiva do rebanho.

O objetivo dessa revisão é apresentar informações sobre os aspectos fisiológicos e de manejo reprodutivo de fêmeas bovinas, comparando as principais diferenças entre zebuínos e taurinos. Procura, também, demonstrar os novos avanços na técnica de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo e seu impacto na eficiência reprodutiva em bovinos de corte.

## CARACTERÍSTICAS DO ESTRO COMPORTAMENTAL EM FÊMEAS TAURINAS E ZEBUÍNAS

Durante a fase do estro, as fêmeas bovinas apresentam manifestações comportamentais caracterizadas por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, mugidos freqüentes, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção, entre outras características. Por um longo período estes sinais foram e ainda são empregados para a detecção convencional do estro. Contudo, as características do estro são influenciadas por uma série de fatores, entre os principais: a idade (De Silva *et al.*, 1981), a produção de leite (Van Vliet e Van Eerdenburg, 1996), as condições ambientais (White *et al.*, 2002) e os fatores sociais, como a hierarquia (Galina *et al.*, 1994, revisado em Landaeta-Hernández *et al.*, 2004). Adicionalmente, existem diferenças observadas entre raças (Rae *et al.*, 1999), e embora ainda não completamente elucidadas, entre grupos genéticos (zebuínos e taurinos).

Fêmeas *Bos indicus* geralmente apresentam estro de duração mais curta (aproximadamente 10 horas), o que dificulta sua detecção (Galina e Arthur, 1990 revisado em Bó *et al.*, 2003). Somado a este fator, mais de 50% dos animais desse grupo genético iniciam a manifestação de cio no período noturno (entre 18:00 e 6:00 h; Pinheiro *et al.*, 1998; Membrive, 2000), sendo que cerca de 30% iniciam e encerram o estro durante a noite (Pinheiro *et al.*, 1998), dificultando o manejo e a eficácia da detecção de cio. Em condições brasileiras de manejo, foi avaliado o comportamento reprodutivo de vacas de corte com auxílio de radiotelemetria (Heat-Watch). Verificou-se que a duração do estro em *Bos indicus* é menor do que em *Bos taurus* (12,9±2,9 horas em Nelore vs. 16,3±4,8 horas em Angus; Mizuta, 2003). Apesar disso, o intervalo entre o início do estro e a ovulação não apresentou diferenças entre essas duas raças (Nelore, 27,1±3,3 h vs. Angus, 26,1±6,3 h). No entanto, estudos recentes indicam que vacas Holandesas (*Bos taurus*) de alta produção também apresentam estro de curta duração. Existem relatos de que há uma relação negativa entre a produção de leite e a duração do estro (Wiltbank *et al.*, 2006). Esses autores especulam que vacas de alta produção (acima de 40kg de leite por dia) apresentam diminuição das concentrações circulantes de estradiol, decorrente do aumento do metabolismo desse esteróide (Wiltbank *et al.*, 2006). Esses dados são indicativos de que é necessário conhecer as características do estro

comportamental e da ovulação para implantar eficientes programas de detecção de cio, levando em consideração as diferenças de manejo e entre os grupos genéticos (*Bos indicus* e *Bos taurus*).

## DESENVOLVIMENTO FOLICULAR

O desenvolvimento folicular de bovinos ocorre em um padrão de ondas. Cada onda de crescimento folicular é caracterizada por um grupo de pequenos folículos que são recrutados (emergência folicular) e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (Ginther *et al.*, 2003). Destes, apenas um continua seu desenvolvimento (folículo dominante), enquanto os outros sofrem decréscimo de tamanho (folículos subordinados; Lucy *et al.*, 1992), estabelecendo-se então, o fenômeno da divergência folicular. Após a divergência, e na presença de altos níveis de progesterona - que promove redução da frequência na pulsatilidade de LH - o folículo dominante torna-se anovulatório. A partir desse momento começa o processo de atresia e perda da dominância, dando início a uma nova onda de crescimento folicular (Ginther *et al.*, 1989; Webb *et al.*, 1999). Contrariamente, o folículo dominante presente no momento da regressão luteínica culmina na ovulação (Fortune *et al.*, 2004).

Existem diferenças na dinâmica folicular entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. Uma particularidade observada entre zebuínos e taurinos, diz respeito ao número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral. Estudos realizados em animais da raça Holandesa demonstraram predominância de duas e três ondas de crescimento folicular por ciclo estral (Savio *et al.*, 1988; Sirois e Fortune, 1988; Ginther *et al.*, 1989; Wolfenson *et al.*, 2004). Contudo, em zebuínos existem relatos que descrevem maior incidência de 3 ondas, sendo notificada a presença de até 4 ondas de crescimento folicular por ciclo estral (Brahman – Rhodes *et al.*, 1995; Nelore – Figueiredo *et al.*, 1997; Gir – Viana *et al.*, 2000).

Além da diferença no número de ondas, existem trabalhos que descrevem que fêmeas *Bos indicus* recrutam maior número de folículos por onda de crescimento folicular que fêmeas *Bos taurus* (33,4  $\pm$  3,2 vs 25,4  $\pm$  2,5; Carvalho *et al.*, 2007). Essa característica tem influência direta na eficiência da técnica de transferência de embriões e de OPU-PIV, indicando vantagem de fêmeas zebuínas sobre taurinas. Existem relatos de que o número de folículos recrutados por onda de crescimento folicular apresenta diferenças entre indivíduos, e essa característica possui alta repetibilidade durante a vida reprodutiva da fêmea (Boni *et al.*, 1997), indicando ser uma importante ferramenta de seleção.

Esse aumento do número de folículos presentes nos ovários pode estar relacionado ao sistema IGF. Existem evidências de que o sistema IGF difere entre esses grupos genéticos. Estudos realizados com vacas Brahman foram sugestivos de que esses animais apresentam maiores concentrações plasmáticas de IGF-I (Simpson *et al.*, 1994, Alvarez *et al.*, 2000) e menores concentrações de FSH quando comparadas com vacas Angus (Alvarez *et al.*, 2000). Alguns autores levantaram a hipótese de que o maior número de folículos presentes no ovário de *Bos indicus* pode ser devido à elevada concentração de IGF-I, mesmo na presença de baixos níveis de FSH (Bó *et al.*, 2003). Essa diferença nas concentrações de FSH e de IGF-I pode explicar a maior sensibilidade ao tratamento superovulatório em doadoras *Bos indicus* (Barros e Nogueira, 2001). Existem relatos que confirmam que é possível reduzir consideravelmente a dose de FSH para superovular fêmeas Nelore (Baruselli *et al.*, 2003), empregando doses inferiores às usualmente utilizadas para *Bos taurus*.

A divergência (ou desvio) folicular é definida pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade no desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros (Ginther *et al.*, 1996; 2001). Em bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*), o desvio tem início por volta do dia 2,8 após a emergência, quando o folículo dominante atinge em média 8,5 mm e o folículo subordinado 7,2 mm (Ginther *et al.*, 1996). Já, em novilhas da raça Nelore (*Bos indicus*), descreve-se período de 2,5 a 2,7 dias após a ovulação (Gimenes *et al.*, 2005b; Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2006). Embora não se tenha testado simultaneamente, os diâmetros do folículo

dominante e subordinado parecem ser menores em *Bos indicus* do que em *Bos taurus*. Para *Bos indicus*, não há grande variação descrita quanto ao diâmetro do folículo subordinado (5,3 a 5,9 mm; Gimenes *et al.*, 2005b; Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2006) e do folículo dominante (5,4 a 6,2 mm, Gimenes *et al.*, 2005b; Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2006). Resumidamente, os dados de literatura são indicativos de que a divergência folicular em *Bos indicus* ocorre com diâmetros inferiores aos reportados para *Bos taurus*.

Contudo, apesar de relatos sobre a aquisição de receptores de LH pelo folículo dominante no momento da divergência, existem estudos demonstrando que este folículo ainda não é responsivo a um indutor de ovulação. Sartori *et al.* (2001) verificaram que a capacidade ovulatória em vacas Holandesas ocorre somente após os folículos alcançarem 10 mm de diâmetro. Recentemente foi realizado um experimento a fim de verificar o diâmetro no qual os folículos de novilhas *Bos indicus* (Nelore, Gir e cruzadas Nelore x Gir) adquirem capacidade ovulatória (Gimenes *et al.*, 2005a). As fêmeas foram tratadas com 25 mg de LH quando o folículo dominante atingiu os seguintes diâmetros: 7,0 a 8,4 mm; 8,5 a 10,0 mm e >10,0 mm. Constatou-se que 33% das fêmeas *Bos indicus* ovularam com diâmetros entre 7,0 e 8,4 mm, e que essa responsividade ao LH aumentou quando os folículos alcançaram diâmetros entre 8,5 e 10,0 mm (80%) e superiores a 10,0 mm (90%). Esses dados são sugestivos de que a capacidade ovulatória em *Bos indicus* é adquirida com diâmetros inferiores aos observados em *Bos taurus*.

Estudos recentes sobre sincronização da ovulação em doadoras *Bos indicus* (Nelore) e *Bos taurus* (Holandês) parecem corroborar com a afirmação acima (Martins *et al.*, 2005a; Rodrigues *et al.*, 2005; Baruselli *et al.*, 2006b). Nos trabalhos de Martins *et al.* (2005a) e Rodrigues *et al.* (2005), as doadoras foram tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona e divididas para receber 25mg de LH, 12 ou 24 horas após a última aplicação de FSH. Foram realizadas duas inseminações artificiais 12 e 24 horas após o tratamento com LH. Em doadoras da raça Holandesa, a administração do indutor de ovulação 24 horas após o último FSH resultou em aumento na resposta ovulatória e maior número de embriões transferíveis do que doadoras tratadas com LH 12 horas após o último FSH (Martins *et al.*, 2005a; Rodrigues *et al.*, 2005; Baruselli *et al.*, 2006b). Inversamente, em Nelore o atraso de 12 para 24 horas no indutor de ovulação ocasionou redução do número de estruturas transferíveis e congeláveis e aumento do número de embriões degenerados. Com base nesses resultados é possível verificar que em *Bos indicus* a indução de ovulação em protocolos de superestimulação pôde ser obtida precocemente, ao passo que em *Bos taurus* foi necessário atrasar o tratamento para melhorar a resposta ovulatória. Os resultados são indicativos de que o atraso de 12 horas empregado em *Bos taurus*, permitiu tempo adicional para que os folículos atingissem diâmetros condizentes com a capacidade ovulatória.

Outra diferença fisiológica entre *Bos taurus* e *Bos indicus* está relacionada ao diâmetro máximo alcançado pelo folículo dominante em cada onda de crescimento folicular. Em *Bos taurus* com duas ondas são descritos diâmetros de 17,1 e 16,5 mm para a primeira e segunda onda (Ginther *et al.*, 1989). Já, em *Bos indicus*, os diâmetros relatados foram de 11,3 e 12,1 mm, respectivamente (Figueiredo *et al.*, 1997). Para animais com três ondas de crescimento folicular os diâmetros máximos foram de 16,0; 12,9 e 13,9 mm para *Bos taurus* (Ginther *et al.*, 1989) e de 10,4; 9,4 e 11,6 mm para *Bos indicus* (Figueiredo *et al.*, 1997). A partir desses relatos pode-se verificar que o diâmetro do folículo dominante e do folículo ovulatório em zebuínos é menor do que em taurinos.

Também, o diâmetro do corpo lúteo parece ser menor em *Bos indicus* que em *Bos taurus*. Corpos lúteos de zebuínos variam de 17 a 21 mm de diâmetro (Rhodes *et al.*, 1995; Figueiredo *et al.*, 1997), ao passo que em taurinos são relatados diâmetros entre 20 e 30 mm (Ginther *et al.*, 1989; Kastelic *et al.*, 1990). Da mesma maneira, há relatos de que a concentração de progesterona produzida pelo CL também é inferior em zebuínos em relação aos taurinos (Segerson *et al.*, 1984). Segundo Randel (1976) fêmeas zebuínas puras e cruzadas apresentam menor concentração de progesterona por grama de tecido luteínico do que fêmeas taurinas.

Carvalho *et al.* (2007) realizaram estudo com sincronização de ovulação em novilhas *Bos indicus* (Nelore e Gir), *Bos taurus* (Angus e Holandês) e cruzadas *Bos indicus* x *Bos taurus* (Nelore x Angus e Gir x Holandês), mantidas contemporaneamente durante o período experimental. O protocolo consistiu no emprego de dispositivo intravaginal de progesterona e benzoato de estradiol no início do tratamento. Durante a permanência do dispositivo intravaginal, as concentrações de progesterona sérica foram estatisticamente superiores e permaneceram mais elevadas em novilhas *Bos indicus*. Os autores discutem que esse achado pode ser decorrente da diferença de metabolismo entre esses grupos genéticos, atribuindo menor velocidade metabólica em zebuínos. Esse resultado deve ser levado em consideração quando do emprego de tratamentos com progesterona em *Bos indicus*. Elevadas concentrações de progesterona diminuem a pulsatilidade de LH e podem comprometer o crescimento folicular e a ovulação.

## FISIOLOGIA DO PÓS-PARTO

A duração da gestação em *Bos indicus* (292 dias em média) é mais longa que a de *Bos taurus* (282 dias em média; Paschal *et al.*, 1991). Portanto, para obtenção de intervalo entre partos de 12 meses, o período de serviço (intervalo parto/concepção) em *Bos indicus* deve ser 10 dias inferior ao de *Bos taurus*, para que a eficiência reprodutiva seja semelhante.

Após o parto, a fêmea bovina tem que criar um bezerro saudável e em seguida restabelecer uma nova gestação. O padrão de desenvolvimento folicular ovariano que prevalece durante a gestação deverá agora ser substituído por uma seqüência de eventos que culminará no comportamento de cio, seguido de ovulação e formação de um corpo lúteo normal. Esses requisitos são necessários para o restabelecimento da fertilidade no período pós-parto nos diversos tipos de criação (Rhodes *et al.*, 2003). No entanto, o que se observa em muitos casos é um longo período de anestro pós-parto, tanto em *Bos indicus* quanto em *Bos taurus*, apesar de haver crescimento folicular durante essa fase (Wiltbank *et al.*, 2002). Existem pesquisas que indicam que logo após o parto, verifica-se baixa quantidade de LH armazenado na hipófise, sendo essa característica fisiológica limitante para o restabelecimento da atividade ovariana no período pós-parto (Yavas e Walton, 2000). Nesse período não foram relatadas alterações na liberação de FSH.

No final da gestação ocorre diminuição da concentração de gonadotrofinas devido à intensa retroalimentação negativa da progesterona e do estrógeno. Logo após o parto, verifica-se elevação das concentrações de FSH e, conseqüentemente, emergência da primeira onda de crescimento folicular (2-7 dias após o parto; Wiltbank *et al.*, 2002). No entanto, para que ocorra a ovulação do folículo dominante, a frequência dos pulsos de LH deve ser de aproximadamente 1 pulso por hora (revisado em Bó *et al.*, 2003). A ausência ou a inadequada pulsatilidade de LH faz com que essas estruturas não se desenvolvam além do diâmetro da divergência folicular. Wiltbank *et al.* (2002) especularam que zebuínos podem apresentar deficiência de FSH no período pós-parto. Os autores se basearam no estudo de Ruiz-Cortez e Olivera-Angel (1999), no qual se verificou que folículos de vacas zebuínas não alcançavam diâmetros superiores a 6mm durante o anestro pós-parto. Contudo, em estudos recentes sobre divergência folicular em Nelore (Gimenes *et al.* 2005b; Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2006), constatou-se que o folículo de *Bos indicus* atinge a dominância em torno de 6mm de diâmetro, menor do que o relatado para *Bos taurus* (8,5mm). Portanto, condições anovulatórias freqüentemente verificadas em zebuínos não parecem estar associadas à deficiência de FSH, que promove o crescimento até a divergência. Esses dados são sugestivos de que o anestro pós-parto em zebuínos está ligado ao comprometimento da liberação de LH, responsável pela continuidade do crescimento e indução da ovulação do folículo dominante. Sendo assim, especula-se que em fêmeas zebuínas em anestro severo, com comprometimento na liberação de LH, os folículos não atingem diâmetros superiores a 6mm. Já, em fêmeas taurinas nas mesmas condições de anestro os folículos crescem até 8,5mm de diâmetro.



Quanto ao padrão de liberação do LH no período pós-parto, existem indícios de que zebrúinos e taurinos apresentem diferenças nas concentrações plasmáticas dessa gonadotrofina. Em um experimento, D'Occhio *et al.* (1990) observaram que, aos 30 dias pós parto, vacas *Bos taurus* (Hereford x Shorthorn) apresentavam maior concentração plasmática de LH ( $0,7 \pm 0,1$  ng/ml) do que vacas *Bos indicus* ( $0,6 \pm 0,1$  ng/ml; Brahman). Essa diferença parece aumentar à medida que se distancia do parto. Nesse mesmo estudo, constatou-se que vacas *Bos taurus* tiveram maior secreção pulsátil de LH e taxa de prenhez entre 50 e 120 dias após o parto que vacas *Bos indicus*. Estudos realizados com finalidade de sincronizar a ovulação para IATF no período pós-parto em *Bos indicus* são indicativos de que o tratamento com eCG (que age estimulando os receptores de FSH e LH) apresenta significativo aumento na taxa de concepção, quando comparado aos animais não tratados (Baruselli *et al.*, 2004). Especula-se que esse incremento se deve ao estímulo gonadotrófico da eCG, que aumenta a taxa de crescimento e de ovulação do folículo dominante de vacas *Bos indicus* em anestro. Vacas *Bos indicus* no período pós-parto apresentam comprometimento na pulsatilidade de LH e no crescimento do folículo dominante. Outro aspecto positivo do tratamento com eCG é o efeito luteotrófico desse fármaco. Existem trabalhos que apontam aumento significativo das concentrações circulantes de progesterona produzidas pelo CL formado após o tratamento com eCG (Baruselli *et al.*, 2004). Vários trabalhos associam o aumento da concentração plasmática de progesterona com o desenvolvimento embrionário e o estabelecimento da gestação (Binelli *et al.*, 2001).

Após o restabelecimento dos estoques hipofisários de LH (15 a 30 dias de pós-parto; Yavas e Walton, 2000), os principais fatores que comprometem a ovulação é a condição nutricional e a amamentação (Montiel e Ahuja, 2005).

Quanto à nutrição, sabe-se que animais criados em regiões tropicais apresentam comprometimento na atividade ovariana pós-parto devido principalmente ao inadequado conteúdo energético fornecido pelas pastagens. Dessa maneira, a energia ingerida pelo animal é priorizada para funções vitais de manutenção e de produção de leite, em detrimento das funções reprodutivas (revisado em Montiel e Ahuja, 2005). Os efeitos resultantes do comprometimento nutricional são a supressão na liberação de GnRH e, conseqüentemente, diminuição na frequência dos pulsos de LH (Schillo, 1992), reduzindo o diâmetro máximo do folículo dominante e a duração da onda de crescimento folicular (Rhodes *et al.*, 1995; Wiltbank *et al.*, 2002). De acordo com esses achados, a avaliação de escore de condição corporal (ECC) e da nutrição do rebanho tornam-se importantes ferramentas do manejo reprodutivo (Montiel e Ahuja, 2005).

Outro fator que pode inibir a ovulação no pós-parto é a amamentação, por reduzir a liberação de GnRH e a secreção de LH (Williams, 1990). Essa inibição é exercida pela secreção de um peptídeo opióide hipotalâmico ( $\beta$ -endorfina) em resposta ao estímulo da amamentação. O efeito da amamentação na regulação da liberação tônica de LH é determinado pela habilidade da vaca em identificar seu bezerro. A visão e o olfato exercem um papel crítico no desenvolvimento da relação da mãe com o bezerro, permitindo que a vaca identifique o seu bezerro. A remoção de ambos os sentidos atenua os efeitos negativos da amamentação na secreção de LH. Assim, existem trabalhos que apontam que a relação da vaca com o bezerro é responsável por prolongar o anestro pós-parto. Esse efeito supressivo é independente de estímulos neurosensoriais no úbere (Montiel e Ahuja, 2005).

Essas alterações fisiológicas podem afetar a maturação final e a ovulação do folículo dominante. Além do ato de amamentar, o olfato, a visão, o estímulo tátil e a audição podem também induzir essas alterações fisiológicas (Williams *et al.*, 1996) Para atenuar o efeito da presença do bezerro, realiza-se desmame total, parcial (permitir ao bezerro acesso à mãe uma ou duas vezes ao dia) ou temporário (remoção do bezerro durante 48 a 96h; revisado em Yavas e Walton, 2000; Montiel e Ahuja, 2005). Essas técnicas de manejo podem ser empregadas para aumentar a pulsatilidade de LH e promover o crescimento folicular e a ovulação de rebanhos em anestro, isoladamente ou em conjunto com tratamentos hormonais.



Assim, os dados acima apresentados demonstram a importância do conhecimento das particularidades da fisiologia reprodutiva de *Bos indicus* e de *Bos taurus* para empregar biotécnicas que buscam a multiplicação de indivíduos geneticamente superiores e a melhoria da eficiência reprodutiva. Na tabela 1 estão apresentadas principais diferenças na fisiologia reprodutiva entre *Bos indicus* e *Bos taurus*.

**Tabela 1.** Principais diferenças na fisiologia reprodutiva de fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus*

	<i>Bos indicus</i>	Referências	<i>Bos taurus</i>	Referências
Duração do estro (horas)	12,9±2,9	Mizuta (2003)	16,3±4,8	Mizuta (2003)
Intervalo início do estro-ovulação (horas)	27,1±3,3	Mizuta (2003)	26,1±6,3	Mizuta (2003)
Número de ondas de crescimento folicular	2 a 4	Rhodes <i>et al.</i> (1995) Figueiredo <i>et al.</i> (1997) Sirois e Fortune (1988)	2 a 3	Savio <i>et al.</i> (1998) Sirois e Fortune (1988) Wolfenson <i>et al.</i> (2004)
Número de folículos recrutados por onda de crescimento folicular	33,4 ± 3,2	Carvalho <i>et al.</i> (2007)	25,4 ± 2,5	Carvalho <i>et al.</i> (2007)
Dia da divergência folicular	2,5 a 2,7 d pós-ovulação	Sartorelli <i>et al.</i> (2005) Castilho <i>et al.</i> (2006) Gimenes <i>et al.</i> (2005b)	2,8 d após a emergência	Ginther <i>et al.</i> (1996)
Diâmetro do folículo dominante na divergência (mm)	5,4/ 5,9/ 6,2	Sartorelli <i>et al.</i> (2005) Castilho <i>et al.</i> (2006) Gimenes <i>et al.</i> (2005b)	8,5	Ginther <i>et al.</i> (1996)
Diâmetro do maior folículo subordinado na divergência (mm)	5,3/ 5,9	Sartorelli <i>et al.</i> (2005) Castilho <i>et al.</i> (2006) Gimenes <i>et al.</i> (2005b)	7,2	Ginther <i>et al.</i> (1996)
Diâmetro que adquire a capacidade ovulatória (mm)	7,0 a 8,5	Gimenes <i>et al.</i> (2005a)	10,0	Sartori <i>et al.</i> (2001)
Diâmetro do folículo ovulatório (mm)	11,6 a 12,1	Figueiredo <i>et al.</i> (1997)	13,9 a 16,5	Ginther <i>et al.</i> (1989)
Diâmetro do corpo lúteo (mm)	17 a 21	Rhodes <i>et al.</i> (1995) Figueiredo <i>et al.</i> (1997)	20 a 30	Ginther <i>et al.</i> (1989) Kastelic <i>et al.</i> (1990)

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF)

Algumas questões são importantes de serem esclarecidas antes do estabelecimento de um programa de IA: existe a possibilidade de produzir 1 bezerro por vaca por ano utilizando a inseminação artificial? Ou seja, obter intervalo entre partos próximo a 12 meses, período de serviço entre 70 e 80 dias e concepção no início da estação de monta? É possível obter alta eficiência reprodutiva associada a programas de melhoramento genético que empregam a inseminação artificial para multiplicação de indivíduos superiores zootecnicamente? Na atualidade existe tecnologia disponível para que essas questões sejam respondidas positivamente, empregando métodos de sincronização da ovulação que permitem a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sem a necessidade de detecção de cio.

Os protocolos de sincronização para IATF objetivam induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controlar a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório, sincronizar a inserção e a retirada da fonte de progesterona exógena (implante auricular ou dispositivo intravaginal) e endógena (prostaglandina F<sub>2α</sub>) e induzir a ovulação sincronizada em todos os animais simultaneamente.

## SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA IATF E SEU IMPACTO NA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

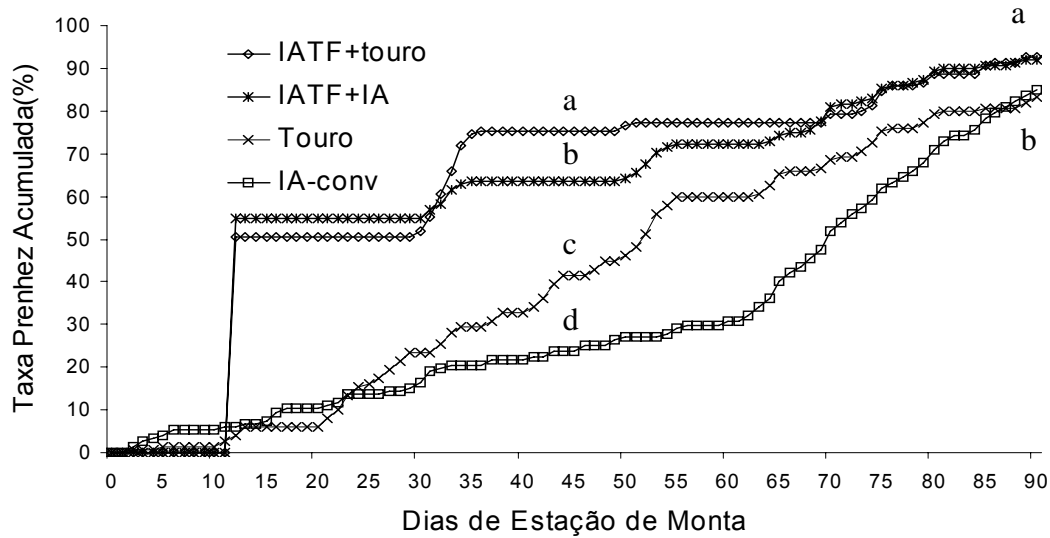
Em experimento utilizando 397 vacas Brangus, paridas há  $69,7 \pm 22,1$  dias, e mantidas a pasto, foi comparada a eficiência da IA convencional com observação do cio com os protocolos que empregam progesterona, progestágenos e GnRH/PGF<sub>2α</sub>/GnRH para a IATF (Baruselli et al., 2002). No grupo Controle (G-C; n=94) as vacas foram submetidas à estação de monta (EM) de 90 dias, com 45 dias de detecção de estro e inseminação artificial (2 detecções de estro/dia e IA 12 horas após início do estro) e 45 dias de repasse com touro Brangus. Os outros três grupos foram submetidos à estação de monta semelhante, porém, no primeiro dia da EM todas as vacas foram inseminadas em tempo fixo após o tratamento de sincronização da ovulação.

Verificou-se que os tratamentos com progesterona e progestágenos possibilitam emprenhar cerca de 50% do rebanho por inseminação artificial no início da estação de monta, além de induzir ciclicidade e aumentar a taxa de serviço no período pós-parto em vacas de corte lactantes. Nesse estudo, foi observada a antecipação da concepção (39,3 dias,  $P < 0,01$ ) em animais que receberam tratamentos para IATF a base de progesterona e progestágenos em relação aos animais submetidos a observação do cio seguidos pela IA. Essa antecipação possibilita alcançar melhores índices de fertilidade por diminuir o intervalo entre partos e devido aos animais iniciarem a estação de monta do próximo ano paridos há mais tempo. Entretanto, o protocolo "Ovsynch" apresentou baixa eficiência, não sendo indicado para IATF em vacas Zebuínas lactantes nas condições brasileiras de manejo.

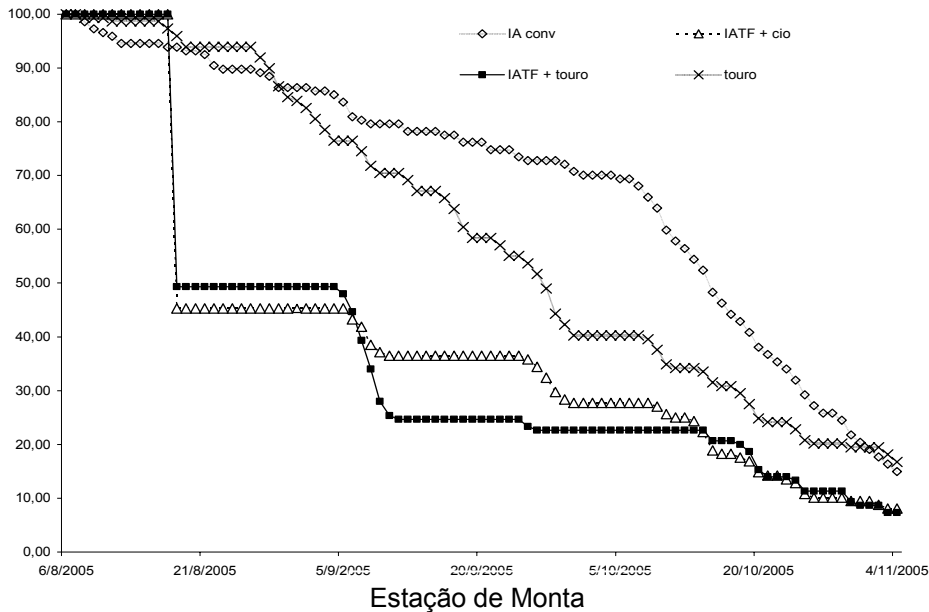
Em estudo recente, Penteadó et al. (2005) avaliaram o efeito de diferentes tipos de manejo durante a estação de monta (EM) sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore. Um total de 594 vacas lactantes, com intervalo entre partições de apenas 15 dias (55 a 70 dias de paridas no início da estação de monta), foi subdivididas em 4 grupos: 1) somente touro durante toda a EM (Grupo controle); 2) IA 12 horas após a detecção do cio por 45 dias seguido touro até o final da EM (Grupo IA-convencional); 3) IATF no início da EM seguido touro até o final da EM; 4) IATF no início da EM, seguido de IA 12 horas após a detecção do cio por 45 dias e seguido de touro até o final da EM. Os dados estão apresentados na Figura 1. Verificou-se que os animais sincronizados e inseminados em tempo fixo apresentaram aproximadamente 53% de prenhez no início da estação de monta. Os grupos que receberam a IATF apresentaram maior taxa de prenhez (69,5% vs 33,8%) no meio (45 dias) e no final (92,3% vs 84,1%) da estação de monta (90 dias). Ainda, os grupos submetidos à observação de cio para IA apresentaram menor taxa de prenhez que os grupos submetidos à monta natural, tanto nos sincronizados [Grupo IATF touro = 75,3% (113/150) vs Grupo IATF + observação de cio + IA = 63,5% (94/148)] quanto nos não

sincronizados [Grupo touro = 44,3% (66/149) vs observação de cio + IA = 23,3% (35/150)], demonstrando que o sistema tradicional de observação de cio compromete a eficiência reprodutiva dos rebanhos de corte inseminados artificialmente. Observou-se, também, que as vacas sincronizadas apresentaram antecipação de 22 dias entre o início da estação de monta e a prenhez.

Analisando a figura dos partos no ano subsequente a sincronização (Fig. 2), observa-se que 86% das vacas sincronizadas já tinham parido antes do início da estação de monta (20 de outubro), enquanto que no grupo com observação de cio apenas 59,0% tinham parido.



**Figura 1** - Taxa de prenhez acumulativa de vacas Nelore submetidas a diferentes manejos durante a estação de monta.



**Figura 2** – Estimativa dos partos no ano subsequente de vacas Nelore submetidas a diferentes manejos durante a estação de monta.

Os resultados são indicativos de que o uso estratégico da IATF como ferramenta do melhoramento genético também promove melhora na eficiência reprodutiva, antecipando a concepção (aproximadamente 1 mês) e aumentando ao redor de 8% na taxa de prenhez ao final da EM, além de elevar o número de vacas prenhes por IA.

## SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E PROGESTÁGENO

Existem atualmente no mercado produtos eficientes que liberam progesterona (dispositivos intravaginais) e progestágenos (implantes auriculares) com finalidade de sincronização do estro e da ovulação. Esses produtos são utilizados por um período de 7 a 12 dias, dependendo do protocolo estabelecido. A finalidade desses tratamentos é manter altos os níveis de progesterona para suprimir a liberação endógena do pico de LH, simulando a fase luteínica do ciclo estral. A regressão luteínica é alcançada pela aplicação de estradiol no início do tratamento ou pela administração de prostaglandinas no momento da remoção do implante.

O Crestar é um implante auricular subcutâneo, utilizado para sincronização do crescimento folicular e da ovulação por um período de aproximadamente 9 dias. Os implantes auriculares de progestágenos contêm Norgestomet ( $17\alpha$ -acetoxi- $11\beta$ -metil-19-norpreg-4-en-3,30-diona), que apresenta potência cerca de 200 vezes superior à da progesterona natural. Assim, o implante silástico de Crestar possui 3 mg de norgestomet. O implante de silicone provoca a liberação do progestágeno de forma homogênea e linear (Kesler *et al.*, 1995).

Bó *et al.* (1991) observaram que a administração 5 mg de VE no momento da inserção de um implante do norgestomet resultou na regressão dos folículos presentes no momento do tratamento e na emergência de uma nova onda de crescimento folicular. Além da sincronização do crescimento folicular, o VE apresenta ação luteolítica (Wiltbank e Kasson, 1968), dispensando a administração de prostaglandina na retirada do implante em vacas de corte.

Assim como VE, o E- $17\beta$  e o BE, em doses apropriadas, induzem eficientemente a emergência de uma nova onda de crescimento folicular (Martínez *et al.*, 2004). Entretanto, devido ao menor tempo de permanência desses fármacos na circulação, os mesmos possuem menor eficácia como agente luteolítico, necessitando dessa forma que seja administrado prostaglandina ao protocolo.

No entanto, existem trabalhos que relatam efeito negativo de elevadas concentrações de estradiol encontradas em animais tratados com norgestomet + valerato de estradiol (Wherman *et al.*, 1993; Cavalieri *et al.*, 1997), principalmente em novilhas *Bos indicus*. Verificou-se atraso e dispersão no início da onda de crescimento folicular quando novilhas Nelore foram tratadas com Valerato do que com Benzoato de estradiol (Sá Filho *et al.*, 2005). Assim, pode-se supor que novilhas *Bos indicus* tratadas com 5 mg de valerato de estradiol podem estar apresentando comprometimento no protocolo de sincronização da ovulação.

Existem também no mercado vários dispositivos intravaginais que liberam eficientemente progesterona com finalidade de sincronização do estro e da ovulação. Estes produtos são implantados na vagina por um período de 7 a 12 dias. Os implantes intravaginais contêm progesterona natural e atingem níveis sanguíneos em torno de 4 a 5 ng/ml durante sua permanência. Estes níveis são suficientes para suprimir o pico de LH. No entanto, as quantidades de progesterona liberadas são adequadas para promover o crescimento de ondas foliculares durante o tratamento.

Alguns pesquisadores demonstraram que a associação de estrógenos aos tratamentos com progesterona provoca a atresia do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular 4,3 dias após sua aplicação (Bo *et al.*, 1995). A aplicação de estrógeno no início do tratamento com o dispositivo intravaginal de progesterona tem impedido a formação de folículos persistentes, que interferem negativamente na eficiência do tratamento.

Em vacas *Bos indicus* submetidas ao tratamento com progestágeno associado ao BE no início do protocolo, a administração de 1 mg de BE (24 horas após a retirada dos implantes) determinou aumento significativo na taxa de concepção (sem BE = 32,5% vs com BE = 51,2%;. Moura *et al.*, 2003) O resultado concorda com os de outros pesquisadores que sincronizaram vacas com dispositivos intravaginais de progesterona (Cutaia *et al.*, 2001; Colazo *et al.*, 1999; Macmillan *et al.*, 1993) e verificaram maiores taxas de concepção quando se administrou BE 24 horas após a retirada dos dispositivos.

### **REDUÇÃO DO NÚMERO DE TRATAMENTOS NECESSÁRIOS PARA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO PARA IATF**

Vários experimentos foram realizados para tentar diminuir o número de manejos em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em vacas de corte criadas em condições extensivas (Baruselli *et al.*, 2003; Marques *et al.*, 2003). Nesse sentido, foi realizado um estudo para substituir o tratamento com BE 24 horas após a remoção do dispositivo de progesterona (4 manejos) pelo tratamento com GnRH ou com hCG no momento da IATF (54 horas após a retirada do dispositivo; 3 manejos) em vacas Nelore (*Bos indicus*) e em vacas Brangus (*Bos indicus* x *Bos taurus*). Um grupo recebeu BE (1mg) no D9 e os outros GnRH (25µg) ou hCG (1500 UI) no momento da IATF (D10). Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez entre os tratamentos, tanto em Nelore [59,9% (109/182) para o Grupo BE; 61,6% (125/203) para o Grupo GnRH e 58,5% (117/200) para o Grupo hCG] quanto em Brangus [60,1% (113/188) para o Grupo BE; 59,0% (131/222) para o Grupo GnRH e 62,8% (147/234) para o Grupo hCG]. Esse resultado é indicativo de que é possível obter taxas semelhantes de prenhez tanto com o tratamento com BE (4 manejos) quanto com o tratamento com GnRH ou hCG (3 manejos). O inconveniente da utilização de GnRH ou de hCG como indutores de ovulação está relacionado ao maior custo desses fármacos quando comparados com os estrógenos.

Dando continuidade aos estudos que visam facilitar o manejo da IATF, Martins *et al.* (2005b) avaliaram a dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante intravaginal de progesterona (CIDR®, Pfizer, Brasil) associado à administração de Benzoato de Estradiol ou Cipionato de estradiol no momento da retirada (dia 8) ou 24 horas após (dia 9). No momento da retirada dos dispositivos as fêmeas foram distribuídas em quatro grupos: Grupos BE8 (n=8) e CE8 (n=9), tratados com 1mg de Benzoato (BE, Estrogin®, Farmavet, Brasil) ou 0,5mg de Cipionato de estradiol (CE, ECP®, Pfizer, Brasil) no momento da retirada do dispositivo intravaginal, respectivamente; Grupos BE9 (n=8) e CE9 (n=8), tratados com 1 mg de BE ou 0,5mg de CE, 24 horas após a remoção do dispositivo intravaginal, respectivamente. Avaliou-se por ultra-sonografia a dinâmica folicular de 12/12 horas do Dia 8 até o momento da ovulação. Os resultados estão apresentados na tabela 2. Verificou-se que o intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação foi semelhante entre o grupo tratado com BE 24 horas após a retirada do dispositivo (4 manejos) e o grupo tratado com CE no momento da retirada do dispositivo (3 manejos; 70,0±1,48 vs 70,7±2,40 h). Notou-se, apenas que a dispersão da ovulação foi maior no grupo tratado com Cipionato de estradiol.

**Tabela 2** - Efeitos da administração de Benzoato ou Cipionato de estradiol como indutor de ovulação 0 ou 24 h após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona no protocolo de IATF. Botelhos-MG, 2005.

	Grupo BE0	Grupo BE24	Grupo CE0	Grupo CE24
Taxa Ovulação (%)	88,0 (7/8)	75,0 (6/8)	100,0 (9/9)	75,0 (6/8)
Momento Ovulação (h)	65,1±1,85 <sup>a</sup>	70,0±1,48 <sup>a</sup>	70,7±2,40 <sup>a</sup>	86,0±3,19 <sup>b</sup>
Ø Máximo Fol. Dominante (mm)	1,30±0,02	1,41±0,05	1,29±0,04	1,27±0,07
Ø Máximo Fol. Ovulação (mm)	1,28±0,02	1,31±0,05	1,28±0,05	1,17±0,03
Taxa de concepção	62,5 (5/8) <sup>a</sup>	62,5 (5/8) <sup>a</sup>	66,6 (6/9) <sup>a</sup>	12,5 (1/8) <sup>b</sup>

Na seqüência, Penteado et al. (2006a) realizaram um estudo para certificar se a substituição do Benzoato de estradiol (BE) no dia 9 pelo Cipionato de estradiol no dia 8 (momento da retirada do dispositivo) apresentava semelhante taxa de prenhez a IATF. Procurou-se, também, verificar a dose mais apropriada de Cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo (0,5 ou 1,0mg). Os animais foram divididos em três grupos: Grupo 1mgBE, 1 mg de BE, 24 horas após a remoção do dispositivo intravaginal; Grupo 0,5mgCE e Grupo 1mgCE, 0,5 e 1mg de CE, (ECP<sup>®</sup>, Pfizer, Brasil) no momento da retirada do CIDR. As fêmeas foram inseminadas em tempo fixo (IATF) 54 a 58 horas após a remoção do CIDR. As taxas de prenhez foram de 49,4% (82/166)<sup>b</sup> para o Grupo 1mgCE, 39,2% (65/166)<sup>a</sup> para o Grupo 0,5mgCE e de 41,4% (70/169)<sup>ab</sup> para o Grupo 1mgBE. Não foram verificadas diferenças significativas entre os animais tratados com BE (4 manejos) e CE (3 manejos).

Com o objetivo de diminuir o número de vezes que os animais são manejados nos protocolos com implante auricular de Norgestomet (Crestar), avaliou-se a dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com Cipionato de Estradiol no momento da retirada do implante. Em dia aleatório do ciclo estral (D0) 31 fêmeas paridas receberam um Crestar associado a 2mg de Benzoato de estradiol i.m. (BE, Estrogin<sup>®</sup>, Farmavet, Brasil). No Dia 8, realizou-se a remoção do implante e a administração de 0,150 mg de D-Cloprostenol (PGF<sub>2α</sub>, Preloban<sup>®</sup>, Intervet, Brasil). A partir deste momento, as fêmeas foram distribuídas em três grupos: o Grupo 1mgBE (n=10) recebeu 1 mg de BE 24 horas após a remoção do implante auricular, o Grupo 0,5mgCE (n=11) e o Grupo 1mgCE (n=10) foram tratados com 0,5 e 1mg de Cipionato de estradiol (CE, ECP<sup>®</sup>, Pfizer, Brasil) no momento da retirada do implante auricular, respectivamente. Avaliou-se por ultra-sonografia a dinâmica folicular de 12/12 horas do Dia 8 até o momento da ovulação. Os resultados estão apresentados na tabela 3. Verificou-se que o intervalo entre a retirada do implante e a ovulação foi semelhante entre o grupo tratado com BE (4 manejos; 66,0 ± 2,26h) e o grupo tratado com 1mg de CE (3 manejos; 71,1 ± 3,57h).

**Tabela 3** - Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol.

	Grupo 1mgBE	Grupo 0,5mgCE	Grupo 1mgCE
Número de animais	10	11	10
Taxa Ovulação (%)	80,0 (8/10)	81,8 (09/11)	70,0 (7/10)
Momento Ovulação (h)	66,0 ± 2,26 <sup>b</sup>	78,0 ± 3,46 <sup>a</sup>	71,1 ± 3,57 <sup>ab</sup>
Ø Máximo Fol. Dominante (mm)	11,6 ± 0,04	11,4 ± 0,09	11,3 ± 0,07
Ø Máximo Fol. Ovulação (mm)	11,5 ± 0,05	12,2 ± 0,05	11,6 ± 0,06

Para estudar a eficiência desses protocolos, Ayres et al. (2006a) avaliaram o efeito da substituição do BE 24 horas após a retirada do Crestar (4 manejos) pelo CE (Cipionato de estradiol) no momento da retirada do implante (3 manejos) na taxa de prenhez a IATF. Um total de 361 vacas Nelore (60-75 dias pós-parto) receberam um Crestar previamente utilizado associado a 2mg de BE no Dia 0. No Dia 8, realizou-se a remoção do Crestar, a administração de uma dose de prostaglandina e de eCG. A partir deste momento, as fêmeas foram distribuídas homoganeamente em três grupos: Grupo 1mgBE, administração de 1 mg de BE 24 horas após a remoção do Crestar, Grupo 0,5mgCE e Grupo 1mgCE, receberam 0,5 ou 1mg de CE no momento da retirada do Crestar, respectivamente. As fêmeas foram inseminadas em tempo fixo (IATF) 52 a 56 horas após a remoção do Crestar. As taxas de prenhez foram de 46,7% (57/122) para o Grupo BE, 36,7% (44/120) para o Grupo 0,5mgCE e de 47,1% (56/119) para o Grupo 1mgCE. Não foram verificadas diferenças significativas na taxa de prenhez à IATF entre os animais tratados com BE (4 manejos) ou CE (3 manejos), mesmo quando sincronizados com implantes auriculares de norgestomet. Esses resultados são indicativos que o Cipionato de estradiol na dose de 1mg pode ser utilizado como indutor de ovulação em programas de IATF em vacas Nelore e possibilita a redução do número de vezes que os animais necessitam ser manejados (de 4 para 3 vezes).

Em outro estudo realizado por Martins et al., (2007), foi avaliado o efeito de diferentes momentos de aplicação do BE (0 ou 24 horas após a retirada do implante) na resposta ao protocolo de sincronização da ovulação, com o intuito de diminuir o número de manejos para a IATF. Primeiramente, foi estudada a resposta folicular aos tratamentos. Verificou-se que os animais tratados com BE na retirada do dispositivo intravaginal de P4 (DIB®, Syntex, Argentina) apresentaram redução do intervalo retirada/ovulação ( $59,4 \pm 2,0h$ ), comparado com os tratados com BE 24 horas depois ( $69,3 \pm 1,6h$ ). Na seqüência, foram sincronizadas 504 vacas Nelore lactantes, divididas em quatro tratamentos. No Grupo BED9-IA48H (n=126), os animais receberam 1mg de Benzoato de estradiol no dia 9 e foram inseminados em tempo fixo 48 a 52 horas após a retirada do implante. No Grupo BED9-54H (n=125), os animais receberam 1mg de Benzoato de estradiol no dia 9 e foram inseminados em tempo fixo 54 a 58 horas após a retirada do implante. No Grupo BED8-IA48H (n=126), os animais receberam 1mg de Benzoato de estradiol no dia 8 e foram inseminados em tempo fixo 48 a 52 horas após a retirada do implante e no Grupo BED8-54H (n=125), os animais receberam 1mg de Benzoato de estradiol no dia 8 e foram

inseminados em tempo fixo 54 a 58 horas após a retirada do implante. Os resultados estão apresentados na tabela 4. Verificaram-se semelhantes taxas de prenhez com a administração de BE na retirada do dispositivo, desde que a IATF seja realizada antecipadamente (48 a 52 horas), permitindo manejar somente 3 vezes os animais para a IATF.

**Tabela 4** – Efeito do momento da administração do Benzoato de estradiol e da IATF na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes.

	IATF	N	Taxa de concepção (%)
<b>BE Dia 8*</b>	48 h (manhã)	119	58,8 (70/119) <sup>a</sup>
	54 h (tarde)	134	34,3 (46/134) <sup>b</sup>
<b>BE Dia 9</b>	48 h (manhã)	126	58,7 (74/126) <sup>a</sup>
	54 h (tarde)	125	63,2 (79/125) <sup>a</sup>

\*momento da retirada do dispositivo, a≠b, P < 0.05.

Os resultados acima mencionados são indicativos de que é possível facilitar o manejo da IATF prendendo no máximo 3 vezes os animais. Ainda, são sugestivos de que é possível utilizar estrógenos para a sincronização da ovulação, que apresentam custos inferiores quando comparados aos tratamentos com GnRH e hCG.

#### OTIMIZAÇÃO DO INTERVALO ENTRE A RETIRADA DA FONTE DE PROGESTERONA/PROGESTÁGENO E A IATF

Na tentativa de melhorar o manejo da IATF, Ayres et al. (2006b) objetivaram estudar o efeito do momento da inseminação artificial (manhã vs tarde) em vacas de corte sincronizadas. Utilizaram-se 274 vacas lactantes (*Bos indicus* e *Bos indicus* x *Bos taurus*) com período pós-parto entre 40 e 65 dias. No Dia 0, os animais receberam 5 mg de Valerato de estradiol (i.m.) e um Crestar®. No Dia 9, o implante foi removido e foram administradas 400 UI de eCG. A partir deste momento, os animais foram divididos homoganeamente em dois grupos: no Grupo IA48 (n=142) as fêmeas foram inseminadas 48 horas após a remoção do implante e no Grupo IA56 (n=132) inseminadas 54 horas após a remoção do implante.

Com o mesmo intuito do experimento anterior foi realizado outro estudo (Ayres et al., 2006c) com 277 vacas lactantes (*Bos indicus* e *Bos indicus* x *Bos taurus*) com o mesmo período pós-parto do experimento anterior. No Dia 0, os animais receberam 2 mg de Benzoato de estradiol e um Crestar previamente utilizado por 9 dias. No Dia 8, o implante foi removido e foram administradas 400 UI de eCG, 1,0 mg de Cipionato de Estradiol e uma dose de prostaglandina. A partir deste momento, os animais foram divididos homoganeamente em dois grupos, inseminados 48 horas após a remoção do implante (n=136) ou 54 horas (n=136).

Os resultados são indicativos de que tanto a inseminação artificial 48 quanto 54 h da retirada do implante apresentam semelhantes taxas de concepção á IATF em protocolos com Crestar associado ao Benzoato de Estradiol ou ao Valerato de estradiol no dia 0 (tabela 5).



**Tabela 5** - Taxa de concepção em vacas sincronizadas com Crestar e Valerato ou Benzoato de estradiol, de acordo com o momento da inseminação artificial em tempo fixo (48 ou 54h da retirada do implante).

	Número de animais	Taxa de Concepção a IATF (%)
<i>Experimento 1</i>		
VE + CRESTAR (IATF de manhã; 48h)	142	67,60 (96/142)
VE + CRESTAR (IATF à tarde; 54h)	132	68,18 (90/132)
<i>Experimento 2</i>		
BE + CRESTAR (IATF de manhã; 48h)	136	67,65 (92/136)
BE + CRESTAR (IATF à tarde; 54h)	136	62,41 (88/141)

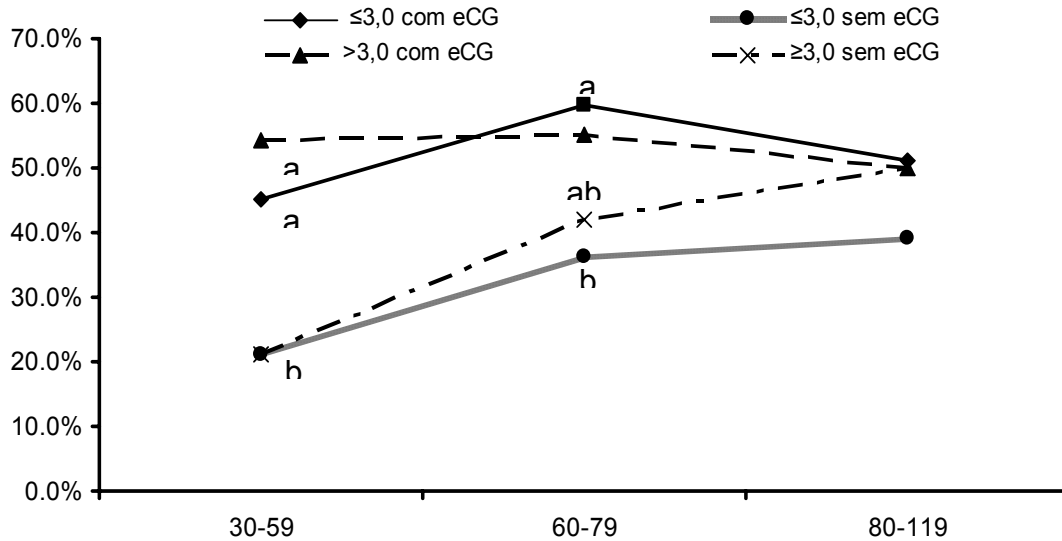
Como descrito anteriormente (Martins et al., 2007), o tratamento com BE pode ser realizado no momento da retirada do dispositivo ou 24h após. Quando o tratamento com BE foi realizado 24 horas após a retirada, a taxa de prenhez foi semelhante entre a IATF realizada 48 (58,7%; 74/126) ou 54 horas (63,2%; 79/125) da retirada do dispositivo, sendo possível inseminar os animais durante todo o dia. O inconveniente desses tratamentos é que os animais são manejados 4 vezes para a IATF. No entanto, quando o tratamento com BE foi administrado na retirada do dispositivo (3 manejos para IATF), verificou-se redução na taxa de prenhez quando a IATF foi realizada 54 horas (34,3%; 46/134), comparada com 48 horas da retirada do dispositivo (58,8%; 70/119).

Esses dados sugerem que, conforme o tratamento de sincronização da ovulação, é possível manejar 3 vezes os animais e realizar a IATF tanto pela manhã (48h) quanto pela tarde (54h), facilitando ainda mais o emprego desses protocolos.

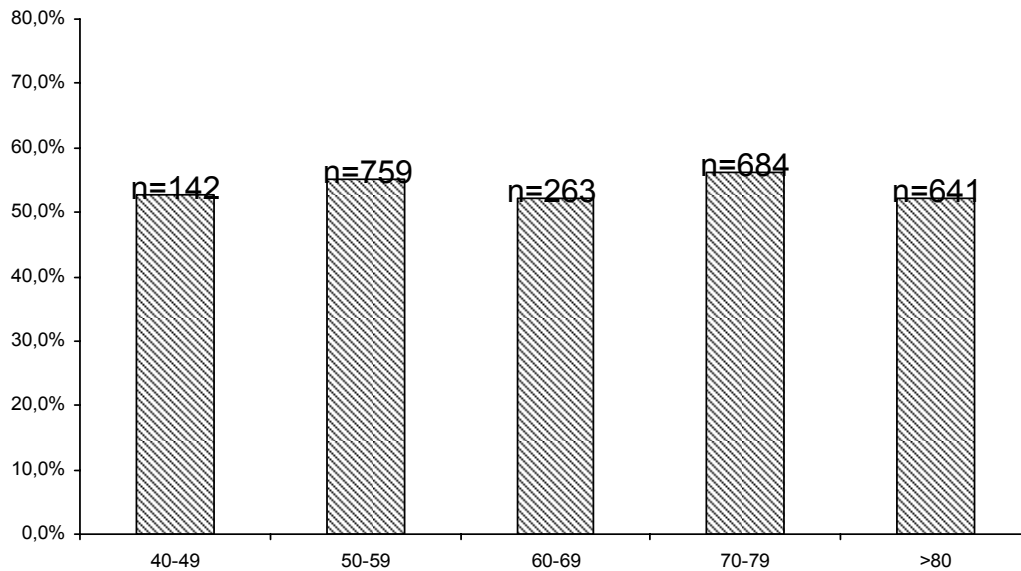
## REDUÇÃO DO INTERVALO ENTRE O PARTO E A IATF EMPREGANDO O TRATAMENTO COM ECG

O intervalo entre parto recomendado zootecnicamente é de aproximadamente 12 meses. Para alcançar esse índice, as vacas devem tornar-se gestantes rapidamente após o parto. Assim, para atingir a meta de 12 meses, as vacas necessitam ser sincronizadas e inseminadas precocemente.

Com o objetivo de reduzir o intervalo entre o parto e a IATF Ayres et al. (2007), estudaram o efeito da eCG conforme o período pós-parto e o escore de condição corporal (Fig. 3). Os autores observaram aumento na taxa de concepção a IATF, tanto em animais com alto quanto com baixo escore de condição corporal, quando tratados com eCG no período pós parto precoce (entre 30 e 60 dias). No entanto, o efeito positivo da eCG em animais com escore de condição corporal satisfatório ( $\geq 3,0$ ) desapareceu conforme aumentou a distância do parto. Assim, quando o tratamento de sincronização da ovulação para IATF é realizado antes de 60 dias pós-parto recomenda-se a utilização de eCG em todos os animais, independentemente da condição corporal. Penteadó et al. (2006b) confirmaram que é possível obter satisfatórias taxas de concepção em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo no pós-parto precoce (40 a 60 dias). Após a análise de 2489 IATF's, verificou-se semelhantes taxas de concepção, independentemente do período pós-parto no qual foi realizada a IATF (Fig. 4). É importante ressaltar que todos os animais foram tratados com eCG na retirada do implante. Esses dados indicam que é possível realizar a IATF precocemente no período pós parto, associando o emprego da inseminação artificial como ferramenta do melhoramento genético com elevados índices de fertilidade em rebanhos de corte.



**Figura 3** - Distribuição da taxa de concepção conforme o período pós-parto, o escore de condição corporal e o tratamento com eCG em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo (n=617).



**Figura 4** - Distribuição da taxa de concepção conforme o período pós-parto (2489 inseminações) em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo.

### INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM SÊMEN SEXADO EM *Bos indicus*

Em uma revisão feita por Seidel *et al.* (1999), novilhas de corte cruzadas quando inseminadas com sêmen sexado apresentaram taxas de concepção na ordem de 40%. O resultado foi inferior aos resultados obtidos com o uso do sêmen convencional (75%). Nessa mesma revisão foi apresentado um

segundo estudo com maior número de novilhas cruzadas (n=207), as quais foram divididas nos seguintes grupos experimentais: 1) Sêmen sexado – IA no corpo uterino ( $1.5 \times 10^6$  esptz/dose), 2) Sêmen sexado – IA no corno uterino ( $1.5 \times 10^6$  esptz/dose), 3) Sêmen convencional – IA no corpo uterino ( $20 \times 10^6$  esptz/dose). As taxas de concepção foram de 40%<sup>a</sup>, 62%<sup>b</sup> e 51%<sup>a,b</sup> para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Estes resultados indicam que quando a dose de sêmen sexado é baixa ( $\leq 1.5 \times 10^6$  esptz/dose) a deposição do sêmen profundamente no corno uterino parece apresentar melhores resultados que a inseminação no corpo do útero. No entanto, esse autor ainda descreve em um terceiro experimento (n=122), feito com novilhas Angus, no qual as taxas de concepção para os seguintes grupos: 1) Sêmen sexado – IA no corpo uterino ( $1.0 \times 10^6$  esptz/dose), 2) Sêmen sexado – IA no corpo uterino ( $3.0 \times 10^6$  esptz/dose), 3) Sêmen convencional – IA no corpo uterino ( $20 \times 10^6$  esptz/dose), foram similares e, respectivamente, de 59%, 53% e 57%.

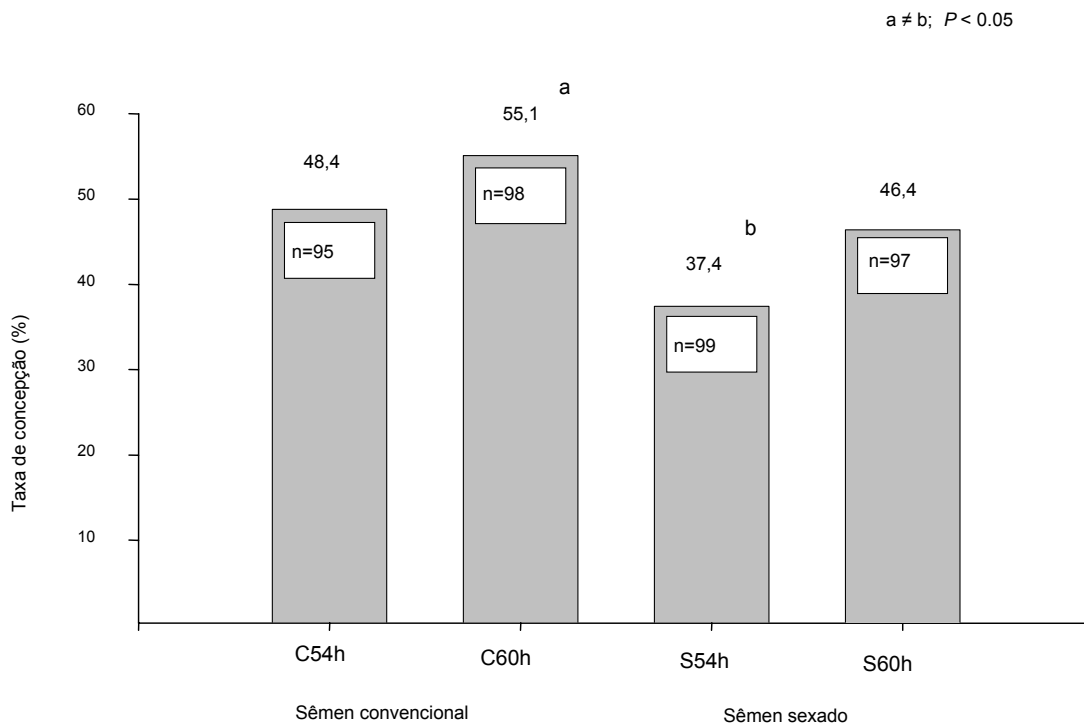
O uso de sêmen sexado em vacas de corte no pós-parto não foi muito explorado cientificamente, sendo que a maioria dos artigos utilizou pequeno número de vacas por tratamento, tornando os resultados pouco conclusivos. Um experimento realizado por Doyle *et al.* (1999) em vacas Angus lactantes (n=212) comparou os seguintes tratamentos: 1) Controle A – sêmen convencional congelado ( $40 \times 10^6$  esptz/dose); 2) Controle B – sêmen convencional congelado com baixa dose ( $1 \times 10^6$  esptz/dose); 3) Sêmen sexado congelado ( $1 \times 10^6$  esptz/dose); e 4) Sêmen sexado refrigerado ( $5 \times 10^5$  sptz/dose). O sêmen para o primeiro tratamento foi colocado no corpo do útero; para os outros tratamentos, metade do sêmen foi colocado em cada corno uterino. Os resultados de prenhez foram menores para os grupos que receberam inseminação com sêmen sexado (Sexado congelado= 23%; Sexado refrigerado=25%) quando comparado aos grupos que receberam sêmen convencional (Convencional=67%; Convencional baixa dose=49%).

Atualmente, são raras as publicações que tentam relacionar taxas de concepção após o uso de sêmen sexado em vacas de corte e de leite sincronizadas e inseminadas em tempo fixo. Porém, é sabido que uma das possíveis razões da diminuição dos índices de fertilidade após o uso de sêmen sexado é o menor tempo de viabilidade, associado com diferentes padrões de motilidade espermática (Schenk *et al.*, 2006). Alguns autores relataram que o sêmen sexado necessita de menor tempo para a capacitação devido ao processo de separação por citometria de fluxo (Lu *et al.*, 2004). Uma das possibilidades de diminuir a variação do momento da ovulação é o emprego de técnicas de sincronização, o que poderia colaborar na eficiência de programas de inseminação artificial com sêmen sexado. Vacas *Bos indicus* (Nelore) sincronizadas com progestágenos e estradiol, ovulam cerca de 70-72h após a retirada dos implantes (Baruselli *et al.*, 2006a).

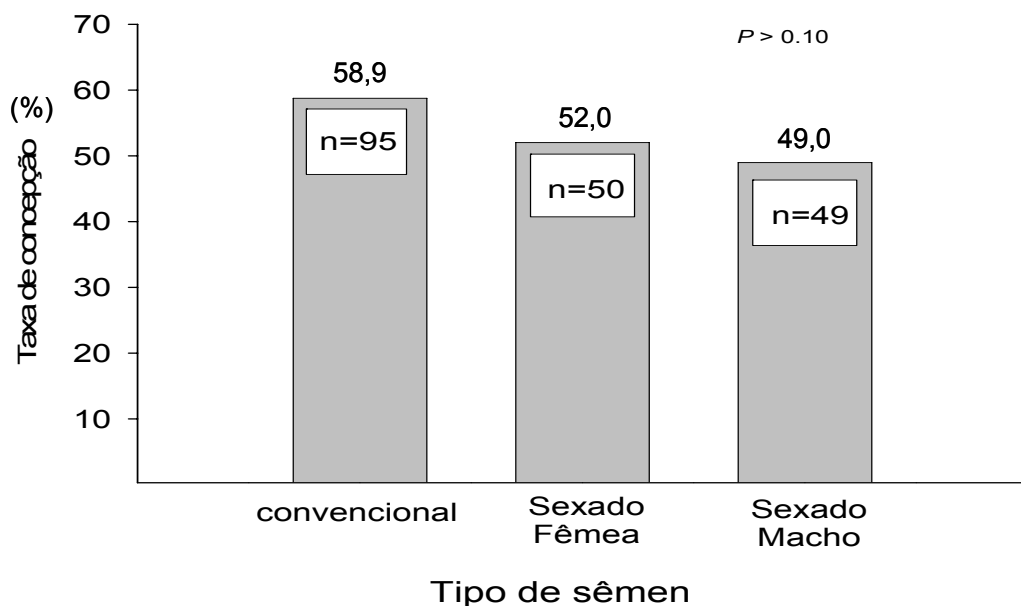
Baseado nesses princípios, nosso grupo de pesquisa em parceria com a Sexing, Lagoa da Serra e Intervet realizou um experimento em vacas Nelore (*Bos indicus*), no qual a inseminação foi realizada em tempo fixo com o sêmen convencional ( $40 \times 10^6$  esptz/dose) ou com sêmen sexado ( $2.1 \times 10^6$  esptz/dose) em 2 horários: 54h (16-18 horas antes da ovulação) ou 60h (10-12 horas antes da ovulação) após retirada do implante de progestágeno (Baruselli *et al.*, 2007). Nossa hipótese era de que a IATF próxima à ovulação aumentaria a taxa de concepção do sêmen sexado. Isso devido a dose de sêmen sexado possuir menor concentração, além de indícios de que apresenta menor tempo de viabilidade e menor tempo para capacitação no trato reprodutivo.

Nesse experimento, o sêmen foi preparado levando em consideração cada ejaculado. No laboratório, os ejaculados foram divididos, e parte foi destinada para congelamento tradicional e parte para o processo de sexagem e posterior congelamento.

Foram utilizadas 389 vacas Nelore recém paridas (em média 45 dias pós-parto) como unidades experimentais. Os resultados foram indicativos de que não existem diferenças na taxa de concepção quando a IATF com sêmen sexado foi realizada 60 horas após a retirada do implante de progestágeno (Fig. 5), confirmando a hipótese inicial desse experimento. Além disso, também foi constatado que não houve diferença na taxa de concepção entre o uso do sêmen convencional (58,9%), sexado-X (52,0%) e sexado-Y (49,0%; Fig. 6), indicando eficiência semelhante para o sêmen sexado para macho e para fêmea. Os resultados da sexagem fetal apontaram 93,9% de eficiência para determinação do sexo. Apesar de não ter sido verificada diferença estatisticamente significativa, o atraso na IATF aumentou 9,0% a taxa de concepção no grupo de animais inseminados com o sêmen sexado.



**Figura 5.** Efeito do momento da IA (54h ou 60h após a retirada do implante de progestágeno) e do tipo de sêmen (convencional ou sexado) na taxa de concepção após IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*) no pós-parto.



**Figura 6.** Efeito principal do tipo de sêmen (Convencional, Sexado-X e Sexado-Y) na taxa de concepção após IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*) no pós-parto.

## CONCLUSÃO

Inúmeras vantagens são obtidas com a adoção da inseminação artificial em rebanhos bovino de corte. No entanto, a baixa taxa de serviço, seja pela ineficiência na detecção do cio ou pelo alto grau de anestro no período pós parto são os principais fatores que comprometem a eficiência dos programas para o emprego dessa biotecnologia. Dessa forma, a inseminação artificial em tempo fixo apresenta-se como alternativa para superar esses entraves. Existem inúmeros protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo. A escolha do protocolo mais apropriado depende da avaliação técnica das condições da propriedade e dos animais a serem inseminados. Na atualidade, existem protocolos que manejam apenas 3 vezes os animais e permitem a IATF tanto pela manhã quanto pela tarde, facilitando consideravelmente o manejo. Quando a IATF é utilizada adequadamente, aproximadamente 50% das fêmeas sincronizadas prenham com apenas uma inseminação realizada no período pós-parto recente (<60 dias). Os animais que não conceberam podem ser novamente sincronizados ou colocados com touros para repasse. Além disso, as vacas tratadas com progesterona/progestágenos que não se tornaram gestantes apresentam maior taxa de serviço (aumenta o número de vacas que manifestam cio) e de prenhez durante a estação de monta que vacas não tratadas, antecipando a concepção e aumentando a eficiência reprodutiva do rebanho.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ P, SPICER LJ, CHASE JR, PAYTON ME, HAMILTON TD, STEWART CC, HAMMOND RE, OLSONTA AC, WETTEMAN RP. Ovarian and endocrine characteristics during the estrous cycle in Angus, Brahman and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal Animal Science*, v.78, p.1291-1302, 2000.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC), 2004.

AYRES H, TORRES-JÚNIOR JRS, PENTEADO L, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Efeito do momento da inseminação e do tratamento com GnRH na IATF sobre a taxa de concepção de vacas de corte lactantes sincronizadas com Norgestomet e Valerato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae* 34 p.408, 2006a.

AYRES H, TORRES-JÚNIOR JRS, PENTEADO L, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Efeito do momento da inseminação e do tratamento com GnRH na IATF sobre a taxa de concepção de vacas de corte lactantes sincronizadas com Norgestomet e Benzoato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae* 34 p.409, 2006b.

AYRES H, TORRES-JÚNIOR JRS, PENTEADO L, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao Benzoato ou ao Cipionato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae* 34 p.410, 2006c.

AYRES H, MARQUES MO, SILVA RCP, RODRIGUES CA, FERREIRA RM, BARUSELLI PS. Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinária*. 2007. (submetido para publicação).

BARROS CM, NOGUEIRA MFG. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1483-1496, 2001.

BARUSELLI PS, AYRES H, SOUZA AH, MARTINS CM, GIMENES LU, TORRES-JÚNIOR JRS. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2, 2006, Londrina, PR. *Anais do 2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2006a. v.1, p.113-132.

BARUSELLI PS, MARQUES MO, REIS EL, NASSER LFT, SILVA RCP, MENEGATTI JA, VALENTIN R, SANTOS ICC. Adequação da dose de FSH (Folltropin-v) em protocolos de superovulação de vacas nelore (*Bos taurus indicus*) com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). *Acta Scientiae Veterinariae*, v.31, p.244-245, 2003.

BARUSELLI PS, REIS,EL, MARQUES MO, NASSER LF, BO GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.479-486, 2004

BARUSELLI PS, SÁ FILHO MF, MARTINS CM, NASSER LFT, NOGUEIRA MFG, BARROS CM, BO GA. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle *Theriogenology*, v.65, p.77-88, 2006b.

BARUSELLI PS, MARQUES MO, CARVALHO NAT, MADUREIRA EH, CAMPOS FILHO EP. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.

BARUSELLI PS, MARQUES MO; REIS EL; MELLO JE; CAMPOS FILHO EP. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus x Bos taurus indicus* durante o período pós-parto. In: Simposio Internacional de Reproducción Animal, 5., Proceedings, v.1, p.380, 2003.

BARUSELLI PS, SOUZA AH, MARTINS CM, GIMENES LU, SALES JNS, AYRES H, ANDRADE AFC, RAPHAEL L CF, ARRUDA, RP. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, n.2, abril/jun. 2007.

BINELLI M, THATCHER WW, MATTOS R, BARUSELLI PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1451-1463, 2001.

BO GA, ADAMS GP, CACCIA M, MARTINEZ M, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.39, p.193-204, 1995.

BO GA, BARUSELLI PS, MARTINEZ MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.

BÓ GA, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. *Theriogenology*, v. 36, n. 2, p. 169-183, 1991.

BONI R, ROELOFSEN MWM, PIETERSE MC, KOGUT J, KRUIP THAM. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. *Theriogenology*, v.48, p.277-289, 1997.

CARVALHO JBP, CARVALHO NAT, REIS EL, NICHI M, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, 2007. (submetido para publicação).

CASTILHO C, GARCIA JM, RENESTO A, NOGUEIRA GP, BRITO LFC. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v.98, p.189-96, 2006.

CAVALIERI J, RUBIO I, KINDER JE, ENTWISTLE KW, FITZPATRICK LA. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v. 47, p. 801-814, 1997.

COLAZO MG, BÓ GA, ILLUMINANTI H, MEGLIA G, SCHMIDT, EE, BARTOLOMÉ J. Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v. 51, p. 404, abstr., 1999.

CUTAIA L, MORENO D, VILLATA ML, BÓ GA. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology*, v. 55, p. 408, abstr., 2001

D'OCCHIO MJ, NEISH A, BROADHURST L. Differences in gonadotrophin secretion post-partum between zebu and European breed cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 22, p. 311-317, 1990.

DE SILVA AWMV, ANDERSON GW, GWAZDAUSKAS FC, MCGILLIARD ML, LINEWEAVER JA. Correlations with estrous behavior and conception in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v.64, p.2409-2418, 1981.

DOYLE SP, SEIDEL JR GE, SCHENK JL, HERICKHO LA, CRAN DG, GREEN RD. Artificial insemination of lactating Angus cows with sexed semen. Proceedings, Western Section, *American Society of Animal Science*, v.50, p.203-205, 1999.

FIGUEIREDO RA, BARROS CM, PINHEIRO OL, SOLE JMP. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, v.47, p.1489-1505, 1997.

FORTUNE JE, RIVERA GM, YANG MY. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.109-126, 2004.

- GIMENES LU, CARVALHO NAT, SÁ FILHO MF, SANTIAGO LL, CARVALHO JBP, MAPLETOFT RJ, BARROS CM, BARUSELLI PS. Capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, supl.1, p.209., 2005a [Resumo].
- GIMENES LU, SÁ FILHO MF, MADUREIRA EH, TRINCA LA, BARROS CM, BARUSELLI PS. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, supl.1, p.210, 2005b [Resumo].
- GINTHER OJ, BEG MA, DONADEU FX, BERGFELT DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.239-257, 2003.
- GINTHER OJ, BERGFELT DR, BEG MA, KOT K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biological Reproduction*, v.64, p.197-205, 2001.
- GINTHER OJ, KNOPF L, KASTELIC JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. *Journal Reproduction and Fertility*, v.87, p.223-230, 1989.
- GINTHER OJ, WILTBANK MC, FRICKE PM, GIBBONS JR, KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biological Reproduction*, v.55, p.1187-1194, 1996.
- KASTELIC JP, BERGFELT DR, GINTHER OJ. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, v.33, p.1269-1278, 1990.
- KESLER; D.J.; FAVERO, R.J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. Part 1: Mechanism of action. *Agriculture Practice*, v. 16, p. 6-11, 1995.
- LANDAETA-HERNÁNDEZ AJ, PALOMARES-NAVEDA R, SOTO-CASTILLO G, ATENCIO A, CHASE JR CC, CHENOWETH PJ. Social and breed effects on the expression of a PGF2 $\alpha$  induced oestrus in beef cows. *Reproduction Domestic Animal*, v.39, p.315-320, 2004.
- LU KH, SEIDEL JR GE. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates of bovine oocytes inseminate with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, v.62, p.819-830. 2004;
- LUCY MC, SAVIO JD, BADINGA L, DE LA SOTA RL, THATCHER WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal Animal Science*, v.70, p.3615-3626, 1992.
- MACMILLAN KL, PETERSON AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction Science*. V. 33, p. 1-25, 1993.
- MARTINEZ MF, ADAMS GP, KASTELIC JP, BERGFELT DR, MAPLETOFT RJ. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*, v. 54, n. 5, p. 757-769, 2000.
- MARTINS CM, CASTRICINI ESC, REIS EL, TORRES-JÚNIOR JRS, GIMENES LU, SÁ FILHO MF, BARUSELLI PS. Produção embrionária de vacas Holandesas a diferentes protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.227, 2005a [Resumo].
- MARTINS C.M.; CASTRICINI, E.S.C. ; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com Cipionato ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae* 33. p.285. 2005b[Resumo].
- MARTINS CM, AYRES H, MELLO JE, DOMINGUEZ JH, SOUZA AH, FERREIRA RM, VALENTIN R, SANTOS ICC, BARUSELLI PS. Impact of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. *Animal Reproduction*. 2007. (submetido para publicação).



MEMBRIVE CMB. Estudo da sincronização das ondas foliculares e das características de estros, por radiotelemetria, em novilhas cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) tratadas com acetato de melengestrol e prostaglandina associados a hCG, GnRH ou 17 $\beta$  estradiol + progesterona. São Paulo, 2000. 156f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Disponível no site [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acessado em 10 de maio de 2007.

MIZUTA K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). 2003. 98 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade e São Paulo, São Paulo, 2003.

MONTIEL F, AHUJA C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, v.85, p.1-26, 2005.

MOURA MT, MARQUES MO, BARUSELLI PS. Efeito do benzoato de estradiol na sincronização com Crestar e eCG para inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 27, n. 3, p. 432-434, 2003.

PASCHAL JC, SANDERS JO, KERR JL. Calving and weaning characteristics of Angus-gray, Brahman, Gir, Indu-Brazil, Nelore and Red Brahman-Sired F1 calves. *Journal Animal. Science*. V.69, P. 2395-2402, 1991.

PENTEADO L, SÁ FILHO MF, REIS EL, TORRES-JÚNIOR JR, MADUREIRA EH, BARUSELLI PS. Eficiência reprodutiva em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes submetidas a diferentes manejos durante a estação de monta. *Anais XVI Reunião do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal*, 2005.

PENTEADO L, AYRES H, TORRES-JÚNIOR JR, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae* 34 p.401, 2006a[Resumo].

PENTEADO L, MARQUES MO, SILVA RCP, AYRES H, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós parto. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2006. v. 34. p. 402[Resumo].

PINHEIRO OL, BARROS CM, FIGUEREDO RA, DO VALLE ER, ENCARNAÇÃO RO, PADOVANI CR. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 $\alpha$  or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v.49, p.667-81, 1998.

RAE DO, CHENOWETH PJ, GIANGRECO MA, DIXON PW, BENNET FL. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. *Theriogenology*, v.51, p.1121-1132, 1999.

RANDEL RD. LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal Animal Science*, v.43, p.300, 1976 [Resumo].

RHODES FM, DE'ATH G, ENTWISTLE KW. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*, v.38, p.265-277, 1995.

RHODES FM, MCDOUGALL S, BURKE CR, VERKERK GA, MACMILLAN KL. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrus interval. *Journal Dairy Science*, v.86, p.1876-1894, 2003.

RODRIGUES CA, MANCILHA RF, REIS EL, AYRES H, GIMENES LU, SÁ FILHO MF, BARUSELLI PS. Efeito do número de implantes de norgestomet e do momento da administração do indutor de ovulação em vacas holandesas superovuladas. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.229, 2005 [Resumo].

RUIZ-CORTES ZT, OLIVERA-ANGEL M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Reproduction Science*, v.54, p.211-220, 1999.

SÁ FILHO MF, GIMENES LU, TORRES-JÚNIOR JRS, CARVALHO NAT, KRAMER MPS, FARIA MH, BARUSELLI PS. Emergência folicular conforme a dose e o momento de aplicação do Benzoato de Estradiol e de sua associação com progesterona injetável em vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona. *IRAC*, 2005.

SARTORELLI ES, CARVALHO LM, BERGFELT DR, GINTHER OJ, BARROS CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.

SARTORI R, FRICKE PM, FERREIRA JCP, GINTHER OJ, WILTBANK MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biologic Reproduction*, v.65, p.1403-1409, 2001.

SAVIO JD, KEENAN L, BOLAND MP, ROCHE JF. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal Reproduction and Fertility*, v.83, p.663-671, 1988.

SCHENK JL, SUH TK, SEIDEL JR. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. *Theriogenology*, v.65, p.299-307, 2006.

SCHILLO KK. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal Animal Science*, v.70, p.1271-1282, 1992.

SEGERSON EC, HANSEN TR, LIBBY DW, RANDEL RD, GETZ WR. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. *Journal Animal Science*, v.59, p.1026-1046, 1984.

SEIDEL GE, SCHENK JL, HERICKHOFF LA, DOYLE SP, BRINK Z, GREEN RD, CRAN DG. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, v.52, p.1407-1420, 1999.

SIMPSON RB, CHASE JR CC, SPICER LJ, VERNON RK, HAMOND AC, RAE DO. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular estradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *Journal Reproduction and Fertility*, v.102, p.483-492, 1994.

SIROIS J, FORTUNE JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biologic Reproduction*, v.39, p.308-317, 1988.

TRENKLE, A.; WILHAM, R.L. Beef production efficiency. *Science* 198. p.1009. 1977.

VAN VLIET JH, VAN EERDENBURG FJCM. Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows. *Applied Animal Behavior Science*, v.50, p.57-69, 1996.

VIANA JHM, FERREIRA AM, SÁ WF, CAMARGO LSA. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, p.2501-2509, 2000.

WEBB R, GOSDEN RG, TELFER EE, MOOR RM. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Animal Science*, v.68, p.257-284, 1999.

WEHRMAN ME, ROBERSON MS, CUPP AS, STUMPF TT, WERTH LA, WOLFE MW, KITTO RJ, KINDER JE. Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decrease endogenous 17 $\beta$ -estradiol and increase conception in cow. *Biologic. Reproduction.*, v. 49, p. 214-220, 1993.

WHITE FJ, WETTEMANN RP, LOOPER ML, PRADO TM, MORGAN GL. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in non-lactating beef cows. *Journal Animal Science*, v.80, p.3053-3059, 2002.

WILLIAMS GL, GAZAL OS, GUZMÁN VEGA GA, STANKO RL. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.289-297, 1996.

WILLIAMS GL. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal Animal Science*, v.68, p.8331-852, 1990.

WILTBANK JN, KASSON CW. Synchronization of estrus in cattle with an oral progestational agent and an injection of an estrogen. *Journal Animal Science* v.27 p.113-116. 1968.

[WILTBANK MC, GÜMEN A, SARTORI R.](#) Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, v.57, p.21-52, 2002.

WILTBANK MC, LOPEZ H, SARTORI R, SANGSRITAVONG S, GÜMEN A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, v.65, p.17-29, 2006.

WOLFENSON D, INBARA G, ROTH Z, KAUMB M, BLOCHA A, BRAW-TAL R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology*, v.62, p.1042-1055, 2004.

[YAVAS Y, WALTON JS.](#) Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, v.54, p.25-55, 2000.



## PROGRAMAS DE SINCRONIZACION DE CELOS EN VAQUILLONAS DE CARNE: PUNTOS CRITICOS A TENER EN CUENTA

---

Lucas E. Cutaia<sup>12</sup>, Lucas C. Peres<sup>12</sup>, Danilo Pincinato<sup>12</sup>, Pablo M. Chesta<sup>12</sup>,  
Martín Ramos<sup>1</sup>, Gabriel A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC) <sup>2</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Jerónimo Luis de  
Cabrera 110 – X5000GVD- Córdoba – Argentina.  
E-mail: [lcutaia@iracbiogen.com.ar](mailto:lcutaia@iracbiogen.com.ar)

### Introducción

Durante los últimos años se ha producido un gran avance en el desarrollo de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), lo cual incrementó notablemente la cantidad de animales incluidos en estos programas (Bó et al., 2005; Baruselli et al., 2003). Datos de análisis de resultados de programas de IATF indican que es posible obtener porcentajes de preñez promedio del 50% a primo inseminación, tanto en vacas con cría al pie como en vaquillonas *Bos taurus* de dos años de edad (Cutaia et al., 2003). Además, la adición de 400 UI de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a los protocolos de IATF que utilizan dispositivos intravaginales con progesterona y benzoato de estradiol (EB) permiten la inseminación de vacas con cría al pie y en pobre condición corporal (CC) con tasas de preñez del 40 al 50% (Cutaia et al., 2003, Baruselli et al., 2003, Bó, et al., 2005). Sin embargo, los resultados de preñez obtenidos en vaquillonas han sido inconsistentes e impredecibles, sobre todo en vaquillonas cebú o crucea cebú y en vaquillonas *Bos taurus* de 15 meses de edad.

Dentro de las posibles causas de estos variables resultados podemos mencionar la alta tasa de inmadurez en las vaquillonas en el momento de se las quiere inseminar (revisado por Baruselli et al., 2005). Por el contrario en la vaquillonas cíclicas, otra de las posibles causas de los variables resultados podría deberse a que altos niveles de progesterona circulante durante el tratamiento, suprimen la frecuencia y magnitud de los pulsos de LH que afectan el crecimiento del folículo dominante, la ovulación y la formación de un CL competente (Baruselli et al., 2005). Esta situación sería mucho mas marcada aún en vaquillonas de menor peso y tamaño metabólico que tienen un CL durante el tratamiento y en vaquillonas cebuínas o crucea cebú que han demostrado tener menor capacidad para metabolizar la progesterona liberada por los dispositivos que las vaquillonas *Bos taurus* (Baruselli et al., 2005). En ambos casos, la resultante sería altos niveles de progesterona en sangre. Datos preliminares indican que mediante la aplicación de una dosis de PGF cuatro días antes de la remoción de un dispositivo con progesterona (Moreno et al., 2002) o en el momento de inserción del dispositivo con progesterona (Día 0 del tratamiento; Cutaia et al., 2004, Bó et al., 2004) se obtiene una mayor tasa de crecimiento del folículo dominante que cuando se administra PGF en el momento de la remoción del dispositivo. El objetivo de

esta revisión es presentar resultados obtenidos en programas de IATF en vaquillonas y discutir sobre posibles alternativas de tratamiento para las mismas.

**EFFECTO DE LA DOSIS DE PROGESTERONA CONTENIDA EN UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL Y LA INDUCCIÓN DE LUTEÓLISIS TEMPRANA.**

Se diseñaron dos experimentos con el objetivo de: 1) evaluar el efecto de la aplicación de una dosis reducida de PGF (75 µg de D(+)-cloprostenol; Ciclase, Syntex SA) en el momento de inicio (Día 0) de un tratamiento utilizando dispositivos intravaginales con progesterona; 2) evaluar el efecto del uso de dispositivos conteniendo 1 g o 0,5 g de progesterona (DIB, Syntex S.A., Argentina); y 3) evaluar los dispositivos de 1 g o 0,5 g reutilizados.

En el Experimento 1 (Pincinato et al., 2007), se utilizaron 482 vaquillonas cruza cebú, de entre 24 y 30 meses de edad con una CC de 3,0 a 3,5 (Escala 1-5). Todas las vaquillonas se encontraban ciclando (presencia de CL determinado por ultrasonografía; Pie Medical, Falco 100-7,5 Mhz) en el Día 0 y fueron divididas al azar para recibir uno de cuatro tratamientos en un diseño 2 x 2 factorial. Las vaquillonas del Grupo PGF Día 0 y 8, recibieron ½ dosis de PGF i.m. (75 µg g de D(+)-cloprostenol); en el Día 0 del tratamiento junto con 2 mg de EB i.m. (Syntex SA) y otra dosis de 75 µg de D(+)-cloprostenol en el momento de retirado el dispositivo (Día 8). Las vaquillonas del Grupo PGF Día 8, recibieron solo una dosis completa de PGF (150 µg de D(+)-cloprostenol) en el Día 8. A su vez, los animales de cada grupo fueron subdivididos para recibir un DIB conteniendo 1 g de progesterona (Grupo DIB 1 g) o un DIB conteniendo 0,5 g de progesterona (Grupo DIB 0,5 g) por 8 días. Todas las vaquillonas recibieron 1 g de EB en el Día 9 y fueron IATF entre las 52 y 56 h después de la remoción de los DIB.

Los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 1 y 2. Considerando sólo las vaquillonas tratadas con DIB 1 g, se encontró una diferencia (P=0,04) a favor del grupo que recibió PGF en el Día 0 y 8 respecto al grupo que recibió PGF en el Día 8 (Tabla 1). Sin embargo, las diferencias en el porcentaje de preñez obtenido en las vaquillonas tratadas con DIB 0,5 g sólo fueron numéricas a favor de las vaquillonas que recibieron PGF en el Día 0 y 8 respecto a las que recibieron PGF en el Día 8.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez obtenidos en vaquillonas tratadas con DIB con 1g ó 0,5 g de progesterona y tratadas con PGF en el Día 0 y 8 ú 8 del tratamiento.

<b>DIB 1 g – PGF Día 8</b>	<b>DIB 1 g – PGF Día 0 y 8</b>	<b>DIB 0,5 g – PGF Día 8</b>	<b>DIB 0,5 g – PGF Día 0 y 8</b>
60/121	74/118	63/119	<b>70/124</b>
<b>(49,6%)<sup>a</sup></b>	<b>(62,7%)<sup>b</sup></b>	<b>(52,9%)<sup>ab</sup></b>	<b>(56,5%)<sup>ab</sup></b>

ab porcentajes en la misma fila con distintos superíndices difieren P=0,04

Cuando se evaluaron sólo los efectos principales (momento de la PGF y contenido de progesterona del dispositivo; Tabla 2) y no se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez en vaquillonas tratadas con DIB 1 g o DIB 0,5 g (P>0,05). Sin embargo los porcentajes de preñez tendieron a

ser mayores ( $P=0,06$ ) en las vaquillonas tratadas con PGF en los Días 0 y 8 que las tratadas con PGF sólo en el Día 8.

**Tabla 2.** Porcentajes de preñez obtenidos en vaquillonas tratadas con DIB con 1 g ó 0,5 g de progesterona y tratadas con PGF en el Día 0 y 8 ú 8 del tratamiento. Efectos principales.

Dispositivo	Momento PGF		
DIB 1 g de progesterona		134/239 (56,1%)	
DIB 0,5 g de progesterona		133/243 (54,7%)	
	PGF Día 0		<b>144/242 (59,5%)<sup>a</sup></b>
	<b>PGF Día 0y8</b>		<b>123/240 (51,3%)<sup>b</sup></b>

ab porcentajes en la misma fila con distintos superíndices tienden a diferir  $P=0,06$

Se diseñó un segundo experimento (Cutaia et al., 2007) con el objetivo de evaluar las tasas de preñez en vaquillonas cruzas cebú tratadas con dispositivos nuevos o usados impregnados con 0,5 o 1,0 g de progesterona, las cuales a su vez fueron tratadas o no con PGF en el Día de inicio del tratamiento. Se utilizaron 471 vaquillonas cruzas cebú de 20 a 26 meses de edad y con una CC de entre 2,5 a 3,5. Las vaquillonas fueron divididas al azar en 8 tratamientos, en un diseño  $2 \times 2 \times 2$  factorial. En el Día 0, todas las vaquillonas recibieron 2 mg de EB i.m. y fueron divididas para recibir DIB de 1 ó 0,5 g de progesterona nuevos o previamente utilizados y a su vez para recibir o no una dosis de 75 µg de D(+)-cloprostenol. En el Día 8, se retiraron los DIB y se aplicó una dosis de PGF i.m. completa a los animales que no recibieron media dosis en el Día 0 y una media dosis al resto de las vaquillonas. En el Día 9, todas las vaquillonas recibieron 1 mg de EB y fueron IATF entre las 52 y 56 h luego de retirados los DIB. El día de colocación de los DIB se realizó ultrasonografía (US) y todas las vaquillonas estaban cíclicas (con un CL). El diagnóstico de preñez se realizó también por US a los 30 días de la IATF. Como puede observarse en la Tabla 3, no hubo diferencias ( $P>0,6$ ) en las tasas de preñez entre las vaquillonas tratadas con DIB con 1 g de progesterona nuevos o previamente usados y aquellas tratadas con DIB de 0,5 de progesterona nuevos. Sin embargo, se encontró un menor porcentaje ( $P<0,003$ ) de preñez en aquellas vaquillonas tratadas con DIB de 0,5 g de progesterona previamente usados.

**Tabla 3.** Porcentajes de preñez en vaquillonas cruzas cebú inseminadas a tiempo fijo y tratadas con dispositivos intravaginales DIB con 1 ó 0,5 g de progesterona nuevos o usados, tratadas o no con PGF en Día de inicio del tratamiento.

DIB 1 g				DIB 0,5 g			
Nuevos		Usados		Nuevos		Usados	
PGF Día 0y8	PGF Día 8	PGF Día 0y8	PGF Día 8	PGF Día 0y8	PGF Día 8	PGF Día 0y8	PGF Día 8
33 / 59	26 / 60	19 / 50	27 / 59	35 / 64	29 / 60	13 / 59	12 / 60
(55,9%) <sup>a</sup>	(43,3%) <sup>ab</sup>	(38,0%) <sup>ab</sup>	(45,0%) <sup>ab</sup>	(54,7%) <sup>a</sup>	(48,3%) <sup>a</sup>	(25,4%) <sup>b</sup>	(20,0%) <sup>b</sup>

Concluimos con dispositivos de 1 g no hay diferencias entre el uso de dispositivos nuevos o reutilizados, pero la reutilización de los dispositivos con 0,5 g no dan tasas de preñez aceptables, debido a la baja cantidad de progesterona residual que queda en estos dispositivos después del primer uso. Por otro lado se debería evaluar nuevamente el uso de una dosis reducida de PGF en el momento de aplicar un dispositivo previamente usado, ya que en este grupo se obtuvieron resultados numéricamente menores que cuando se utilizó PGF sólo en el Día 8.

En este mismo sentido realizamos un tercer experimento con el objetivo de evaluar el efecto de una media dosis de PGF en el momento de inserción y remoción de un dispositivo Cue-Mate (Bioniche Animal Health, Canadá) utilizando 1 o 2 camisas con 0,78 g de progesterona cada una. Se utilizaron 300 vaquillonas cruce cebú de entre 20 y 26 meses de edad y con una CC de 2,5 a 3,5. En el Día 0, todas las vaquillonas fueron examinadas por US y fueron utilizadas sólo las que presentaron un CL y cuernos uterinos de un diámetro mayor a 2 cm. Las vaquillonas fueron asignadas a cuatro grupos de tratamientos en un diseño 2 x 2 factorial. En el Día 0, todas las vaquillonas recibieron 2 mg de EB (Biotay SA, Argentina) i.m. y fueron divididas para recibir un Cue-Mate con 2 camisas (cantidad total de progesterona = 1,56 g) o un Cue-Mate con una camisa de 0,78 g y una camisa sin progesterona (cantidad total de progesterona = 0,78 g) Las vaquillonas de cada grupo fueron a su vez subdivididas para recibir 75 µg de D(+) cloprostenol (Bioprost, Biotay, Argentina) en el momento de insertado el Cue-Mate y nuevamente en el momento del retiro (Día 8) o una dosis simple de 150 µg de D(+) cloprostenol en el Día 8. Todas las vaquillonas recibieron 1 mg de EB en el Día 9 y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Los datos de preñez fueron analizados por regresión logística para evaluar efecto tratamiento, CC, semen e inseminador. No hubo efecto semen (P=0,35) o inseminador (P=0,48). No hubo efectos principales significativos, sin embargo hubo una interacción Cue-Mate x PGF ya que la preñez fue menor cuando se utilizó un Cue-Mate con una sola camisa y PGF en el Día 0 y 8 del tratamiento (P<0,05; Tabla 6) que cuando se utilizaron las dos camisas de progesterona. Esta menor preñez obtenida en el grupo con menor cantidad de progesterona (1 camisa y PGF Día 0 y 8) concuerda con las observaciones del experimento anterior en que se observó una menor tasa preñez en vaquillonas tratadas con DIB reutilizados y PGF en el Día 0 y 8. Esto plantea la discusión que, si bien la progesterona alta afecta el desarrollo folicular, una progesterona demasiado baja podría afectar las tasas de preñez.

**Tabla 4.** Tasas de preñez en vaquillonas cruce cebú tratadas con Cue-Mate con 1 ó 2 camisas impregnadas con 0,78 g de progesterona cada una e inseminadas a tiempo fijo.

Dispositivo Cue-Mate	PGF	Tasa de Preñez
1 Camisa	Día 8	50,0 % (34/68) ab
1 Camisa	Día 0 y 8	39,2 % (29/74) a
2 Camisa	Día 8	50,7 % (36/71) ab
2 Camisa	Días 0 y 8	56,3 % (40/71) b
<b>Efectos Principales</b>		
1 Camisa		45,0 % (64/142) a
2 Camisa		53,5 % (76/142) a
	Día 8	51,0 % (71/139) a
	Días 0 y 8	47,6 % (69/145) a

ab Tasas de preñez difieren (P<0,05).



Datos reportados por Moscoloni y Chesta (comunicación personal) también indican un efecto positivo de la utilización de una media dosis de PGF (75 µg D(+)-cloprostenol, Ciclar, Zoovet, Argentina) en 257 vaquillonas Angus de 15 meses de edad que fueron tratadas con un Procielar (0,75 g de progesterona, Zoovet) por 7 u 8 días, junto con 2 mg de EB en el Día 0. En este caso, las vaquillonas recibieron una dosis completa de PGF (150 µg de cloprostenol) cuando se retiraron los dispositivos, 1 mg de EB 24 h mas tarde y fueron IATF entre las 52 y 56 h del retiro de los dispositivos. En las vaquillonas del Grupo Control se obtuvo un 32,5% (53/163) mientras que en las del Grupo PGF Día 0, se obtuvo un 43,5% (41/94; P=0,07). Estos resultados confirman el efecto positivo de la inducción temprana de la luteolisis en vaquillonas cíclicas, sobre todo en las de menor peso corporal.

### **TRATAMIENTOS UTILIZANDO eCG EN EL MOMENTO DE LA REMOCIÓN DEL DISPOSITIVO Y GnRH COMO INDUCTOR DE LA OVULACIÓN EN VAQUILLONAS.**

Una alternativa para incrementar el porcentaje de preñez en vaquillonas podría ser la utilización de eCG al momento de retirado el dispositivo con progesterona, con el objetivote incrementar el crecimiento del folículo pre-ovulatorio. Baruselli et al. (2005) reportaron un incremento en los porcentajes de preñez en vaquillonas Nelore tratadas con CIDR por 8 días a las cuales se le aplicó 400 UI de eCG. En las vaquillonas del grupo eCG se obtuvo un 34.9% (68/195) de preñez, mientras que en las vaquillonas del grupo control (igual tratamiento pero sin eCG) se obtuvo un 15,7% (31/197).

Menchaca et al. (2007) realizaron un experimento utilizando 486 vaquillonas Aberdeen Angus y Hereford de entre 14 y 16 meses de edad con peso  $\geq 240$  kg, para evaluar el efecto del tratamiento con eCG en las tasas de preñez. También se evaluó el uso de GnRH en lugar de EB como inductor de la ovulación, con el objetivo de buscar una alternativa al tratamiento de sincronización de la ovulación en vaquillonas *Bos taurus* pre-pubescentes.

Efectivamente, todas las vaquillonas eran prepúberes y esto fue determinado por la ausencia de estro 20 días previos al comienzo del experimento y fue confirmado por US (Aloka 500 con transductor de 5 MHz) al momento de iniciado el tratamiento. Todas las vaquillonas recibieron en el Día 0 un DIB de 1 g de progesterona y 2 mg de EB i.m. El DIB fue retirado 7 días mas tarde junto con la aplicación de 150 µg de D(+)-cloprostenol y ese momento las vaquillonas fueron divididas en 4 tratamientos, en un diseño 2 x 2 factorial. Las vaquillonas del Grupo control recibieron 1 mg de EB en el Día 8 y fueron IATF 52 a 56 h de retirado el DIB. Las vaquillonas del grupo EB+eCG recibieron una dosis de 300 IU de eCG (Novormón 5000, Syntex) en el Día 7 y 1 mg de EB en el Día 8 y fueron IATF 52 a 56 h de retirado el DIB. Las vaquillonas del Grupo GnRH recibieron una dosis 50 µg de GnRH (Lecirelina, Gonasyn, Syntex) a las 48 h de retirado el DIB y fueron IATF 6 h mas tarde. Por último, las vaquillonas del Grupo GnRH + eCG recibieron el mismo tratamiento que las del grupo anterior más las adición de 300 UI de eCG en el momento de retirado el DIB. Se realizó el diagnóstico de preñez a los 45 días de la IATF y los datos fueron analizados por regresión logística.

La tasa de preñez fue mayor en las vaquillonas tratadas con GnRH (48,7 %; 119/244) que en las tratadas con EB (40,0%; 98/245; P <0.05) y también en las tratadas con eCG (49,8%; 120/241) que en las no tratadas con eCG (40,3%; 97/241; P<0.01). La asociación entre GnRH+eCG resultó en una preñez del 55.3% (68/123), contra el 36,2% (46/127; P<0.05) obtenido en el Grupo control. La preñez fue intermedia para los grupos GnRH y EB+eCG (42,4%, 50/118 y 44,1%, 52/118; respectivamente). Los resultados sugieren que la GnRH como inductor de ovulación y la eCG administrada al momento de retirado el progestágeno resultan en mayores tasas de preñez que las obtenidas con el tratamiento convencional

utilizando EB (sin eCG). Los resultados positivos de la adición de eCG en vaquillonas prepúberes concuerda con lo reportado por Baruselli et al. (2005). Sin embargo la mayor tasa de preñez en las que recibieron GnRH que en las que recibieron EB fue un resultado inesperado y difícil de interpretar. Por lo tanto son necesarios más trabajos para confirmar estos resultados.

Recientemente realizamos una serie de experimentos con el objetivo de evaluar el efecto asociativo de la aplicación de una dosis reducida de PGF en el día de insertado un dispositivo intravaginal con progesterona y el uso de eCG ó GnRH en vaquillonas. A diferencia del experimento anterior, en este caso las vaquillonas eran cíclicas. En el primer experimento se utilizaron 366 vaquillonas Brangus cíclicas de entre 18 y 24 meses de edad y con una CC de  $3,0 \pm 0,5$ . El experimento se realizó en un establecimiento de la localidad de Las Lajitas, Salta, Argentina. Todos los animales recibieron en el Día 0 del tratamiento un dispositivo intravaginal con progesterona de segundo uso (DIB 1 g, Syntex Argentina) junto con 2 mg de EB. En ese momento las vaquillonas fueron asignadas a uno de 4 grupos de tratamiento, en un diseño 2 x 2 factorial. Las vaquillonas del Grupo PGF Día 0 y 8, recibieron  $\frac{1}{2}$  dosis de PGF i.m. (75  $\mu$ g de D(+)-cloprostenol); en el Día 0 del tratamiento y otra  $\frac{1}{2}$  dosis de PGF en el momento de retirado el dispositivo (Día 8). Las vaquillonas del Grupo PGF Día 8, recibieron solo una dosis completa de PGF (150  $\mu$ g de D(+)-cloprostenol) en el Día 8. A su vez, los animales de cada grupo fueron subdivididos para recibir una dosis de 400 UI de eCG o no en el momento de retirado el DIB. Todas las vaquillonas recibieron 1 mg de EB en el Día 9 y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Se realizó US (Chison VET 500, 5 Mhz.) a los 35 días pos IATF para el diagnóstico de preñez. No se encontraron diferencias en los porcentajes de preñez entre vaquillonas tratadas con PGF Día 0 o PGF Día 0 y 8 ( $P > 0,1$ ; Tabla 5). Tampoco se encontraron diferencias en los porcentajes de preñez entre las vaquillonas tratadas con una dosis de 400 UI de eCG y las no tratadas con eCG ( $P > 0,1$ ; Tabla 5).

**Tabla 5.** Porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus IATF tratadas con PGF en diferentes momentos del tratamiento y con la adición de 400 UI en el Día 8.

	Total	Preñadas	%
<b>PGF Día 0 y 8</b>	187	66	35,3%
<b>PGF Día 8</b>	179	73	40,8%
<b>eCG</b>	181	75	41,4%
<b>Control</b>	185	64	34,6%

Las tasas de preñez no difieren ( $P > 0,05$ )

En un segundo experimento, realizado en el mismo establecimiento, se utilizaron 313 vaquillonas Brangus cíclicas de entre 18 y 24 meses de edad con una CC de  $3 \pm 0,5$ . Todos los animales recibieron en el Día 0 un DIB de segundo uso y 2 mg de EB. En ese momento las vaquillonas fueron asignadas a uno de cuatro grupos de tratamiento en un diseño 2 x 2 factorial. Las vaquillonas del Grupo PGF Día 0 y 8, recibieron  $\frac{1}{2}$  dosis de PGF i.m., en el Día 0 del tratamiento y otra  $\frac{1}{2}$  dosis de PGF en el momento de retirado el dispositivo (Día 8). Las vaquillonas del Grupo PGF Día 8, recibieron solo una dosis completa de PGF en el Día 8. A su vez, los animales de cada grupo fueron subdivididos para recibir para recibir una dosis de 50  $\mu$ g de Lecirelina a las 48 h de retirados los DIB o una dosis de 1 mg de EB a las 24 h de

retirados los dispositivos. Todas las vaquillonas fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Se realizó US a los 35 días pos IATF para el diagnóstico de preñez. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez en vaquillonas tratadas con PGF Día 0 o PGF Día 0 y 8 ( $P>0,1$ ; Tabla 6). Tampoco se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez de las vaquillonas tratadas con EB o GnRH como inductor de ovulación ( $P>0,1$ ; Tabla 8).

**Tabla 6.** Porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus IATF tratadas con PGF en diferentes momentos del tratamiento y con EB o GnRH como inductor de la ovulación.

	Total	Preñadas	%
<b>PGF Día 0 y 8</b>	158	72	45,6%
<b>PGF Día 8</b>	155	76	49,0%
<b>EB</b>	152	72	47,4%
<b>GnRH</b>	161	76	47,2%

Las tasas de preñez no difieren ( $P>0,05$ )

En base a los resultados concluimos que en este experimento a diferencia de los reportados anteriormente, la adición PGF en el momento de iniciado el protocolo de sincronización no modificó los resultados de preñez. Por otro lado, la adición de 400 UI de eCG en el momento de retirado el DIB o el uso de GnRH en lugar de EB como inductor de la ovulación no aumentaron los porcentajes de preñez en vaquillonas cíclicas. Teniendo en cuenta que la información aquí presentada se contrapone con la presentada previamente en este trabajo resulta necesario profundizar la investigación en este tema.

Otra alternativa evaluada en vaquillonas fue la posibilidad de probar con tratamientos largos (por 14 días) para imitar una fase luteal antes de la IATF. Se utilizaron 345 vaquillonas cruce cebú x Bonsmara de 24 meses de edad y con una CC promedio de 3,0. El día de inicio del tratamiento (Día 0) las vaquillonas fueron US (Pie Medical Falco 100, 7,5 Mhz) y todas presentaron un CL. En el Día 0, la mitad de las vaquillonas (Grupo 14 d) recibieron un Triu-B (1g de progesterona, Biogénesis-Bagó, Argentina); siete días mas tarde (Día 7) recibieron una dosis de GnRH (8 µg Buserelina, Receptal, Intervet) junto con 75µg de D(+)-cloprostenol (Enzaprost, Biogénesis-Bagó). En ese mismo día el resto de las vaquillonas (Grupo 7 d) recibió un Triu-B junto con 2 mg de EB (Bioestrogen, Biogénesis-Bagó) y la misma dosis de PGF. En el Día 14 se retiraron los Triu-B a todas las vaquillonas y se inyectó una segunda dosis de PGF (75 µg de D(+)-cloprostenol). En el Día 15 se inyectó 1 mg de EB y todas las vaquillonas fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirado el dispositivo. Se realizó el diagnóstico de preñez por US a los 35 días de la IATF. Las proporciones fueron comparadas por medio de regresión logística teniendo en cuentas variables como grupos de tratamiento, inseminador y semen. No se encontraron efectos del semen utilizado ( $P=0,7$ ) ni inseminador ( $P=0,2$ ). Sin embargo, se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en las vaquillonas del Grupo 7 d, respecto a las vaquillonas del Grupo 14 d ( $P=0,008$ ; Tabla 7). Por lo tanto no se consiguió mejorar la preñez con el programa por 14 días en vaquillonas cíclicas. Por lo tanto este protocolo debería ser evaluado en vaquillonas prepuberes.

**Tabla 7.** Porcentajes de preñez en vaquillonas cruza cebú x Bonsmara, tratadas con dispositivos intravaginales Triu-B por 7 o 14 días e IATF.

	TOTAL	PREÑADAS	%
<b>14 Días</b>	183	83	45,36 <sup>a</sup>
<b>7 Días</b>	171	100	58,48 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Superíndices diferentes en la misma columna difieren (P=0,008)

### INFLUENCIA DEL DIÁMETRO UTERINO, TAMAÑO DE LOS OVARIOS Y ESTRUCTURAS OVÁRICAS SOBRE LA FERTILIDAD EN VAQUILLONAS CRUZA CEBÚ INSEMINADAS A TIEMPO FIJO

Para seguir estudiando más sobre las posibles causas de variabilidad en las tasas de preñez con vaquillonas, se realizó un experimento (Cutaia et al., 2006b) con el objetivo de evaluar la influencia de diferentes características del tracto reproductivo en vaquillonas de 15 meses de edad en el momento de iniciar un programa de IATF. Las vaquillonas (n=107) utilizadas fueron cruza cebú con Bonsmara, con una CC de entre 3,0 a 3,5 y con un peso de entre 320 a 360 kg. En el Día 0, todas las vaquillonas fueron examinadas por US (Chison Vet 500, Trasdutor de 5 Mhz) para determinar el diámetro promedio de los cuernos uterinos (inmediatamente craneal a la bifurcación), la media del tamaño de los ovarios (ancho por alto/2) y la presencia de estructuras ováricas [CL, Folículos > 8 mm de diámetro (Fol.) o solamente folículos pequeños (SE, < 8 mm de diámetro)]. El diámetro de los cuernos fue clasificado como 1 (<1cm); 2 (≥1 y < 1,5 cm) y 3 (≥1,5 cm). Los ovarios fueron también clasificados como 1 (<1cm); 2 (≥1 y < 1,5 cm) y 3 (≥1,5 cm). Todas las vaquillonas recibieron 2 mg de EB y un DIB nuevo en el Día 0, 150 µg de D (+) cloprostenol i.m. en el momento de retirado el DIB (Día 8); 1 mg EB i.m. en el Día 9 y fueron IATF con semen congelado del mismo toro entre las 52 e 56 h de retirado el DIB. Se determinó la tasa de preñez por medio de ultrasonografía a los 30 días de la IATF. De las 107 vaquillonas examinadas, 15 (14,0%) fueron clasificadas como útero Grado 1, 69 (64,4%) como útero grado 2 y 23 (21,5%) como útero Grado 3. La distribución del tamaño de los ovarios fue: ovario Grado 1: 3 (2,8%); ovario Grado 2: 30 (28,0%) y ovario Grado 3: 74 (69,1%). La distribución por estructuras ováricas fue; CL: 68 (63,5%); Fol.: 31 (28,9%) y SE: 8 (7,4%). Se encontró una tendencia a mayor tasa de preñez (P=0,08) en las vaquillonas clasificadas como Útero Grado 3 (12/23; 52,2%) que aquellas clasificadas como útero grado 1 (5/15; 33,3%) o 2 (22/69; 31,9%). No hubo diferencias (P>0,1) entre las tasas de preñez en las vaquillonas con ovario Grado 1 (1/3; 33,3%), 2 (11/30; 36,7%) o 3 (27/74; 36,5%). No hubo diferencia (P>0,1) entre las vaquillonas que presentaron CL (24/68; 35,3%), Fol. (11/31; 35,5%) o SE (4/8; 50,0%). Considerando solamente las vaquillonas que presentaron un CL, las tasas de preñez fueron mayores (P=0,01) en las

vaquillonas con útero grado 3 (11/18; 61,1%) que aquellas con útero Grado 2 (13/45; 28,9%) o 1 (0/5; 0,0 %). Si bien estos datos son preliminares, estarían indicando que hay que tener en cuenta otros factores aparte de la presencia o ausencia de CL para indicar la madurez de vaquillonas de 15 meses y poder determinar la inclusión de las vaquillonas a un programa de IATF.

## SINCRONIZACIÓN Y RE-SINCRONIZACIÓN A TIEMPO FIJO EN VAQUILLONAS

Los protocolos que se basan en el uso de dispositivos intravaginales con progesterona para sincronizar los retornos al celo nos permiten disminuir los días de trabajo en la IA, pero dependemos directamente de la tasa de detección de celos para obtener resultados aceptables. Por esto es que se comenzó a trabajar en programas de inseminación que nos permitan re inseminar a las vacas vacías, sin depender de la detección de celo.

Se diseñó un experimento para evaluar los porcentajes de preñez utilizando dispositivos intravaginales con diferentes concentraciones de progesterona (Triu-B o Triu-B Monodosis) en protocolos de sincronización y resincronización de la ovulación e IATF (Chesta et al., 2006, datos no publicados). Se utilizaron 193 vaquillonas Brangus y Braford, con una CC promedio de 3. En el Día -9 se realizó palpación rectal para determinar el status ovárico (sólo se seleccionaron vaquillonas con CL o folículos > 8 mm de diámetro) y, según éste, dividir a los animales para recibir un dispositivo intravaginal Triu-B o un Triu-B Monodosis. Además, se les aplicó a todos los animales 2 mg de EB i.m. en el momento de la inserción del Triu-B. En el Día -2 se realizó el retiro de los dispositivos y la aplicación de 150 µg de D (+) cloprostenol i.m. En el Día -1 se inyectó 1 mg de EB y se realizó la IATF (Día 0) entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. En el Día 16, se realizó la reinsertión de los mismos dispositivos intravaginales utilizados en la IATF. En el Día 22, se retiraron los dispositivos y se les aplicó 0,0105 mg de acetato de buserelina. En el Día 28, se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía, con un ecógrafo equipado con un transductor de 8 MHz (100 Falco Vet., Pie Medical, Holanda). Las vaquillonas que resultaron vacías recibieron en el Día 29, 150 µg de D (+) cloprostenol i.m., 24 h más tarde se les aplicó 1 mg de EB y se realizó la re-IATF entre las 28 y 32 h del EB. A estos animales re-inseminados se les realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía 30 días más tarde. Se observó un efecto significativo según el toro utilizado sobre las tasas de preñez (P=0,036), esto lo adjudicamos a que uno de los toros (toro B) no cumplía con el mínimo de espermatozoides normales (<70 %). Debido a que no se encontró interacción toro-dispositivo se evaluó el efecto dispositivo. No se observó efecto del dispositivo cuando se evaluaron los porcentajes de preñez a la IATF (Tabla 8). Los resultados demuestran que se pueden obtener altas tasas de preñez con dos IATF en vaquillonas.

**Tabla 8.** Porcentajes de preñez a la IATF en vaquillonas Brangus y Braford según el dispositivo utilizado.

	<b>Triu-B (1 g de P4)</b>	<b>Triu-B Monodosis (0,53 g de P4)</b>
Primera IATF	49,0 % (48/98)	49,5 % (47/95)
Re-IATF	53,3 % (24/45)	39,0 % (16/41)

<b>TOTAL</b>	72/98 (73,5%)	63/95 (66,3%)
--------------	------------------	------------------

Las tasas de preñez no difieren ( $P>0,1$ ).

## CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados presentados en este trabajo indican que la inducción de una luteólisis temprana con un tratamiento de PGF en el Día 0 del tratamiento podría ser una alternativa de tratamiento para vaquillonas tratadas con dispositivos con progesterona. Si bien los resultados fueron positivos en algunos experimentos y no hubo diferencias significativas en otros, en ningún caso se reportó una disminución de preñez por el uso de un agente luteolítico en el inicio del tratamiento en vaquillonas tratados con dispositivos nuevos. Esta idea confirmaría la noción de que los mayores niveles de progesterona afectan los resultados. Sin embargo, los niveles demasiado bajos también pueden afectar adversamente los resultados.

Con respecto a las vaquillonas prepúberes, los resultados sugieren que la GnRH como inductor de ovulación y la eCG administrada al momento de retirado el progestágeno resulta en mayores tasas de preñez que las obtenidas con el tratamiento convencional utilizando EB en vaquillonas prepúberes. Sin embargo no se encontraron los mismos resultados en vaquillonas cíclicas y de más 20 meses de edad.

Indudablemente quedan aún muchos cabos sueltos sobre los protocolos a implementar en vaquillonas y sus posibles resultados, por lo que es necesario seguir avanzando en la generación de mas información al respecto, estudiando no solo los factores estrictamente relacionados con los tratamientos hormonales, si no otros signos de desarrollo y madurez sexual que nos permitan tener una mayor predicción de los resultados.

## REFERENCIAS

1. Baruselli PS, Marques MO, Reis EL, Bó GA. 2003. Tratamientos hormonales para mejorar la performance reproductiva de vacas de cría en anestro en condiciones tropicales. Resúmenes V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba, 27 al 29 de junio de 2003; 103-116.
2. Baruselli PS, Bó GA, Reis EL, Marques MO, Sá Filho F. 2005. Introducao da IATF no manejo reproductivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. 6° Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina- 24 al 26 de junio de 2005; 151-176.
3. Bó GA, Cutaia L, Balla E, Moreno D, Aviles M, Bertero F. 2004. Follicular wave emergente and ovulation in beef cattle trated with PGF at device insertion and renoval of a new or used progesterone vaginal device. International Congress on Animal Reproduccion, Porto Seguro, Bahia, Brasil, Agosto de 2004; 110.
4. Bó GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Avilés M., Menchaca A, Veneranda G, Baruselli PS. 2005 Implementación de Programas de Inseminación Artificial a

Tiempo Fijo en Rodeos de Cría de Argentina. 6° Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, 24 al 26 de junio de 2005; 97-128.

5. Cutaia L, Veneranda G, Tríbulo R, Baruselli PS, Bó GA. 2003. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. 5° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba. 27 al 29 de junio de 2003; 119-132.
6. Cutaia L., Chesta P., Moreno D., Aviles M., Bertero F., Bo GA. 2004. Effect of PGF and estradiol benzoate administration on follicular wave emergence and ovulation in beef cattle treated with progesterone vaginal devices. 15 International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Bahia, Brasil, Agosto de 2004; 111.
7. Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Bó GA. 2007 Effect of time of prostaglandin F2 $\alpha$  administration on pregnancy rates in *Bos indicus* cross-bred heifers treated with progesterone vaginal devices and inseminated at a fixed time. En: Reproduction in Domestic Ruminants VI, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press; 519.
8. Cutaia L., Peres L., Pincinato D., Bo G.A. 2006. Influence of uterine diameter, ovarian size and ovarian structures on fertility in 15 month old cross-bred Bonsmara heifers inseminated at Fixed-Time. *Acta Scientiae Veterinariae* 34 (Supl 1):387.
9. Menchaca A., Vilariño M., Ibarra D. 2006. GnRH and eCG associated with a progesterone treatment increase pregnancy rate after FTAI in prepubertal heifers. En: Reproduction in Domestic Ruminants VI, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press: 514.
10. Moreno D, Cutaia L, Tríbulo H, Tríbulo R, Villata ML, Caccia M, Bó G.A. 2002. Effect of the Time of Prostaglandin Administration on Pregnancy Rates in Embryo Recipients Treated With Progesterone Vaginal Devices and Transferred Without Estrus Detection. *Theriogenology* 57: 552.
11. Pincinato D, Cutaia L, Peres LC, Bó GA. 2007. Effect of progesterone content in a vaginal insert on pregnancy rates in *Bos indicus* cross-bred beef heifers inseminated at a fixed time. En: Reproduction in Domestic Ruminants VI, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press: 518.





---

**EL IMPACTO DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (BVD)  
SOBRE EL RESULTADO DEL USO DE BIOTECNOLOGÍAS  
REPRODUCTIVAS EN RODEOS LECHEROS Y DE CARNE**

---

**M. R. McGOWAN<sup>1</sup> y P.D KIRKLAND<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidad de Queensland, Facultad de Ciencias Veterinarias, Brisbane, Qld 4072, Australia

<sup>2</sup> Elizabeth Macarthur Agricultural Institute, PMB 8 Camden, NSW 2570, Australia

## **INTRODUCCIÓN**

Durante los últimos 30 años, nuestro conocimiento y entendimiento acerca del impacto de la BVD sobre los resultados en la fertilidad y producción del ganado infectado ha aumentado significativamente. La BVD es un pestivirus con una capacidad demostrada de infectar los tejidos del tracto reproductivo de machos y hembras y en algunos casos la infección persiste por periodos prolongados a pesar de los altos niveles de anticuerpos neutralizantes en circulación (Kirkland *et al*, 1997). En todo el mundo, la mayoría de las infecciones de la BVD en animales en reproducción es con el biotipo no citopático. La infección de las hembras en reproducción con BVD citopática es muy poco frecuente y es posible que ocurra principalmente cuando las hembras susceptibles entran en contacto con animales infectados con la enfermedad de las mucosas.

Un informe de Kirkland *et al* (1990) muestra claramente el efecto devastador de la introducción inadvertida de un animal infectado persistentemente (PI) con BVD sobre el resultado del uso de la tecnología de la reproducción en un rodeo de carne. Aunque en este caso hubo pérdidas gestacionales insignificantes, con 86 vacas que dieron a luz a 76 terneros clínicamente normales, después del destete hubo un gran brote de una enfermedad respiratoria y mucosa infecciosa grave y de los 31 terneros afectados, el 58 % murió. Se demostró que once terneros estaban PI con BVD, lo que confirma que la infección transplacentaria con BVD había ocurrido entre los días 25 y 125 en las madres de estos terneros. La infección con BVD de hembras reproductoras susceptibles ha mostrado un efecto adverso sobre el desarrollo folicular preovulatorio, la supervivencia embrionaria y el desarrollo del feto (McGowan and Kirkland, 1995). El propósito de este trabajo es revisar el impacto de la infección con BVD en los resultados de fertilidad *in-vivo* e *in Vitro* en el ganado y detallar las estrategias para minimizar el riesgo de la infección cuando se utilizan tecnologías de reproducción asistida. Se recomienda a los lectores, un

artículo reciente de Givens y Waldrop, (2004) quienes revisaron específicamente el impacto de la BVD en los sistemas de producción de embriones *in Vitro*.

### **EFFECTO DE LA INFECCIÓN CON EL VIRUS DE BVD EN LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS IN VIVO E IN VITRO**

A fines de 1970, los investigadores de la Universidad de Minnesota informaron que las vacas que recibían una infusión intrauterina de BVD en el momento de la inseminación artificial (IA) tenían menos concepción que el ganado que no estaba infectado (Archbald & Zemjanis, 1977). Antes de la publicación de estos descubrimientos, la infección con BVD en el ganado era reconocida principalmente como causa de la enfermedad de las mucosas (Pritchard, 1963), pero también se había informado que estaba asociada con abortos, mortinatos y malformaciones congénitas (Kahrs *et al.*, 1970; Kendrick, 1971).

#### *(i) Infección antes de la inseminación*

Cuando se infectaba a las vaquillonas susceptibles intranasalmente con virus de BVD no citopática, de una vaca PI 9 días antes de la inseminación (McGowan *et al.*, 1993), las vaquillonas se infectaban 6 días antes e incluso el día de la IA. La tasa de concepción, (determinada el día 20 después de la inseminación) de las vaquillonas infectadas 9 días antes de la inseminación (44 %) era considerablemente más baja que la tasa de concepción de un grupo similar de vaquillonas no infectadas (79 %). La supervivencia embrionaria y de los fetos posterior al día 20 en las vaquillonas infectadas, era similar a la observada en las vaquillonas no infectadas. En el parto, ninguno los terneros de las vaquillonas infectadas se infectó (seronegativo, no virémico) y se desarrollaron normalmente.

Se han realizado una serie de experimentos para examinar la patogénesis de pérdidas reproductivas asociadas con la infección del virus de la BVD durante el periodo preovulatorio inmediato (Kafi *et al.*, 1997 y McGowan *et al.*, 2003). Las vaquillonas Holstein y la vacas Jersey superovuladas fueron infectadas con BVD no citopático nueve días antes de la IA. Coherentemente en ambos estudios las vaquillonas infectadas mostraron un comportamiento de celo menos evidente, tenían una cantidad media de folículos preovulatorios inferior, detectada por ecografía el día de IA, y una proporción inferior de estos folículos ovularon; en comparación con las vaquillonas no infectadas. Además, la cantidad media de los ovocitos/embriones y la cantidad media de los embriones de calidad transferible recuperados de las vaquillonas infectadas era significativamente más baja (se redujo aproximadamente el 90 %) que la que se recuperó de las vaquillonas no infectadas; y los descubrimientos en las vacas infectadas en comparación con las vacas no infectadas eran similares a los que se observaron en las vaquillonas. La causa de esta reducción en la respuesta superovulatoria observada en las hembras infectadas con virus de BVD; se determinó examinando perfiles periovulatorios de las hormonas hipofisarias y ováricas y la histología del tejido ovárico. Se observó una gama de alteraciones en el perfil hormonal preovulatorio de las hembras infectadas con virus de BVD; algunas tenían una ausencia total de picos de estradiol y de hormona luteinizante, otras marcaron concentraciones inferiores de estas hormonas y otras demoraron el momento del pico preovulatorio en comparación con las hembras no infectadas. No hubo diferencias entre las hembras infectadas y las no infectadas en las concentraciones periovulatorias de cortisol plasmático circulante. Sin embargo, el análisis histológico de los ovarios de las vacas infectadas en los días 2 y 8 después de la IA reveló una leve inflamación en los ovarios con una necrosis variable de la capa de células granulosa de los folículos no ovulados y degeneración de cuerpos hemorrágicos/lúteos. Se puede concluir de estos descubrimientos que la infección con BVD durante el periodo preovulatorio puede inhibir o demorar la ovulación debido al daño directo de los folículos preovulatorios y puede reducir la tasa de fertilización debido a las alteraciones en la maduración de los ovocitos, causada por un ambiente folicular

anormal. Además, es interesante considerar que no todos los folículos o cuerpos lúteos de los ovarios de hembras infectadas estaban infectados y pocas hembras infectadas tenían perfiles hormonales preovulatorios normales y que se recuperaron embriones de calidad transferibles de estas hembras, de acuerdo con los descubrimientos del estudio original de McGowan *et al*, 1993. Esta variación en el resultado de la fertilidad de hembras infectadas está sujeta a investigación continua en la Universidad de Queensland.

Aunque existe la seroconversión del ganado entre 2 y 3 semanas después de la infección con BVD, hay evidencia de que la infección puede persistir en los ovarios afectando potencial y adversamente la función ovárica durante algún tiempo después de que el virus ha sido eliminado de la circulación periférica. Sentongo *et al.* (1980) y Grooms *et al* (1998) han demostrado de forma similar, evidencia de inflamación en los ovarios entre la semana 1 y 9 después de la infección experimental de BVD en hembras susceptibles.

Debido a la alta prevalencia, tanto en rodeos como animales, de la infección con BVD en la mayoría de los países que producen ganado en el mundo, hay al menos un riesgo moderado de contaminación con BVD en los sistemas de producción embrionaria *in vitro* que surgen de la recolección de ovocitos de los ovarios de ganado infectado temporalmente o PI. La recolección inadvertida de complejos cúmulo-ovocitos de ganado PI representa el mayor riesgo, debido a la gran cantidad de virus en el fluido folicular y en las células del cúmulo (cantidad que es más baja en el ganado infectado temporalmente). La prevalencia de ganado PI en el matadero varía de acuerdo con la edad del ganado, pero se estima que es de 1 en 200. Además, se ha informado que los ovocitos de animales PI tienen antígenos del virus de BVD dentro del citoplasma (Brownlie *et al*, 1997). Sin embargo, no se ha determinado si estos ovocitos infectados son competentes en su desarrollo. Kafi *et al* (2002) informó que los ovocitos inmaduros cultivados en presencia de BVD (con títulos similares a los que se encuentran en el fluido folicular del ganado infectado temporalmente) tenían menos posibilidad de madurar normalmente en comparación con los que se cultivaron en un medio confirmado como libre de BVD, aunque no había una diferencia importante entre los dos grupos en la proporción de ovocitos que habían madurado después de 24 horas de cultivo. Generalmente, se cree que la zona pelúcida de los ovocitos y embriones es una barrera efectiva contra las infecciones virales. Sin embargo, según los descubrimientos de Vanroose *et al* (1999), la adhesión de BVD a la capa de glicoproteína de la zona pelúcida puede alterar el intercambio de nutrientes y metabolitos.

(ii) *Inseminación de bovinos con semen que contiene pestivirus bovino.*

El semen de un toro infectado persistentemente contiene altas cantidades de BVD (Barlow *et al.*, 1986; Kirkland *et al.*, 1991). La inseminación de hembras con semen de un toro PI siempre produce la infección de las hembras (Revell *et al.*, 1988; Kirkland *et al.*, 1994). La fertilidad de toros PI es bastante variable. Muchos toros PI no son fértiles o producen semen de mala calidad (McClurkin *et al.*, 1979; Barlow *et al.*, 1986; Revell *et al.*, 1988) mientras que otros tienen un semen de calidad aparentemente normal según evaluaciones de laboratorio (Meyling & Jensen, 1988; Wentink *et al.*, 1989; Kirkland *et al.*, 1994). Hay informes de tasas altas de concepción de toros PI (Meyling & Jensen, 1988; Wentink *et al.*, 1989), pero también hay una cantidad similar de casos con la experiencia contraria (McClurkin *et al.*, 1979; Paton *et al.*, 1990; Kirkland *et al.*, 1994). Cuando se congeló el semen de un toro PI y luego se lo utilizó para IA, la tasa de concepción del primer servicio fue de 38 %, aunque el semen había sido evaluado como de calidad satisfactoria (Kirkland *et al.*, 1994). Debido a que se determinó la tasa de concepción en vacas inmunes y susceptibles, se cree que probablemente el virus tuvo un efecto directo sobre la fertilización.

Estos resultados son coherentes con los estudios que informan sobre la falla en la fertilización después de la infusión de pestivirus bovino en el útero en el momento de la IA (Grahn *et al.*, 1984). Guerin *et al.* (1992), informaron que el uso de semen de un toro infectado persistentemente para fertilización *in vitro* de ovocitos madurados *in vitro*, produce una reducción importante en la tasa de fertilización y desarrollo embrionario, en comparación con el uso de semen de un toro libre de pestivirus.

Además de la pérdida reproductiva inmediata asociada con la tasa de concepción más baja, pocos terneros PI han sido engendrados por toros PI (Meyling & Jensen, 1988; Kirkland *et al.*, 1994a). El nacimiento de un ternero PI en un rodeo puede producir una infección generalizada y una disminución importante en el desarrollo reproductivo del rodeo.

A diferencia de la IA con semen de un toro PI con el que casi todas las vacas susceptibles se infectaron, hay una incidencia muy baja (5 %, n=60) de infección materna cuando se inseminan vaquillonas seronegativas con semen de un toro infectado temporalmente y la tasa de concepción es normal (Kirkland *et al.*, 1997). Sin embargo, Kirkland *et al.* (1997) pidieron aislar el virus de BVD de los tractos reproductivos de dos vaquillonas infectadas que no estaban preñadas 43 días después de la IA; y es posible que la excreción de los virus de la BVD en el mucus uterocervical de estas vaquillonas cuando entraban en celo haya sido el responsable del ciclo secundario de transmisión del virus de BVD observado en este estudio, que resultó en una infección transplacentaria del feto de varias vaquillonas con preñez temprana.

Recientemente, se ha mostrado que algunas veces, después de la infección transitoria se puede desarrollar una infección persistente localizada en los testículos. Los toros infectados son no virémicos y seropositivos porque aparentemente, la barrera testicular evita la eliminación de la BVD desde los testículos. Se ha mostrado que la IA con semen de estos toros induce la infección en hembras susceptibles. Es posible que la prevalencia de estos toros sea extremadamente baja.

El impacto de la BVD observado en la fertilización *in vitro* (FIV) ha sido variable (Stringfellow y Givens, 2000). Kafi *et al.* (2002) informaron que la proporción de ovocitos madurados *in vitro* con dos pronúcleos distintos después de 24 horas, fue significativamente más baja en las gotas de los medios de fertilización con virus de BVD en comparación con las gotas libres de virus de BVD. Se requiere más investigación para clarificar si la incidencia reducida de la formación pronuclear masculina se debe al efecto directo de la BVD en el posicionamiento final de los orgánulos citoplasmáticos en el ovocito y/o debido a la función espermática alterada.

### (iii) *Infección durante el periodo embrionario temprano: Días 1-24 de gestación*

Hay una cantidad de informes (Roeder & Drew, 1984; Virakul *et al.*, 1988; McGowan *et al.*, 1993) de tasas de concepción reducidas asociadas con la infección de BVD en el momento del servicio o durante las primeras 3-4 semanas después del servicio. En un informe sobre el norte de Australia, McGowan *et al.* (1992) observó una tasa de preñez significativamente baja (24 %) en vaquillonas de carne (*Bos indicus* x *Bos taurus*) infectadas con BVD en el momento de la IA en comparación con la tasa de preñez (44 %) de vaquillonas seropositivas en el momento de la IA. Este informe muestra claramente que las situaciones que estimulan la mezcla y el contacto cercano entre el ganado (por ejemplo, repetición de tratamientos hormonales para sincronizar el celo) pueden producir un grupo de infectados alrededor del momento de la IA. Cuando los cigotos producidos *in vitro* fueron cultivados durante 72 horas en medios que contenían BVD no citopática, la proporción que se desarrolló en la etapa mórula/blastocisto era

significativamente más baja que los cultivados en medios que estaban libres de BVD (22 % y 61 %, respectivamente; Kafi *et al.*, 2002). Se postula nuevamente que la unión de BVD a la zona pelúcida afecta adversamente la nutrición del embrión en desarrollo.

Cuando las vaquillonas seronegativas (McGowan *et al.*, 1993) se infectaron naturalmente 4 días después de la inseminación (las vaquillonas estaban virémicas entre 8 y 17 días después de la inseminación, es decir, durante el periodo en el cual el blastocisto eclosiona de la zona pelúcida y comienza la elongación), la tasa de concepción (determinada el día 20 de la inseminación) fue inferior a la del grupo de control no infectado (infectadas 60 %, no infectadas 79 %) y la tasa de preñez de las vaquillonas infectadas (determinada en el día 77 después de la inseminación) fue significativamente inferior a la tasa de preñez de las vaquillonas no infectadas (infectadas 33 %, no infectadas 79 %). En este estudio, hubo una pérdida progresiva de los conceptus entre 20 y 27 días después de la inseminación en las vaquillonas infectadas, lo que produjo una tasa de pérdida embrionaria-fetal significativamente superior que la de las vaquillonas no infectadas (infectadas 44 %, no infectadas 9 %). Sin embargo, es importante tener en cuenta que en algunas vaquillonas infectadas, los conceptus aparentemente no se infectaron (confirmado por el nacimiento de un ternero no virémico), a pesar del hecho de que las vaquillonas tenían una carga viral de la misma magnitud que las que produjeron una pérdida embrionaria-fetal. Cuando las vaquillonas seronegativas se infectaron 4 días después de la inseminación, se aisló el virus de BVD de los fetos degenerados (los fetos mostraron evidencia de retraso de crecimiento intrauterino) de las vacas enviadas a matadero aproximadamente 6 semanas después de la inseminación (Kirkland *et al.*, 1993). No se aisló ningún virus del útero o feto de vacas infectadas que tenían un feto normalmente desarrollado en el momento de la faena.

Cuando las vacas superovuladas recibieron pestivirus bovino 7 días después de la inseminación, los embriones recuperados 3 días después mostraron evidencia de desarrollo retardado y se concluyó que el virus había infectado directamente al embrión (Archbald *et al.*, 1979). En un estudio *in vitro*, Brock y Stringfellow (1993) mostraron que la infección de los blastocistos después de la incubación con el pestivirus citopático puede causar la muerte del embrión, pero la infección de los embriones en la etapa similar con virus no citopáticos no afectó la tasa de expansión de blastocistos a pesar de la réplica de la cepa no citopática en los blastocistos incubados. Estos resultados difieren de los descubrimientos de Bielanski y Hare (1988). Sin embargo, es probable que los efectos de la BVD no citopática en el embrión no se vean durante algún tiempo, aún después de muchas semanas posteriores a la infección (McGowan *et al.*, 1993). También es posible que exista una variación entre las cepas de virus de BVD con respecto a su habilidad para infectar a los blastocistos después de la incubación.

Aunque la mayoría del ganado PI murió durante los primeros 2 años de vida, algunos animales sobrevivieron y son aparentemente normales y se pueden seleccionar como reemplazo de hembras en los rodeos lecheros y de carne. McClurkin *et al.* (1979) informaron una tasa de concepción inferior en las vacas PI. Los terneros de las vacas PI también estaban PI y si permanecían en un rodeo podía provocar la formación de una familia de animales PI portadores (Littlejohns, 1985). Se ha mostrado (Bak *et al.*, 1992) que es posible eliminar, a través de lavado repetido *in vitro*, el virus que se adhiere a los embriones recuperados de los animales donantes PI y la transferencia de esos embriones lavados produce el nacimiento de terneros normales, no infectados.

(iv) *Infección durante el periodo embrionario avanzado: Días 25-90 de gestación*

Generalmente, se acepta que casi todos los terneros que sobreviven a la infección entre los días 25-90 de gestación son PI (Liess *et al.*, 1984; Duffell & Harkness, 1985) pero después de ese periodo, la incidencia disminuye. Cuando la infección de pestivirus bovino ocurrió a los 100 días de gestación, 67 % de los terneros nacidos eran PI y pocos casos ocurrieron a los 125 días de gestación (Liess *et al.*, 1984; Duffell & Harkness, 1985). Recientemente, Kirkland *et al.* (1993) informaron que la incidencia de la infección fetal con virus de BVD aumentó de 86 % después de la infección el día 18 después de la IA al 100 %, después de la infección entre 30 y 34 días después de la IA. Se sugiere que la eficiencia de la infección fetal, y finalmente el nacimiento de terneros PI, está influenciada por factores fetales y/o maternos que cambian entre la concepción y el día 30. Las malformaciones congénitas asociadas con la infección durante el primer trimestre han sido descritas por Kendrick (1971) y Liess *et al.* 1984.

La infección transplacentaria del feto puede causar la muerte del feto y la consiguiente expulsión de un feto autolizado y membranas fetales (porque la muerte fetal ocurre generalmente varias semanas antes) o el desarrollo de un feto momificado. Después de la infección experimental (Done *et al.*, 1980; Duffell *et al.*, 1984) a aproximadamente 100-120 días de la gestación, se observó abortos a los 30-50 días de la infección. Se ha informado una tasa de abortos entre 19-40 % en varios estudios experimentales (Done *et al.*, 1980; Liess *et al.*, 1984; Duffell *et al.*, 1984) y en una investigación de campo (Roeder *et al.*, 1986) de infección con BVD informó una tasa de abortos de 21 %. Las cepas individuales de virus de BVD varían probablemente en su potencial de aborto. Además, en estudios experimentales (Done *et al.*, 1980) y de campo (Doherty, 1986; Reuter *et al.*, 1987) de infección con BVD durante el primer trimestre, hubo informes de una incidencia superior de mortinatos y nacimientos prematuros y, en algunas instancias, hasta un mes antes de término.

## **ESTRATEGIAS PARA MINIMIZAR EL RIEGO DE INFECCIÓN CON VIRUS DE BVD EN BOVINOS SUSCEPTIBLES O EN GAMETOS Y EMBRIONES**

Se recomienda a los lectores, el siguiente sitio web desarrollado por el Australian BVDV Technical Advisory Group – [www.bvdaustralia.com.au](http://www.bvdaustralia.com.au).

Para minimizar el riesgo de que la infección con BVD afecte adversamente el resultado de las tecnologías de reproducción asistida, se deben considerar las siguientes estrategias:

1. Por lo menos 3 meses antes del comienzo del programa de inseminación artificial, evaluar la proporción de hembras susceptibles a la infección con BVD y el riesgo de las infecciones que ocurren durante y después de la puesta en marcha del programa. Esto se puede hacer fácilmente recolectando suero de entre 20 y 30 animales para la serología de BVD. Se prefiere la prueba de inmunodifusión de gel en agar para precipitar los anticuerpos porque permite la determinación de la proporción de las hembras seronegativas en el grupo/manada y basándose en la magnitud de la reacción de la prueba, la posibilidad de que un animal PI esté presente en el grupo. Además, se debe evaluar la posibilidad de contacto con otros bovinos.
2. Si el grupo/manada seleccionado tiene una alta proporción de animales seronegativos (susceptibles) y el riesgo de contacto con una fuente de BVD se considera alto, se debe considerar la implementación de un programa de vacunación con una vacuna de eficacia demostrada para la prevención de la infección transplacentaria.

3. Utilizar solamente semen congelado producido por toros que se ha probado que no están infectados con BVD. Se debe controlar los protocolos utilizados para verificar la ausencia de la infección con BVD antes de utilizar el semen. Se debe evaluar las muestras de sangre y los tejidos de los toros donantes utilizando una captura de antígenos por ELISA o PCR para identificar toros PI e infectados temporalmente. La mayoría de los centros comerciales de IA tienen estos protocolos de prueba, por lo tanto, el riesgo principal del semen infectado con BVD proviene del uso de semen de toros colectado y congelado en un establecimiento. Los pocos toros no virémicos pero que tienen una infección persistente de los testículos, solamente se pueden identificar realizando un aislamiento del virus o PCR de las muestras de semen. Un enfoque alternativo es la inoculación intravenosa de semen en terneros seronegativos no virémicos y posterior control de la evidencia de seroconversión. Además, el semen congelado de donantes que no tienen BVD no se debe almacenar con el semen de los donantes con estado de BVD desconocido o donantes infectados por el riesgo potencial de contaminación del nitrógeno líquido con BVD.
4. Se debe confirmar que las donantes de ovocitos y embriones no estén infectadas con BVD. Se debe utilizar el mismo protocolo de prueba que para los toros donantes. Se deben evaluar las hembras receptoras con el protocolo descrito en el punto 1. Cuando se detecte evidencia de una infección reciente, se deben extraer muestras de todas las receptoras potenciales con respecto a los toros donantes para permitir el descarte de hembras PI e infectadas temporalmente. Debido a los costos relativamente altos de la realización de programas de transferencia embrionaria y a que la progenie está destinada a ser animales de reproducción, además de implementar medidas de bioseguridad estrictas para evitar que donantes y receptoras entren en contacto con un animal PI, se deben vacunar todos los animales como se describe en el punto 2.
5. Se debe confirmar que los componentes derivados de animales de manipulación *in vitro* y medios de cultivo estén libres de BVD.
6. Si los gametos o embriones se recolectan de animales donantes que se sabe que están infectados temporalmente o PI, se debe evaluar la progenie producida (con respecto a los toros donantes) para confirmar que no están infectados con BVD. Se recomienda este enfoque especialmente para embriones producidos *in vitro* de animales infectados o en los que los oocitos se recolectan de mataderos comerciales, como se ha demostrado, el tratamiento de lavado y tripsina no siempre elimina el virus de BVD que cubre la zona pelúcida.
7. Se deben adoptar los procedimientos de laboratorio que minimizan el riesgo de contaminación con virus de BVD en microgotas individuales de medios de cultivo en sistemas de FIV. El enfoque más efectivo es el uso de una punta de pipeta nueva para manipular los gametos/embriones en cada microgota.

## REFERENCIAS

ARCHBALD, L. F., GIBSON, C. D., SCHULTZ, R. H., FAHNING, M. L. & ZEMJANIS, R. (1973). Effects of intrauterine inoculation of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus on uterine tubes and uterus of non-pregnant cows. *American Journal of Veterinary Research* 34, 1133-7.

- ARCHBALD, L. F. & ZEMJANIS, R. Intrauterine infusion of the virus of bovine virus diarrhoea (BVD) and artificial insemination in the cow at the time of estrus. (1977). *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician* 72,221-5.
- ARCHBALD, L. F., FULTON, R. W., SEGER, C. L., AL-BAGDADI, F. & GODKE, R. A (1979). Effects of the bovine viral diarrhoea (BVD) virus on preimplantation bovine embryos: a preliminary study. *Theriogenology* 11, 81-9.
- BAK, A, CALLESEN, A, MEYLING, A & GREVE, T. (1992). Calves born after embryo transfer from donors persistently infected with BVD virus. *Veterinary Record* 131,37.
- BARLOW, R. M., NETTLETON, P. F., GARDINER, A C., GRIEG, A, CAMPBELL, J. R. & BONN, J. M. (1986). Persistent bovine virus diarrhoea virus infection in a bull. *Veterinary Record* 118, 321-4.
- BIELANSKI, A & HAKE, W. C. D. (1988). Effect *in vitro* of bovine viral diarrhoea virus on bovine embryos with the zona pellucida, damaged and removed. *Veterinary Research Communication* 12, 19-24.
- BROCK, K. V. & STRINGFELLOW, D. (1993). Comparative effects of cytopathic and noncytopathic bovine viral diarrhoea virus on bovine blastocysts. *Theriogenology* 39, 196.
- BROWNLIE, J., BOOTH, P. J., STEVENS, D. A & COLLINS, M. E. (1997). Expression of noncytopathogenic bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in oocytes and follicles of persistently infected cattle. *Veterinary Record* 141, 335-337.
- DOHERTY, M. L. (1986). Serious perinatal mortality in cattle associated with bovine virus diarrhoea-mucosal disease (BVD-MD) virus. *Irish Veterinary Journal* 40, 189-90.
- DONE, J. T., TERLECKI, S., RICHARDSON, C. *et al.* (1980). Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: Pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Veterinary Record* 106, 473-9.
- DUFFELL, S. J. & HARKNESS, J. W. (1985). Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Veterinary Record* 117, 240-245.
- DUFFELL, S. J., SHARP, M. W., WINKLER, C. E. *et al.* (1984). Bovine virus diarrhoea mucosal disease virus induced fetopathy in cattle. Efficacy of prophylactic maternal pre-exposure. *Veterinary Record* 114, 558-61.
- GIVENS, M. D. & WALDROP J. G. (2004). Bovine viral diarrhoea virus in embryo and semen production systems. *Veterinary Clinics of North America - Food Animals* 20, 21-38.
- GRAHN, T. C., FAHNING, M. L. & ZEMJANIS, R. (1984). Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185, 429-33.
- GROOMS, D. L., BROCK, K. V. & WARD, L. A. (1998). Detection of bovine viral diarrhoea virus in the ovaries of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 10, 125-129.
- GUERIN, B., ST CHAUFFAUX, MARQUANT LE GUIENNE, B., ALUETTA, M. & THIBIER, M. (1992). IVF and IV culture of bovine embryos using semen from a bull persistently infected with BVD. *Theriogenology* 37, 217.
- KAFI, M., MCGOWAN, M. R., KIRKLAND, P. D. & JILLELIA, D. (1997). The effect of bovine pestivirus infection on the superovulatory response of Friesian heifers. *Theriogenology* 48, 985-96.
- KAFI, M., MCGOWAN, M. R. & KIRKLAND, P. D. (2002). In vitro maturation and fertilization and in vitro culture of presumptive zygotes in the presence of bovine pestivirus. *Animal Reproduction Science* 71, 169-179.
- KAHRS, R. F., SCOTT, F. W. & DELAHUNTA, A. (1970). Epidemiological observations on bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus-induced congenital cerebellar hypoplasia and ocular defects in calves. *Teratology* 3, 181-4.
- KENDRICK, J. W. (1971). Bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. *American Journal of Veterinary Research* 32, 533-44.
- KIRKLAND, P. D., HART, K. G., MOYLE, A & ROGAN, E. (1990). The impact of pestivirus on an artificial breeding program for cattle. *Australian Veterinary Journal* 67, 261-263.



- KIRKLAND, P. D., MCGOWAN, M. R. & MACKINTOSH, S. G. (1993). Factors influencing the development of persistent infection of cattle with pestivirus. In *Proceedings of the 2nd Symposium on Pestiviruses*, ed. S. Edwards, pp. 117-21. Lyon: Fondation Marcel Merieux.
- KIRKLAND, P. D., RICHARDS, S. G., ROTHWELL, J. T. & STANLEY, D. F. (1991). Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *Veterinary Record* 128,587-90.
- KIRKLAND, P. D., MACKINTOSH, S. G. & MOYLE, A. M. (1994). The outcome of widespread use of semen from a bull persistently infected with pestivirus. *Veterinary Record* 135, 527-9.
- KIRKLAND, P. D., MCGOWAN, M. R., MACKINTOSH, S. G. & MOYLE, A. (1997). Insemination of cattle with semen from a bull transiently infected with pestivirus. *Veterinary Record* 140,124-127
- LISS, B., ORBAN, S., FREY, H. R., TRAUTWEIN, G., WIELD, W. & BUNDOW, H. (1984). Studies on transplacental transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle. 11 Inoculation of pregnant cows without detectable neutralizing antibodies to BVD virus 90-229 days before parturition (51st to 190th day of gestation). *Zentralblatt für Veterinärmedizin Bulletin* 31,669-81.
- LITTLEJOHNS, I. R. (1985). Complications to the study of the relationship between bovine lymphocyte antigens and mucosal disease. In *Characterization of the Bovine Immune System and the Genes Regulating Expression of Immunity with Particular Reference to Their Role in Disease Resistance*, eds W. C. Davis, J. N. Shelton & C. W. Weems, pp. 179-90. Pullman: Washington State University.
- MCCLURKIN, A. W., CORIA, M. F. & CUTLIP, R. C. (1979). Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 174, 1116-9.
- MCGOWAN, M. R., KIRKLAND, P. D., RODWELL, B. J., KERR, D. R. & CARROLL, C. L. (1992). A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus infection around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology* 39, 443-9.
- MCGOWAN, M. R., KIRKLAND, P. D., RICHARDS, S. G. & LITTLEJOHNS, I. R. (1993). Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Veterinary Record* 133, 39-43.
- MCGOWAN, M. R. & KIRKLAND, P. D. (1995). Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Veterinary Journal* 151,263-270.
- MCGOWAN, M. R., KAFI, M., KIRKLAND, P. D., KELLY, R., BIELEFELDT-OHMANN, H., DOCCHIO, M. D. & JILLELA, D. (2003). Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 59,1051-1066
- MEYLING, A. & MIKELJENSEN, A. (1988). Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull. *Veterinary Microbiology* 17, 97-105.
- PATON, D. J., BROCKMAN, S. & WOOD, L. (1990). Insemination of susceptible and preimmunized cattle with bovine viral diarrhoea virus infected semen. *British Veterinary Journal* 146,171-4.
- PRITCHARD, W. R. The bovine viral diarrhoea-mucosal disease complex (1963). In *Advances in Veterinary Science*, eds C. A. Brandley & E. L. Jungherr, pp. 1-47. New York: Academic Press.
- REUTER, T., BOWDEN, M., ELLIS, T. & CARMAN, H. (1987). Abortion, stillbirth and illthrift in cattle associated with mucosal disease virus. *Australian Veterinary Journal* 64, 92-3.
- REVELL, S. G., CHASEY, D., DREW, T. W. & EDWARDS, S. (1988). Some observations on the semen of bulls persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Veterinary Record* 123, 122-5.
- ROEDER, P. L. & DREW, R. W. (1984). Mucosal disease of cattle: A late sequel to foetal infection. *Veterinary Record* 114,309-13.
- ROEDER, P. L., JEFFREY, M. & CRANWELL, M. P. (1986). Pestivirus fetopathogenicity in cattle: Changing sequelae with fetal maturation. *Veterinary Record* 118, 44-8.
- SINGH, E. L., EAGLESOME, M. D., THOMAS, F. C., PAPP-VID, G. & HARE, N. C. D. (1982). Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. 1. The *in-vitro* exposure of

- preimplantation embryos to akabane, blue-tongue and bovine viral diarrhoea viruses. *Theriogenology* 17, 437-44
- STRINGFELLOW ,D.A & GIVENS, M.D.(2000). Epidemiologic concerns relative to in vivo and in vitro production of livestock embryos. *Animal Reproduction Science* 60/61,629-642.
- SSENTONGO, Y. K.,JOHNSON, R. H. & SMITH,]. R. (1980). Association of bovine viral diarrhoea mucosal disease virus with ovaritis in cattle. *Australian Veterinary Journal* 56, 272-5.
- VANROOSE, G., NAAUWYNCK, H., VAN SOOM, A., VANOPDENBOSCH, E & DE KRUIF, A. (1999). Effect of bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus on developemnt of invitro-produced bovine embryos. *Molecular Reproductive Development* 54.225-263.
- VIRAKUL, P., FAHNING, M. L.,joo, H. S. & ZEMJANIS, R. (1988). Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology* 29,441-9.
- WENTINK, G. H., REMMEN, L. A. M. & VAN EXSEL, A. C. A. (1989). Pregnancy rate of heifers bred by an immunotolerant bull persistently infected with Bovine Viral Diarrhoea virus. *Veterinary Quarterly* 11, 171-4.



---

**IMPROVING REPRODUCTION USING MORE EFFECTIVE PREGNANCY  
DIAGNOSIS AND RESYNCH STRATEGIES IN DAIRY CATTLE**

---

**Milo C. Wiltbank and Paul M. Fricke**

Department of Dairy Science  
University of Wisconsin-Madison

Achieving reproductive efficiency in a dairy operation is related to many factors. One of the important factors is improving the service rate or heat detection rate. The service rate to the first service can be improved by using a program like Ovsynch. However, any non-pregnant cows must be detected non-pregnant (open), resynchronized or caught in heat, and rebred. Catching these non-pregnant cows requires a good pregnancy diagnosis program. The next 2 sections outline various pregnancy diagnosis procedures and then give an example of how these can be used to improve reproduction on a commercial dairy farm.

## **A. METHODS FOR PREGNANCY DIAGNOSIS**

The major reason that pregnancy diagnosis allows an improvement in reproductive efficiency is that cows that did not become pregnant to the previous AI can be rebred in a more timely fashion. Therefore it should be called open check rather than pregnancy check. It is critical that the cows that are not pregnant be detected and rebred. There are 4 general methods that I will discuss concerning pregnancy diagnosis.

### **Heat Detection**

This is obviously the most common method and many times the most overlooked method for diagnosing pregnancy or more accurately non-pregnancy. An intensive heat detection program can be designed at 18-25 days after AI. This could be done with visual observation combined with chalking of the tail head, tail paint, K-mars, Bovine Beacons, HeatWatch, pedometers, or any other heat detection aids. Intensive heat detection should be an essential part of any heat detection program.

One difficulty in using heat detection for pregnancy diagnosis is that about 5% of cows will show standing heat during pregnancy. Recently an analysis was performed of the Dutch Cattle Syndicate database that includes about 350,000 inseminations. This analysis showed that about 4% of calves were born after a gestation length of less than 262 days and after at least 2 inseminations (Pool and Van der Lende, unpublished observations quoted in Dijkhuizen and van Eerdenburg, 1997). It is very likely that these calvings were from a previous insemination. In addition, 0.16% were probably from 2 inseminations previous to the last one. A study by Williamson et al., 1972 showed that 7.3% of pregnant cows were detected in estrus during the first 21 days after insemination. A recent study evaluated estrus during the first 6 weeks of pregnancy and found that 3.1% of pregnant cows showed standing estrus. In addition, 10.8% of pregnant cows showed multiple secondary signs of estrus (mucous, mounting etc.). Obviously some caution should be exercised if the individual suspects that a cow may be pregnant. Nevertheless, I have seen no clear reports that accidental insemination of pregnant cows with semen that contains antibiotics will cause pregnancy loss.

### **Rectal Palpation**

Palpation of the uterus and ovaries through the rectum of the cow has been used for pregnancy diagnosis for many years. Generally, this can be accurately performed at 40 days or more after breeding. Some individuals can also accurately diagnose pregnancy at an earlier time than 40 days.

Most studies have shown an economic benefit for reducing the time to diagnosis of pregnancy. Ottenacu et al., 1990 showed that earlier pregnancy diagnosis was always more profitable in their economic analysis. For example, pregnancy diagnosis by rectal palpation at 50 days returned \$2.50 per cow; whereas, diagnosis at 65 days only returned \$0.10 per cow. Earlier, accurate pregnancy diagnosis could also yield more per cow.

Thompson et al., 1995 evaluated the reproductive records of 15 U.S. dairy herds for 713 cows that did not calve within 294 days of first-service insemination. They found that if pregnancy diagnosis was done between 30 and 65 days after AI that each day later than 30 days resulted in an increase of 1.09 days in the interval until parturition. Thus, earlier pregnancy diagnosis is extremely critical for cows for reducing the days open in cows that are expected to have long calving intervals.

### Ultrasound

Many individuals now use trans-rectal ultrasound (**US**) for diagnosis of pregnancy. The advantage to this technique is that it is extremely accurate and can be used at earlier time in pregnancy than rectal palpation. Generally pregnancy will be evaluated by US at about 30 days after breeding. It can also be used at earlier times (25-28 days) but is less accurate and requires more experience when earlier times are used (discussed below). In general the use of ultrasound to evaluate pregnancy after 30 days appears to yield a good economic return.

Early pregnancy diagnosis with Ultrasound (US) improves reproductive performance by decreasing the interval between successive AI services and coupling a nonpregnancy diagnosis with an aggressive strategy to rapidly reinseminate these cows (Fricke, 2002). Although it has long been accepted that pregnancy status should be determined in dairy cows as soon as possible after AI, the accuracy of pregnancy diagnosis outcomes determined early after AI are confounded by subsequent pregnancy loss (Studer, 1969; Melrose, 1979). Recent research on the practical implementation of early pregnancy diagnosis using US in a systematic synchronization and resynchronization system has confirmed the notion that pregnancy diagnosis using US can be conducted too early and illustrates the pitfalls and limitations of early pregnancy diagnosis in lactating dairy cows (Fricke et al., 2003). Pregnancy loss diminishes the benefit of early pregnancy diagnosis in two ways. First, because of the high rate of pregnancy loss that occurs early, the magnitude of pregnancy loss detected is greater the earlier after TAI that a positive diagnosis is made. Thus, the earlier that pregnancy is diagnosed after TAI, the fewer nonpregnant cows are identified to which a management strategy can be implemented to resynchronize them. Second and more important, cows diagnosed pregnant earlier after TAI have a greater risk for subsequent pregnancy loss compared to cows diagnosed later after TAI. If left unidentified, cows diagnosed pregnant early after TAI that subsequently lose that pregnancy reduce reproductive efficiency by extending the interval from calving to the conception that results in a full-term pregnancy.

The accuracy of pregnancy outcomes using US after TAI was assessed in a field trial (Silva et al., 2006). Pregnancy examinations were performed by one herd veterinarian throughout the study using US in lactating Holstein cows (n=877) 27 d after first postpartum TAI. Outcomes were categorized as: pregnant (**PG**) = CL, normal uterine fluid, embryo visualized; questionable pregnant 1 (**QP1**) = CL, normal uterine fluid, embryo not visualized; questionable pregnant 2 (**QP2**) = CL, abnormal uterine fluid, embryo not visualized; pregnancy loss (**PL**) = nonviable embryo; nonpregnant (**NP**) = no CL and/or uterine fluid. Outcomes using US were compared to those categorized PG or NP using a pregnancy-associated glycoprotein (**PAG**) ELISA of plasma samples collected at US (Table 1). Outcomes for cows in which US and PAG agreed were considered correct; whereas cows in which outcomes disagreed were rechecked using US 32 d after TAI. These results demonstrate that although agreement between PAG and US at 27 d after TAI was acceptable, US outcomes of QP1, QP2 and PL (23.9% of all US outcomes 27 d after TAI) were less accurate than PG or NP outcomes. Based on these results, early pregnancy diagnosis outcomes using US at Day 27 was less accurate than US at Day 39

**Table 1.** Accuracy of transrectal ultrasonography (US) scanning scores assessed 27 and 39 d after a timed AI (TAI) (adapted from Silva et al., 2006).

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

There are also devices called Doppler Ultrasound Devices that have been advertised to evaluate pregnancy. These devices detect pregnancy by measuring the quantity of blood flow in the uterine artery. They are attractive because they are much less expensive than the real-time B-mode ultrasound devices discussed above (\$2,000 versus \$17,000). Cameron and Malmo, 1993 compared the use of a commercial Doppler ultrasound to rectal palpation. The Doppler ultrasound was accurate in detecting a pregnancy in 93% of pregnant cows but was only 76% accurate in detecting cows that are not pregnant. It should be remembered that the main reason for pregnancy diagnosis is to accurately diagnosis open cows. The authors of this study concluded that "This level of accuracy was found to be insufficient to recommend the probe be used by farmers for the diagnosis of pregnancy"

### Chemical assays for pregnancy.

The most common chemical assays for pregnancy are the milk progesterone assays. These assays are not widely used at this time but are available commercially from a number of different distributors (see review by Nebel, 1988). It is important to realize that these tests are only accurate in the designation of some of the non-pregnant cows. Some non-pregnant cows will still have high progesterone concentrations due to the continued presence of a corpus luteum. A number of studies have evaluated different days post-AI to use the assays but the best day for performance of the milk progesterone assay is still controversial. In one large study (Pennington et al., 1985) it was found that on day 21 after breeding the milk progesterone assay was 97.2% accurate (383/394) in correctly identifying cows as non-pregnant (low progesterone concentration) and was 77.4% accurate (411/531) in correctly identifying cows as pregnant (high progesterone concentration). Thus, a low progesterone concentration was definitely indicative of a non-pregnant cow; however, a high progesterone concentration was only about 80% correct in designating pregnant cows.

Other chemical assays are now available for use on dairy farms. The most frequently utilized technique is to test for pregnancy-specific protein-B (PSPB). PSPB is a pregnancy associated glycoprotein. This can be detected accurately after about Day 28 of pregnancy. Thus, a pregnancy

diagnosis program can be designed using only a blood test for pregnancy. Cows should be >90 days after a previous calving when the blood test for PSPB is performed. This is because PSPB can remain in the blood for about 70-80 days after calving and so testing cows that are close to a previous calving may give you a false result of pregnancy. Pregnancy test that are done earlier than 15 days of pregnancy have been sold but scientific tests have indicated that these tests are not accurate.

## B. USING RESYNCH SYSTEMS TO ALLOW FOR TIMED AI OF NON-PREGNANT COWS

### Introduction

In contrast to grazing-based dairy systems, many confinement-based dairy systems in the U.S. have adopted systematic synchronization protocols and timed artificial insemination (**TAI**) for submitting cows for first postpartum AI service. Although reliance on synchronization of ovulation and TAI for improving service rate to first AI service reduces the impact of poor estrous detection, the improved AI submission rate to first TAI often is followed by a time lag exceeding 60 d before cows failing to conceive are detected and reinseminated. Because conception rates to TAI for dairy cows managed in confinement-based systems in the U.S. are reported to be 40 % or less (Pursley et al., 1997a,b; Fricke et al., 1998; Jobst et al., 2000), 60 % or more of the cows will fail to conceive and therefore require a resynchronization strategy for aggressively initiating subsequent AI services. Methods for early detection of nonpregnancy coupled with hormonal resynchronization systems that program nonpregnant cows to receive subsequent TAI services are now being developed and assessed so that systematic reproductive management programs can be implemented to aggressively manage reproduction. A wide array of reproductive management strategies have been developed to fit the various dairy production systems that are found around the world, and the diversity among these strategies has been reviewed elsewhere (Lucy et al., 2004). Although studies have been conducted to resynchronize behavioral estrus among groups of previously inseminated cows (Chenault et al., 2003), the objective of this review is to overview strategies for resynchronization of ovulation that allow for TAI of cows failing to conceive to a prior AI service.

### Resynch using Ovsynch.

Pursley, Kosorok, and Wiltbank (1997a) were the first to compare a systematic reproductive management strategy without detection of estrus using Ovsynch for first and subsequent TAI services with standard reproductive management based on detection of estrus. Lactating dairy cows (n=333) from three commercial dairies were randomly assigned to receive standard reproductive management consisting of detection of estrus behavior, the AM/PM rule for timing of AI, and periodic use of PGF<sub>2α</sub> (Control) or Ovsynch and TAI without detection of estrus (Ovsynch). Cows assigned to the Ovsynch treatment initiated the first gonadotrophin releasing hormone (**GnRH**) injection of Ovsynch for resynchronization (i.e., **Resynch**) after a not-pregnant diagnosis using transrectal ultrasonography (**US**) 32 d after first postpartum TAI service. Cows remained in their respective treatments until diagnosed pregnant or culled from the herd. Although Ovsynch cows received each respective AI service earlier than Control cows, fertility for the first three AI services was similar between treatments (Table 2). This study demonstrated for the first time that reproductive performance could be improved using Ovsynch without reliance on visual detection of estrus compared to standard reproductive management using detection of estrus.



Table 2. Median days postpartum (PP) at AI and pregnancies per AI (P/AI) in lactating Holstein cows inseminated after a detected estrus (Control) or synchronization of ovulation (Ovsynch) and timed AI (adapted from Pursley et al., 1997a).

Treatment	First AI		Second AI		Third AI	
	PP (d)	P/AI (%)	PP (d)	P/AI (%)	PP (d)	P/AI (%)
Control	83	39	128	45	170	61
Ovsynch	54	37	96	42	140	48
<i>P</i>	<0.001	>0.25	<0.001	>0.15	<0.001	>0.15

You can see in Table 2 that cows in the Ovsynch group were bred earlier at the First AI, Second AI, and Third AI. In contrast, the % pregnant to each AI were not statistically significantly different between cows bred to estrus (Control) and cows bred to Timed AI (Ovsynch). Subsequently dairy producers began to do the GnRH injection prior to the pregnancy diagnosis. For example, Table 3 shows a calendar for a resynchronization program that follows a Presynch/Ovsynch first AI. On Week 11 all cows (pregnant or non-pregnant) are given a GnRH injection. The next week all cows have pregnancy diagnosis performed. This would be 39 days after AI so the pregnancy diagnosis can be accurately done with rectal palpation or ultrasound. Cows that are found to be non-pregnant would be given PGF and continue through the Ovsynch program for Timed AI. This is what has become the classic Resynch program.

Table 3. Synchronization and resynchronization schedule for the D33 Resynch treatment (Fricke et al., 2003).

Sunday	Monday	Tuesday	Wednesday	Thursday	Friday	Saturday
Wk 1		PGF <sup>1</sup>				
Wk 2						
Wk 3		PGF				
Wk 4						
Wk 5		GnRH <sup>2</sup>				
Wk 6		PGF		GnRH	AI	
Wk 7						
Wk 8						
Wk 9						
Wk 10						
Wk 11		GnRH				
Wk 12		PG <sup>3</sup> +PGF <sup>4</sup>		GnRH	AI	

<sup>1</sup>PGF = prostaglandin F<sub>2α</sub>

<sup>2</sup>GnRH = gonadotropin-releasing hormone

<sup>3</sup>PG = pregnancy diagnosis.

<sup>4</sup>PGF only given to cows diagnosed not-pregnant.

*Effect of Timing of Initiation of Resynch after First Postpartum Timed AI on Fertility.*

A field trial was conducted to compare three intervals from first TAI to resynchronization of ovulation on a dairy incorporating US for early pregnancy diagnosis (Fricke et al., 2003). Lactating dairy cows (n=711) on a commercial dairy farm were enrolled into this study after Presynch + Ovsynch and TAI and were randomly assigned to each of three treatment groups for Resynch. All cows (n=235) in the first treatment (Day 19) received a GnRH injection 19 d after TAI and continued the Ovsynch protocol if diagnosed nonpregnant using US 26 d after TAI. Cows (n=240) in the second (Day 26) and cows (n=236) in the third (Day 33) treatments initiated Resynch if diagnosed not-pregnant using US 26 or 33 d after TAI, respectively. Resynch intervals for each of the three treatment groups were chosen to occur on Tuesdays so that injection schedules would remain consistent for all cows assigned to weekly breeding groups at any given time (see Table 3). Overall P/AI to Resynch was 32 % and was greater for D26 and D33 cows than for D19 cows (Table 4). It is clear that the 23% of cows pregnant when Resynch was initiated at Day 19 was much lower than the 34% or 38% values when Resynch was initiated at Day 26 or D33. In addition, the pregnancy exam was done 1 week later in the Day 33 group than in the other 2 groups. There is a great deal of pregnancy loss that occurs between Day 27 and Day 33 and so it is anticipated that the Day 33 is a better strategy than the other 2 strategies. Thus, the most aggressive Resynch interval tested in this experiment resulted in unacceptably poor fertility compared to delaying Resynch by 7 to 14 d. Unfortunately, a direct comparison in fertility between the D26 and D33 treatments in this study was confounded by a 7-d difference in the interval to the first pregnancy diagnosis after Resynch TAI using US.

**Table 4.** Pregnancies per artificial insemination (P/AI) after timed artificial insemination (TAI) to Resynch beginning 19, 26, or 33 d after first TAI (adapted from Fricke et al., 2003).

Item	Treatment			Overall
	D19	D26	D33	
Mean (± SEM) interval (d) from Resynch TAI to pregnancy exam (range)	27.1 ± 0.4 (26 to 54)	26.6 ± 0.2 (26 to 40)	33.7 ± 0.4 (26 to 75)	-
P/AI, % (n)	23 <sup>a</sup> (120)	34 <sup>b</sup> (121)	38 <sup>b</sup> (143)	32 (384)

<sup>a,b</sup> Within a row, percentages with different superscripts differ ( $P < 0.01$ ) among treatments.

To further assess fertility between the D26 and D33 Resynch treatments, a follow-up study was conducted (Sterry et al., 2006). Lactating Holstein cows (n=763) at various days in milk and prior AI services were assigned randomly at TAI to receive the first GnRH injection of Resynch 26 (D26) or 33 (D33) d after TAI to resynchronize ovulation in cows failing to conceive. Cows in the D26 treatment received GnRH 26 d after TAI and continued Resynch only when diagnosed not-pregnant using US 33 d after TAI; whereas D33 cows initiated Resynch only when diagnosed not-pregnant using US 33 d after

TAI. Cows were classified based on the presence or absence of a CL at the not pregnant diagnosis, and cows without a CL received a controlled internal drug releasing (CIDR) device during Resynch. When analyzed as a systematic strategy, fertility was greater for cows assigned to the D33 than the D26 Resynch treatment (39.4 vs. 28.6 %). A treatment by parity interaction was detected for P/AI after Resynch for not-pregnant cows with a CL in which primiparous cows had a greater P/AI than multiparous cows when Resynch was initiated 33 d after the initial TAI, and primiparous and multiparous cows when Resynch was initiated 26 d after the initial TAI. Interestingly, a similar effect of parity on fertility of lactating Holstein cows (n=1079) to the D26 vs. D33 Resynch treatments was not detected in another study using a similar design but on a different farm (Silva et al., unpublished). Pregnancy loss for Resynch was 6.4 % from 33 to 40 d and 2.6 % from 40 to 61 d after Resynch TAI. Thus, delaying initiation of Resynch until 33 d after TAI increased P/AI for primiparous cows. Furthermore, pre-treating all cows with GnRH 33 d after TAI and delaying pregnancy diagnosis until 40 d after TAI would allow for action to be taken on the 6.4 % of cows that would be expected to experience pregnancy loss from 33 to 40 d after TAI.

### *Optimization of Resynch Protocols*

As discussed above, researchers have tried to optimize fertility to Resynch and TAI by attempting to determine the optimal interval after TAI to initiate Resynch based on assumptions regarding the physiology of the estrous cycle (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 2006). Assuming an estrous cycle duration of 21 to 23 d, initiation of Resynch 32 to 33 d after TAI should ensure that the first GnRH injection of Resynch occurs between Day 5 to 12 of the estrous cycle, a stage of the cycle when a CL should be present and that results in greater fertility when Ovsynch is initiated (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000a). Despite this logic, 16 % to 22 % of cows lack a CL 33 d after TAI (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 2006) suggesting that there is significant *biological drift* among a group of cows at various times after synchronization using Presynch + Ovsynch and TAI. Reasons for this biological drift among cows include normal variation in estrous cycle duration, the incidence of pregnancy loss greater than 24 d after TAI and subsequent return to estrus, and/or lack of synchrony to Presynch + Ovsynch.

Because of this biological drift after an initial TAI among groups of cows, an alternative approach might be to presynchronize cows before initiation of Resynch. In a preliminary experiment (Silva et al., unpublished), cows diagnosed not-pregnant to a prior TAI service (n=593) were randomly assigned to each of two Resynch treatments. Cows diagnosed not-pregnant 31 d after TAI in the first treatment received the first GnRH injection of Resynch 32 d after the prior TAI service (Resynch). Cows diagnosed not-pregnant using US 31 d after TAI in the second treatment were presynchronized using a single injection of PGF<sub>2a</sub> 34 d after the prior TAI, and then received the first GnRH injection of Resynch 12 d later (Presynch + Resynch). Preliminary results show an increase in fertility to Resynch TAI due to presynchronization for both primiparous and multiparous cows (Table 5). Interestingly, this presynchronization effect on fertility to Resynch TAI is similar in magnitude to that reported for Presynch + Ovsynch (Moreira et al., 2001; Navanukraw et al., 2004). Although Presynch + Resynch improved fertility to TAI compared to a standard Resynch interval of 32 d, the interval between TAI was increased by 14 d. Further work is needed to determine whether presynchronization improves 21-d pregnancy rates compared to the standard Resynch interval of 32 d after TAI.

Table 5. Pregnancies per AI (P/AI) 66 d after timed AI (TAI) to a Resynch protocol initiated 32 d after first TAI (Resynch) or a presynchronized Resynch (Presynch + Resynch) protocol (Silva et al., unpublished).

Treatment	P

Resynch		Presynch + Resynch			Treatment	Parity	Interaction
Primiparous	Multiparous	Primiparous	Multiparous				
23.8	25.2	35.0	31.6	0.02	0.69	0.50	

### Protocol Compliance

Both scientific research and anecdotal evidence supports the idea that systematic synchronization and resynchronization systems are viable management alternatives for dairy cows managed in confinement-based dairy systems. Many factors affect reproductive performance, and many consultants have observed a wide range of performance among farms that have adopted the exact same protocols. Poor performance of these protocols is rarely due to physiologic responses of individual cows, but often can be attributed to protocol compliance issues at the farm level. To achieve success, each farm has to develop a system to administer the correct injections to the correct group of cows on the correct days, then subsequently AI the correct group of cows. A standard Presynch + Ovsynch protocol for submitting cows for first AI service requires that each individual cow receive 5 consecutive injections at the appropriate time and in the correct sequence. Failure to administer any one of these 5 injections or administration in an incorrect sequence will reduce the conception risk to TAI and ultimately will result in a delay in establishing pregnancy. For a farm that achieves an injection protocol accuracy of 95 % on any given injection day (e.g., 95 % of the cows that should get an injection actually get the correct one), on average nearly one in four cows will not successfully complete the 5 injections of the Presynch + Ovsynch protocol (e.g.,  $0.95 \times 0.95 \times 0.95 \times 0.95 = 0.77$ ). Thus, farms that cannot achieve acceptable protocol compliance should consider focusing on other methods to improve AI service risk.

### Conclusions

Although coupling a nonpregnancy diagnosis with a management decision to quickly reinstate AI service may improve reproductive efficiency by decreasing the interval between AI services, early pregnancy loss and the effectiveness of Resynch initiated at certain physiologic stages post breeding may limit the effectiveness of some Resynch strategies. Thus, a justifiable Resynch strategy is to pre-treat all cows with GnRH 7 d before pregnancy diagnosis 32 to 33 d after TAI, identify cows failing to conceive to TAI and administer PGF<sub>2α</sub> to cows diagnosed not-pregnant 39 to 40 d after TAI and complete the Resynch protocol. This recommendation is based on data in which the earliest Resynch intervals of 19 or 26 d after TAI do not yield the greatest fertility (Fricke et al., 2003; Sterry et al., 2006) and the notion that assessment of pregnancy status should be delayed until the latest possible time after TAI and during Resynch to ensure that diagnostic outcomes using US are not confounded by subsequent pregnancy loss (Silva et al., 2006). A practical advantage of the 32 to 33 d Resynch interval is that it results in an even number of weeks between TAI and therefore is easily implemented in herds that perform pregnancy diagnosis every other week. Finally, although presynchronization increased fertility to Resynch and TAI, further work is needed to determine whether this strategy improves 21-d pregnancy rates compared to the recommended Resynch interval of 32 to 33 d after TAI.

### Literature Cited:

Bartolome, J. A., A. Sozzi, J. McHale, P. Melendez, A.C.M. Arteché, F. T. Silvestre, D. Kelbert, K. Swift, L. F. Archbald, and W. W. Thatcher. 2005. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows. II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology* 63:1628-1642.

Cameron AR, Malmo J, 1993. Evaluation of an ultrasonic Doppler probe for pregnancy diagnosis in cattle. *Austr Vet J* 70:109-111.

Chebel, R. C., J. E. P. Santos, R. L. A. Cerri, K. N. Galvao, S. O. Juchem, and W. W. Thatcher. 2003. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology* 60:1389-1399.

Chenault, J. R., J. F. Boucher, K. J. Dame, J. A. Meyer, and S. L. Wood-Follis. 2003. Intravaginal progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:2039-2049.

Ferguson JD, 1996. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 5:173-84.

Fricke, PM. 2002. Scanning the future: Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:1918-26.

Fricke, P. M., D. Z. Caraviello, K. A. Weigel, and M. L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *J. Dairy Sci.* 86:3941-3950.

Fricke, P. M., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 50:1275-1284.

Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, and K. Kot. 1996. Minireview: Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55:1187-1194.

Jobst, S. M., R. L. Nebel, M. L. McGilliard, and K. D. Pelzer. 2000. Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin F<sub>2α</sub>, gonadotropin-releasing hormone, and timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:2366-2372.

Lucy, M. C., S. McDougall, and D. P. Nation. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:495-512.

Markusfel-Nir O, 1997. Epidemiology of bovine abortions in Israeli dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 31:245-255.

Melrose DR. 1979. The need for, and possible methods of application of, hormone assay techniques for improving reproductive efficiency. *Br. Vet. J.* 135:453-459.

Meyer, J. P., R. P. Radcliff, M. L. Rhoads, J. F. Bader, C. N. Murphy, and M. C. Lucy. 2004. Factorial analysis of timed AI (TAI) protocols for synchronization of first and second insemination in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):256.

Momont, H. W., and B. E. Seguin. 1984. Influence of day of estrous cycle on response to PGF<sub>2α</sub> products: implications for AI programs for dairy cattle. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Congr. Anim. Reprod. and AI, University of Illinois, Urbana-Champaign, IL. June 10-14.*

Moreira, F., C. A. Risco, M. F. A. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, and W. W. Thatcher. 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.

Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.

Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000a. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78:1568-1576.

Navanukraw, C., D. A. Redmer, L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, and P.M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:1551-1557.

Oltenacu PA, Ferguson JD, Lednor AJ, 1990. Economic evaluation of pregnancy diagnosis in dairy cattle: A decision analysis approach. *Journal of Dairy Science* 73:2826-2831.

Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J.S. Ottobre, H. A. Garverick, and L. L. Anderson. 1997b. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.

Pursley, J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.

Rajamahendran F, Ambrose DJ, Burton B, 1994. Clinical and research application of real-time ultrasonography in bovine reproduction: A review. *Canadian Veterinary Journal* 35:563-572.

Silva, E. B. P., R. A. Sterry, D. Kolb, N. Mathialagan, M. F. McGrath, J. M. Ballam, and P. M. Fricke. 2006. Accuracy of pregnancy diagnosis in Holstein cows using transrectal ultrasonography based on a serum pregnancy associated glycoprotein (PAG) ELISA. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):204.

Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2006. Effect of interval from timed artificial insemination to initiation of resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:2099-2109.

Stevenson, J. S., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and S. Z. El-Zarkouny. 2003. Conception rates of dairy cows following early not-pregnant diagnosis by ultrasonography and subsequent treatments with shortened Ovsynch protocol. *Theriogenology* 60:475-483.

Studer E. 1969. Early pregnancy diagnosis and fetal death. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 64:613-617.

Thompson JA, March WE, Etherington WG, Momont HW, Kinsel ML, 1995. Evaluation of the benefits of the timing of pregnancy testing by transrectal palpation in dairy cattle. *JAVMA* 207:1462-1465.

Vasconcelos, J.L.M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52:1067-1078.



---

## MANEJO Y TRATAMIENTO DE VACAS DE LECHE NO CÍCLICAS O CON QUISTES FOLICULARES

---

Milo C. Wiltbank<sup>a</sup>, Ahmet Gumen<sup>b</sup>, Hernando Lopez<sup>c</sup> y Roberto Sartorio<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Department of Dairy Science, 1675 Observatory Drive, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706 - Wiltbank@wisc.edu

<sup>b</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Veterinary Medicine, Uludag University, Bursa, Turkey - Agumen@uludag.edu.tr

<sup>c</sup>ABS Global, 1525 River Road, DeForest WI 5353 - H Lopez@absglobal.com

<sup>d</sup>Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, Brasília, DF, Brasil - Sartori@cenargen.embrapa.br

### INTRODUCCIÓN

A lo largo del siglo pasado se han informado los efectos negativos de la falta de ovulación en el desempeño reproductivo en bovinos. La bibliografía de principios del siglo XX presenta descripciones detalladas de vacas con quistes y vacas anovulatorias con ovarios pequeños. En uno de los primeros informes, Hancock (1948) sugería clasificar a las vacas en tres categorías principales, según el tipo de *actividad ovárica*: vacas ovulatorias, vacas anovulatorias (con o sin condición quística) y vacas con ovarios *inactivos*. Lamentablemente, en estos primeros estudios la comprensión de las causas que producían la condición anovulatoria era limitada, lo cual restringía el desarrollo de tratamientos eficaces. En la actualidad, con la ayuda de tecnologías como la ultrasonografía y ensayos hormonales, podemos comprender mejor la dinámica del desarrollo folicular y de las hormonas reproductivas en circulación. Esto ha permitido evaluar mejor las posibles causas que conducen a la anovulación y desarrollar tratamientos para solucionar esta condición.

El término anovulatoria se utiliza para identificar a una vaca que no está ovulando en el momento del servicio. Esto se puede determinar con precisión mediante ecografías secuenciales o mediciones de la concentración de progesterona (**P4**) en sangre. Sin embargo, en algunas situaciones a campo donde la determinación de la ciclicidad se basa ocasionalmente en la palpación rectal y en la detección de celo, las vacas que no se detectan en celo se las considera muchas veces como anovulatorias. Lamentablemente,



existen muchos motivos fisiológicos y ambientales por los cuales una vaca puede no presentar signos de celo aún cuando tenga un pico de LH y ovule. Por ejemplo, un motivo puede ser un aumento en el nivel de producción de leche. Recientemente, hemos llevado a cabo un estudio en el que se utilizó un sistema que permite la detección continua del celo (HeatWatch, DDX Technologies) para evaluar el efecto de la producción de leche sobre la expresión del estro. Encontramos que vacas con alta producción lechera tienen un celo evidente mucho más breve (Lopez et al., 2004). Además, se observó un mayor porcentaje de *ovulaciones silenciosas o silentes* (ovulaciones sin manifestación de celo) en las vacas de mayor producción que en las de menor producción. Independientemente de los diferentes motivos fisiológicos para la asociación antagónica entre la alta producción lechera y la expresión del estro, se genera una situación en la cual existen menos probabilidades de encontrar en celo a las vacas de alta producción lechera, y que pueden ser diagnosticadas erróneamente como anovulatorias. Asimismo, se pueden observar en celo a vacas que no están ovulando, ya sea por error en la detección o debido a que se manifiestan en celo aunque no haya ovulación. De esta forma, establecer que una vaca es anovulatoria (ausencia de ovulación) basado en las concentraciones de P4 circulante o en las diferentes evaluaciones del ovario por ecografía, permitiría identificar a un grupo diferente de vacas que podrían denominarse vacas en *anestro* (no se detectan el celo) en una explotación lechera comercial en particular. En este documento, utilizaremos el término *anovulatoria* para identificar a las vacas que no están ovulando y sólo informaremos los resultados de estudios que han determinado esta condición de manera objetiva mediante mediciones de la concentración de P4 circulante y/o numerosas evaluaciones del ovario por ecografía.

### INCIDENCIA DE LA ANOVULACIÓN

Según estudios realizados con vacas lecheras en donde se evaluó la ciclicidad por medio de la concentración de P4 en muestras de sangre sucesivas obtenidas cada 10 ó 12 días, existe una incidencia de anovulación de entre el 15 y el 54 % a los 49-71 días posparto (Tabla 1). En dos estudios que hemos realizado, se combinaron ecografías semanales con determinaciones de la concentración de P4 para evaluar ciclicidad. Observamos incidencias de anovulación del 20,2 % (64 de 316 vacas; Gümen et al., 2003) y del 28,5 % (76 de 267 vacas) a los 60 y 71 días en lactancia (**DEL**), respectivamente. Además, las vacas primíparas tienen, por lo general, una mayor incidencia de anovulación que las vacas múltiparas. De esta forma, la incidencia actual de anovulación en vacas de leche es alta y representa un problema importante para los productores.

**Tabla 1.** Algunos estudios recientes mediante los cuales se ha evaluado la incidencia de la anovulación en vacas lecheras en lactancia.

Estudio	Porcentaje de anovulatorias		Observaciones
	Primíparas	Múltiparas	
Moreira et al., 2001	37,3 %	15,7 %	n = 499 a los 63 DEL por P4
Gumen et al., 2003	28 % (34/122)	15 % (29/194)	a los 57 DEL por ultrasonido y P4
Lopez et al., 2005	29 % (38/131)	27,9 % (38/136)	a los 71 DEL por ultrasonido y P4

---

Chebel et al., 2006	54,1 % (210/388)	31,5 % (183/580)	a los 49 DEL por P4
---------------------	------------------	------------------	---------------------

---

## CAUSAS DE ANOVULACIÓN

Trataremos las causas de anovulación desde dos perspectivas diferentes. En primer lugar, veremos desde el punto de vista fisiológico las causas por las cuales las vacas no ovulan. Luego, trataremos los factores epidemiológicos o factores de campo asociados con la anovulación.

### Fisiología de la anovulación

Hemos revisado anteriormente las diferentes condiciones fisiológicas que pueden producir la anovulación en bovinos lecheros (Wiltbank et al., 2002). La causa más evidente de la falta de ovulación es la presencia de un cuerpo lúteo persistente en el ovario. Obviamente, la presencia de un cuerpo lúteo persistente y la falta de ovulación que están asociadas con la preñez no representarían un problema de eficacia reproductiva. Asimismo, algunas vacas no preñadas (1,5 a 6,4 %) también tendrán un cuerpo lúteo persistente cuya regresión no se produce en un período de 25 días (revisado en Wiltbank et al., 2002). La incidencia de un cuerpo lúteo persistente aumenta considerablemente en vacas que ovulan durante los primeros 25 días posparto (25 %) en comparación con vacas que ovulan más tarde (0 %) (Ball y McEwan, 1998). Este problema puede tratarse eficazmente mediante el uso de prostaglandina (PG) F<sub>2α</sub>, que produce la regresión del cuerpo lúteo persistente. Esta causa de anovulación no se tratará más adelante y no se considerará en ninguna de nuestras discusiones futuras sobre la incidencia de la anovulación o su tratamiento.

Se han observado tres patrones principales de crecimiento folicular en las vacas de leche anovulatorias (consulte revisión y referencias en Wiltbank et al., 2002). El primer patrón representa la típica vaca en anestro o vaca anovulatoria con crecimiento de folículos relativamente pequeños, los cuales sólo alcanzan un tamaño máximo de 9 a 15 mm de diámetro. Este patrón se asocia generalmente con una menor condición corporal y un balance energético negativo. Fisiológicamente, lo que origina este patrón parece ser una deficiencia de pulsos de LH. Aparentemente, la baja condición energética de la vaca conduce a cantidades inapropiadas de pulsos de LH, lo cual lleva a un crecimiento insuficiente del folículo y por ende, a una menor producción de estradiol. De esta forma, estas vacas nunca tendrán un folículo que alcance el tamaño suficiente y que genere la concentración de estradiol necesaria para que la vaca entre en celo, tenga un pico de LH y ovule.

Este problema de crecimiento inadecuado de folículos (folículos pequeños) predomina a principios del período posparto, cuando las vacas atraviesan por el balance energético negativo más bajo. A medida que las vacas van recuperando estatus energético y nutricional, los pulsos de LH aumentan y los folículos crecen hasta alcanzar el tamaño suficiente para producir el estradiol que el animal necesita para entrar en celo y ovular (Beam y Butler, 1999; McDougall et al., 1995). Este problema está más asociado con las vacas que presentan baja condición corporal (2,5 o menos).

Un segundo patrón de crecimiento de folículos que los veterinarios identifican fácilmente es el crecimiento de los quistes foliculares (folículos > 25 mm de diámetro). En la mayoría de los casos, estas vacas no ovulan ni muestran comportamiento de celo, a pesar de la alta concentración de estradiol circulante. Este problema se debe a la falta de retroalimentación positiva del estradiol a nivel hipotálmico (Nanda et al., 1991; Gumen y Wiltbank, 2002). En otras palabras, una vaca con quistes es resistente a los efectos del estradiol en el cerebro, no muestra comportamiento de celo y no tiene un pico de LH ni ovula.

El tercer patrón de crecimiento folicular en vacas anovulatorias es el que más predomina en nuestros estudios de vacas lecheras en lactancia (Gumen et al., 2003; Lopez et al., 2005), pero es también el más difícil de diagnosticar en vacas de leche comerciales. En vacas con este tipo de anovulación, los folículos crecen hasta alcanzar el tamaño ovulatorio (16-24 mm), pero no ovulan. El ovario no presenta estructuras que podrían identificarse fácilmente como estructuras quísticas pero aparenta encontrarse en un estado fisiológico similar. En otras palabras, estas vacas parecen tener un alto nivel de estradiol circulante pero no muestran un estro evidente ni ovulación. Algunos de los signos secundarios del celo (mucus, actividad) pueden presentarse en muchas de estas vacas de manera constante aunque permanezcan anovulatorias.

Estos tres tipos diferentes de anovulación pueden ser producidos por distintos problemas. Al momento, la mayoría de los estudios que se han realizado no han incluido claramente a las vacas anovulatorias dentro de la condición fisiológica relacionada con la falta de ovulación. Es muy probable que las vacas de cada una de estas categorías respondan de manera diferente a distintos tratamientos. Sin embargo, por no contar con la información adecuada, estos tres tipos de vacas anovulatorias se considerarán como un único grupo en discusiones posteriores.

### **Factores de campo asociados con la anovulación**

Se ha descubierto que varios factores de riesgo influyen sobre la incidencia de anovulación en las explotaciones lecheras, los cuales se tratarán en esta sección. Aunque podríamos citar numerosos estudios sobre anovulación, nos concentraremos los más recientes que se han realizado sobre este tema.

#### *Producción de leche*

Se ha estudiado la relación entre la producción de leche y la anovulación, con resultados contradictorios. Erb (1984) revisó cuatro estudios norteamericanos en los cuales se comparaban los niveles de producción de leche o potencial genético para la producción de leche entre vacas que posteriormente se volvieron anovulatorias y en vacas que no. Se arribó a la conclusión de que la alta producción láctea no produjo anovulación en vacas lecheras Holstein, pero las vacas anovulatorias produjeron más leche que las demás (Erb, 1984). Bartlett et al. (1986) compararon la producción de leche entre lactancias anovulatorias (n = 338) y ovulatorias (n = 2262). Informaron que las lactancias con folículos anovulatorios produjeron un promedio de 422 kg más de leche 305 equivalente maduro (EM) que aquellas sin folículos anovulatorios. Por lo tanto, estos estudios avalan el argumento de que la alta producción de leche no produce anovulación. Sin embargo, los folículos anovulatorios pueden estar asociados a una mayor producción láctea. En uno de nuestros estudios recientes evaluamos la relación

entre la producción de leche desde los 60-70 DEL y la incidencia de anovulación a los 71 DEL (Lopez et al., 2005). Independientemente del nivel de producción de leche, se observó que aproximadamente el 28 % de las vacas eran anovulatorias. De esta forma, a diferencia de la duración del celo que está relacionada estrechamente con el nivel de producción láctea (Lopez et al., 2004), la falta de ovulación se debe aparentemente a causas diferentes del nivel de producción. Debemos recordar que estos datos se obtuvieron de un rodeo de vacas lecheras de alta producción alimentadas con una ración mezcla total y bien balanceada. En rodeos con dietas limitadas en energía u otros nutrientes (tambos a pastoreo, raciones no muy bien balanceadas), es muy probable que las mayores productoras de leche presenten una incidencia mucho mayor de anovulación que las menos productoras. De la misma manera, un estudio reciente de California (Chebel et al., 2006) informó que el porcentaje de vacas anovulatorias a los 49 días posparto no estaba relacionado con la producción de leche ( $P = 0,61$ ); y que tanto las vacas con la menor producción (34,2 kg/d) como las que se encontraban en la mayor producción de leche (51,3 kg/d) presentaron tasas de anovulación similares (42,6 % vs. 43,1 %). De esta forma, en el caso de rodeos de vacas lecheras bien alimentadas y con alta producción, la incidencia de anovulación puede estar relacionada principalmente con factores diferentes del nivel de producción láctea.

### *Condición corporal*

La condición corporal (**CC**) es una escala arbitraria para calcular la cantidad de grasa corporal en las vacas (Wildman et al., 1982). Existe una estrecha correlación entre la incidencia de anovulación y la CC alrededor de los 60 días posparto (Cartmill et al., 2001; Moreira et al., 2001; Gumen et al., 2003; Lopez et al., 2005). Por ejemplo, el porcentaje de vacas que se detectaron como anovulatorias a los 71 días posparto (Lopez et al., 2005) disminuyó a medida que la CC aumentó, desde el 83,3 % (CC < 2,5), 38,2 % (2,5), 34,4 % (2,75), 21,8 % (3,0), al 8,5 % ( $\geq 3,25$ ). De la misma manera, Chebel et al. (2006) informaron que el porcentaje de anovulatorias a los 49 días posparto estaba relacionado con la CC: de las vacas que tenían una CC  $\leq 2,75$ , el 45,2 % eran anovulatorias y de las vacas con CC > 2,75, el 33,7 % eran anovulatorias. Por lo tanto, existe una relación entre el porcentaje de vacas anovulatorias y la CC.

Debemos observar que del 44 % (Chebel et al., 2006) al 63 % (Lopez et al., 2005) de las vacas anovulatorias presentaron una buena CC. Por lo tanto, la CC no explica completamente la gran incidencia de anovulación en las vacas de leche. Asimismo, Chebel et al. (2006) informaron que un cambio en la CC entre los 3 a los 62 DEL no estaba relacionado con la incidencia de anovulación ( $P = 0,20$ ). Es probable que muchos otros factores de campo, además de la CC y el balance energético negativo, estén originando las altas tasas de anovulación que se observa en las vacas lecheras en lactancia, especialmente el patrón de anovulación con folículos de mayor tamaño (categorías 2 y 3 descritas anteriormente). Aunque las vacas con una CC baja tienen mayor incidencia de anovulación, muchas vacas con anovulación no presentan una baja CC.

### *Edad.*

La mayoría de los estudios han revelado una incidencia mayor de anovulación en vacas primíparas que en multíparas (consulte la Tabla 1). Por ejemplo, Moreira et al (2001) determinaron la anovulación mediante la medición de bajas concentraciones de P4 circulante en dos muestras de sangre e informaron una incidencia del 37,3 % de anovulación en vacas primíparas y una incidencia de sólo un 15,7 % en

vacas multíparas. En uno de nuestros estudios en un establecimiento comercial, observamos que las vacas primíparas (28 %) tenían mayor incidencia de estar en condición anovulatoria (determinadas por ecografía y concentración de P4 circulante) que las vacas multíparas (15 %). La mayor incidencia de anovulación en vacas primíparas se produjo en todos los niveles de CC, lo cual sugiere que este aumento en la incidencia puede no deberse únicamente a una baja CC en estas vacas. Chebel et al. (2006) también informaron que las vacas primíparas (54,1 %) presentaron tasas más altas de anovulación a los 49 días posparto que las vacas multíparas (31,5 %). Sin embargo, la relación entre la anovulación y la edad es un tanto controvertida y varía aparentemente de un rodeo a otro. Podrían existir numerosos motivos que expliquen la variabilidad en cuanto a que la edad de la vaca afecta la incidencia de anovulación, por ejemplo: competencia por recursos entre vacas más jóvenes y más viejas, manejo nutricional, nivel de producción, diferencias en la atención posparto temprana y métodos empleados para determinar anovulación en diferentes tambos o estudios.

### *Resumen de factores de riesgo*

Además de los factores mencionados anteriormente, en algunos estudios se ha informado que las infecciones uterinas, la administración de monensina y los fitoestrógenos en el alimento constituyen factores de riesgo para la anovulación. De esta manera, queda claro que existen numerosos mecanismos posibles relacionados con la anovulación en los rodeos de vacas lecheras. En los rodeos con baja CC, es posible que el balance energético negativo sea la base subyacente de la anovulación. Todo cambio de manejo que resulte en una mejoría de la CC a comienzos de la temporada de servicio debería disminuir la incidencia de anovulación. Sin embargo, queda claro que en vacas de leche bien alimentadas y con buena CC, todavía existe una incidencia sorprendentemente alta de anovulación. Este tipo de anovulación se caracteriza por folículos de gran tamaño y, muy posiblemente, por la resistencia al efecto de la retralimentación positiva del estradiol. En las próximas dos secciones se presentará un pequeño panorama sobre los métodos potenciales para prevenir la anovulación en vacas lecheras en lactancia y métodos hormonales para prevenir la anovulación.

## **PREVENCIÓN DE LA ANOVULACIÓN MEDIANTE TRATAMIENTOS NO HORMONALES**

Sobre la base de los factores de riesgo descritos anteriormente, existen numerosos procedimientos que podrían implementarse para disminuir la anovulación al comienzo del período de servicio en el ganado lechero.

El método más discutido para reducir la anovulación es mejorar el estado nutricional de la vaca, lo cual se ha tratado ampliamente en documentos previos (Beam y Butler, 1999; Ferguson, 1996).

El segundo método más evidente para reducir la anovulación a comienzos del período de servicio es retrasar el momento del primer servicio. Hemos informado anteriormente (Lopez et al., 2005) que el 53,9 % de las vacas anovulatorias a los 71 días posparto se recuperará espontáneamente a los 100 días posparto. De esta manera, cuanto más temprano comience el período de servicio, mayor será el porcentaje de vacas anovulatorias presentes en el grupo a servir. De hecho, Tenhagen et al. (2003) mostraron una clara mejoría en la tasa de concepción al primer servicio cuando la IA programada se retrasó desde los 53-59 DEL (14,4 %), a los 73-81 DEL (28,7 %) y hasta los 94-101 DEL (41,4 %). Esta mejoría en las tasas de concepción se debe posiblemente a un menor número de vacas anovulatorias y al mejoramiento de la función reproductiva a medida que aumentan los días después del parto.

Otro método que encontramos para reducir la anovulación es disminuir la duración del período seco (Gumen et al., 2005a; Watters et al., 2006). El momento más temprano de la primera ovulación parece deberse a un menor balance energético negativo en vacas con períodos secos cortos (Gumen et al., 2005a). Los días transcurridos hasta la primera ovulación se redujeron de 43 a 35 días y el porcentaje de vacas anovulatorias a los 70 DEL disminuyó de 18 % a 8 % cuando el período seco se acortó de 56 a 34 días (Watters et al., 2006). Debe observarse que las vacas con períodos secos reducidos fueron puestas inmediatamente en una dieta de moderada energía (ración para que la vaca esté en condiciones rápidamente o *steam-up*) al momento del inicio del secado y nunca se les dio la típica ración de bajo contenido energético para vacas secas. Este protocolo resultó especialmente ventajoso para las vacas más viejas (vacas que ingresaban a la fase de secado después de dos lactancias o más) con una reducción de los días abiertos desde 133 en el período seco tradicional a 113 en el período seco reducido. Esta mejoría no se debió a una reducción en la producción láctea, ya que las vacas más viejas tuvieron una producción similar de leche corregida por grasa, estuvieran en el período seco tradicional o reducido.

Es posible que exista un número de métodos no hormonales que puedan reducir la incidencia de anovulación en vacas lecheras en lactancia. Queda claro que mejores programas nutricionales, especialmente programas que disminuyen el balance energético negativo, ayudarán a reducir la incidencia de la anovulación en vacas de leche. Además, retrasar el inicio del período de servicio, tal vez combinándolo con el acortamiento de la duración del período seco, especialmente en vacas más viejas, ayudaría a reducir la anovulación. A pesar de estos importantes programas de prevención, queda claro que también se necesitan implementar protocolos hormonales para garantizar que las vacas anovulatorias tengan todas las oportunidades de quedar preñadas durante la lactancia.

## TRATAMIENTOS HORMONALES DE LA VACA ANOVULATORIA

Antes de 1943, el tratamiento de los quistes foliculares o de la anovulación en las vacas se limitaba en gran parte a la irrigación uterina con solución salina o a la ruptura manual de los folículos anovulatorios. Casida et al. (1944) indicaron que el tratamiento con extractos de hipófisis que contuvieran gonadotropinas podía ser una terapia eficaz para los quistes foliculares. Tras los resultados de Casida et al. (1944), se han utilizado muchas hormonas (GnRH, gonadotropina coriónica humana, P4 o una combinación de estas hormonas) para tratar la anovulación.

La mayoría de los análisis económicos han descubierto que las vacas anovulatorias pueden reducir la rentabilidad del tambo debido a un mayor riesgo de descarte y a un incremento en las inseminaciones por concepción (De Vries et al., 2006). De esta manera, es probable que el tratamiento oportuno y eficaz de las vacas anovulatorias, mejore la eficacia reproductiva del establecimiento comercial y pueda aumentar la rentabilidad del tambo.

El tratamiento para vacas anovulatorias más utilizado en los Estados Unidos es el protocolo Ovsynch. Este protocolo utiliza una aplicación de GnRH, seguida a los 7 días por PGF<sub>2α</sub>, y a las 48-56 horas más tarde una segunda GnRH. La inseminación a tiempo fijo (IATF) se realiza a las 14-18 horas de la segunda GnRH. Este protocolo induce aparentemente la ovulación en un alto porcentaje de vacas de leche anovulatorias, pero algunas de estas vacas tienen una fase luteal posterior más reducida (Gumen et al., 2003). En la Tabla 2, se muestran algunos de los estudios recientes donde se han comparado vacas ovulatorias y anovulatorias tratadas con Ovsynch. En casi todos los estudios hubo tasas de concepción significativamente menores en vacas no cíclicas que en vacas cíclicas tratadas con Ovsynch. De esta

manera, si bien Ovsynch puede inducir la ovulación en vacas no cíclicas, podría haber una reducción en las tasas de concepción en estas vacas. Aparentemente, cuanto mayor sean los DEL al comenzar con Ovsynch, más exitoso resultará tanto en vacas cíclicas como no cíclicas.

El tratamiento con P4 se ha utilizado eficazmente durante varios años para inducir la ciclicidad en vacas anovulatorias. Hace algunos años, algunos grupos han combinado el uso de un dispositivo de liberación de P4 (CIDR, implante de liberación controlada, Pfizer Animal Health) con el Ovsynch en un protocolo denominado CIDR-Synch. En este protocolo, el dispositivo intravaginal se coloca en mismo el momento en que se aplica la primera inyección de GnRH y luego se retira cuando se coloca la PGF<sub>2α</sub>. Recientemente, se ha revisado el uso del protocolo CIDR-Synch en comparación con el protocolo Ovsynch (Stevenson et al., 2006). Sorprendentemente, los resultados varían y en este momento no se puede determinar científicamente si existe una ventaja evidente.

Una estrategia que se está investigando actualmente es el uso de tratamientos de presincronización, diseñados para provocar la ovulación en vacas no cíclicas. El protocolo Presynch clásico consiste en dos inyecciones de PGF<sub>2α</sub>, administradas con un intervalo de 14 días. Esto es seguido, 12-14 días más tarde, por la primera administración de GnRH del protocolo Ovsynch. Se ha demostrado que este protocolo mejora las tasas de concepción en vacas de leche cíclicas (Moreira et al., 2001). Sin embargo, es poco probable que los tratamientos con PGF<sub>2α</sub> mejoren la reproducción en vacas de leche no cíclicas, lo cual parece ser la causa según estudios previos (Moreira et al., 2001). Recientemente hemos finalizado un estudio en el que se utiliza el tratamiento con GnRH 7 días antes del tratamiento final con PGF<sub>2α</sub> de un protocolo Presynch (Gumen et al., 2005b). Se descubrió que este protocolo indujo la ovulación y aumentó las concentraciones de P4 al momento del segundo tratamiento con PGF<sub>2α</sub> del protocolo Presynch. Sin embargo, no observamos mejora alguna en las tasas de concepción con este protocolo (Gumen et al., 2005b). Recientemente, Chebel et al. (2006) informaron el uso de un dispositivo CIDR durante los 7 días anteriores a la PGF<sub>2α</sub> final del protocolo Presynch. Este tratamiento indujo la ciclicidad, como se demostró mediante el incremento desde un 30 % de vacas anovulatorias control (a los 49 DEL) que iniciaron la ciclicidad a los 62 DEL hasta un 47 % aprox. de vacas tratadas con el dispositivo CIDR que iniciaron la ciclicidad. Sin embargo, se observó que la presincronización con el dispositivo CIDR no mejoró la tasa de concepción a la primera IA.

Un estudio reciente realizado por Bello et al. (2006) utilizó un novedoso protocolo de presincronización con PGF<sub>2α</sub> y GnRH. Este protocolo consistió en el tratamiento con PGF<sub>2α</sub> seguido 2 días después por GnRH y 6 días después por la primera GnRH del protocolo Ovsynch. Aparentemente, este tratamiento produce una excelente presincronización de las vacas cíclicas y puede ayudar, en teoría, a las vacas no cíclicas, aunque aún no se ha probado en un estudio de fertilidad más amplio. De esta manera, los tratamientos de presincronización que permitirían la iniciación del protocolo Ovsynch en los días correctos del ciclo estral y la inducción de la ciclicidad en vacas anovulatorias son claramente posibles. Se necesitarán estudios posteriores para optimizar estos protocolos de presincronización y así poder lograr mejoras en el desempeño reproductivo.

Numerosos estudios más han empleado otros tratamientos hormonales en los protocolos de sincronización para vacas anovulatorias. Estos protocolos utilizan la aplicación de estradiol durante la sincronización. Aunque los resultados de estos estudios son interesantes y alentadores, el uso del estradiol en vacas de leche en lactancia no está aprobado actualmente en los Estados Unidos. Por lo tanto, estos protocolos no serán revisados en este documento.

**Tabla 2.** Algunos resultados de estudios en los cuales se trataron vacas cíclicas (que ovulan) y no cíclicas (que no ovulan) con Ovsynch o HeatSynch.

Estudio	Porcentaje de preñez a la primera IA		Observaciones
	Cíclicas	No cíclicas	
Moreira et al., 2001	41,7 % (159/382)	22,4 % (26/117)	IATF de Ovsynch a los 73 DEL
Cordoba & Fricke, 2001	45,8 % (33/72)	30,0 % (9/30)	Lecheras en pastoreo; IATF a los 66 DEL
Gumen et al., 2004	32 % (37/117)	9 % (3/33)	IATF de Ovsynch a los 64-70 DEL Anovulatorias a los 54-60 DEL
Galvao et al., 2004	35,4 % (91/257)	22,9 % (14/61)	IATF de Heatsynch a los 65 DEL aprox.
Chebel et al., 2006	31,1 % (178/573)	20,9 % (82/393)	Anovulatorias a los 49 DEL Algunas IA al celo IATF de Ovsynch a los 72 DEL Presynch con CIDR en algunas vacas
Stevenson et al., 2006	34,7 % (78/225)	30,2 % (29/96)	IATF de Ovsynch a los 89 ± 42 DEL

## CONCLUSIONES

Durante los últimos 10 años, se ha comenzado a contar con gran cantidad de información sobre vacas anovulatorias gracias al uso de la ultrasonografía para evaluar los patrones de crecimiento de los folículos anovulatorios y para diagnosticar con precisión la incidencia y la respuesta al tratamiento en las vacas anovulatorias. Es evidente que las vacas de leche con baja condición corporal, balance energético negativo y folículos más pequeños presentan un patrón importante de anovulación. Sin embargo, una gran cantidad de vacas anovulatorias no están incluidas dentro de este concepto clásico. Estas vacas tienen folículos ovulatorios de gran tamaño y condición corporal normal. Se puede reducir el porcentaje de las vacas anovulatorias mediante programas nutricionales bien diseñados, retraso al primer servicio y



disminución de la duración del período seco. Estas medidas preventivas pueden reducir el impacto de las vacas anovulatorias sobre los programas de manejo reproductivo. Asimismo, los programas hormonales son eficaces en inducir la ciclicidad en las vacas anovulatorias. El protocolo Ovsynch induce la ovulación en muchas vacas anovulatorias en respuesta a los tratamientos con GnRH utilizados en el mismo. La mayoría de los estudios sugiere que el Ovsynch aumentará el número de preñeces en vacas anovulatorias, aunque existen disminuciones en las tasas de concepción para las vacas anovulatorias en comparación con las ovulatorias tratadas con Ovsynch. En este momento, se están probando y optimizando otros protocolos de tratamiento hormonal que utilizan novedosos protocolos Presynch y CIDR-Synch.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Ball, P.J.H., and E.E.A. McEwan. 1998. The incidence of prolonged luteal function following early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows. *Proc Brit Soc Anim Sci.* 187 abstr.
- Bartlett PC, PK Ngategize, JB Kaneene, JH Kirik, SM Anderson, EC Mather. Cystic follicular disease in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and economic impact. *Preventive Vet Med* 1986;4:15-33.
- Beam, S.W., and W.R. Butler. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 54(Suppl):411-424.
- Bello, N.M., J.P. Steibel, and J.R. Pursley. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424.
- Cartmill, J.A., S.Z. El-Zarkouny, B.A. Hensley, G.C. Lamb, and J.S. Stevenson. 2001. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.* 84:1051-1059.
- Casida, L.E., W.H. McShan, and R.K. Meyer. 1944. Effects of unfractionated pituitary extract upon cystic ovaries and nymphomania in cows. *J. Anim. Sci.* 3:273-282.
- Chebel, R.C., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, H.M. Rutigliano, and R.G.S. Bruno. 2006. Reproduction in dairy cows following progesterone insert presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 89:4205-4219.
- Cordoba, M.C., and P.M. Fricke. 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J. Dairy Sci.* 84:2700-2708.
- De Vries, A., M.B. Crane, J.A. Bartolome, P. Melendez, C.A. Risco, and L.F. Archbald. 2006. Economic comparison of timed artificial insemination and exogenous progesterone as treatments for ovarian cysts. *J. Dairy Sci.* 89:3028-3037.
- Erb, HN. 1984. High milk production as a cause of cystic ovaries in dairy cows: Evidence to the contrary. *Comp. Cont. Edu.* 6:215-219.
- Ferguson, J.D. 1996. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 5:173-184.
- Galvao, K.N., J.E.P. Santos, S.O. Juchem R.L.A. Cerri, A.C. Coscioni, and M. Villasenor. 2004. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 82:3508-3517.

- Gumen, A. J.N. Guenther, and M.C. Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3184-3194.
- Gumen, A., and M.C. Wiltbank. 2002. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle. *Biol. Reprod.* 66:1689-1695.
- Gumen, A., R.R. Rastani, R.R. Grummer, and M.C. Wiltbank. 2005a. Reduced dry periods and varying prepartum diets alter postpartum ovulation and reproductive measures. *J. Dairy Sci.* 88:2401-2411.
- Gumen, A., A.H. Souza, A.P. Cunha, E.P.B. Silva, J.N. Guenther, and M.C. Wiltbank. 2005b. Effect of GnRH between Pre-synch injections and estradiol-17 $\beta$  during the Ovsynch protocol on conception rates in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl. 1):T159.
- Hancock, J.L. 1948. The clinical analysis of reproductive failure in cattle. *Vet. Rec.* 60:513-517.
- Lopez, H., L.D. Satter, and M.C. Wiltbank. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 81:209-223.
- Lopez, H., D.Z. Caraviello, L.D. Satter, P.M. Fricke, and M.C. Wiltbank. 2005. Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:2783-2793.
- McDougall, S., C.R. Burke, K.L. MacMillan, and N.B. Williamson. 1995. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res. Vet. Sci.* 58:212-216.
- Moreira, F., O. Orlandi, C.A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.
- Nanda, A.S., W.R. Ward, and H. Dobson. 1991. Lack of LH response to oestradiol treatment in cows with cystic ovarian disease and effect of progesterone treatment or manual rupture. *Res. Vet. Sci.* 51:180-184.
- Stevenson, J.S., J.R. Pursley, H.A. Garverick, P.M. Fricke, D.J. Kesler, J.S. Ottobre, and M.C. Wiltbank. 2006. Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J. Dairy Sci.* 89:2567-2578.
- Tenhagen, B.A., C. Vogel, M. Drillich, G. Thiele, and W. Heuwieser. 2003. Influence of stage of lactation and milk production on conception rates after timed artificial insemination following Ovsynch. *Theriogenology* 60:1527-1537.
- Watters, R.D., M.C. Wiltbank, P.M. Fricke, J.N. Guenther, A.E. Kulick, and R.R. Grummer. 2006. Effect of dry period duration on reproductive measures during the subsequent lactation in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 89 (Suppl 1): 386.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65:495-501.
- Wiltbank, M. C., A. Gumen, and R. Sartori. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57:21-52.



## PÉRDIDAS DE PREÑEZ EN BOVINOS

---

**José Eduardo P. Santos**

Veterinary Medicine Teaching and Research Center University of California, Davis Tulare, CA –  
93274jsantos@vmtrc.ucdavis.edu

### Introducción

La rentabilidad en la industria lechera depende directamente de la eficiencia reproductiva. La tasa de concepción, la tasa de detección de celo y la pérdida de preñez son factores que determinan la eficiencia reproductiva en rodeos lecheros. Sin embargo, la pérdida de preñez sola puede tener efectos devastadores en el éxito económico de los rodeos lecheros. Se ha calculado que por cada pérdida de preñez, hay una pérdida promedio de US \$640,00 (Thurmond et al., 1990).

La falla reproductiva en vacas lecheras inseminadas es el resultado de la mala fertilización y supervivencia embrionaria. Estudios recientes con vacas lecheras en lactancia indican que la tasa de fertilización tuvo un promedio de 76,2 % y varió entre 55,3 y 87,8 % (Santos et al., 2004a). Una vez fertilizado el huevo, el destino de la preñez se determina por la supervivencia del embrión y del feto. La incidencia de la pérdida de preñez en ganado lechero varía con el momento de diagnóstico de la preñez. Lamentablemente, poco se sabe sobre los factores de riesgo de pérdidas de preñez durante los primeros 25 a 28 d de gestación, debido a la falta de un método de diagnóstico de preñez no invasivo y certero para detectar preñeces antes del día 25. Estudios con vacas de carne en lactancia sugieren que la tasa de fertilización tuvo un promedio de 75,0% y varió entre el 60 y 100 % (Santos et al., 2004a). En algunos estudios, la menor tasa de fertilización en vacas de carne en lactancia puede haber estado relacionada con inseminaciones realizadas en el posparto temprano, cuando la anovulación y el anestro prevalecieron en vacas de carne. A pesar de la escasez de datos para confirmar que las vacas estaban en el posparto temprano, es posible que las tasas de fertilización en vacas de carne en lactancia no sean tan altas como se pensaba y el promedio del 75,0 % representa la verdadera tasa de fertilización en vacas con cría a la IA. En vacas de carne sin cría, las tasas de fertilización tuvieron un 98,6 % de promedio, con un rango entre 94,0 y 100 % lo cual es más alto, y más importante, menos variable en vacas de carne con cría. Datos de estudios con vaquillonas de carne observaron una alta tasa de fertilización con un promedio de 88,0 % y un rango de 75,0 a 100 %. Estos datos sugieren que la lactancia podría tener un efecto negativo sobre la fertilización en animales de carne.

Las pérdidas de preñez pueden caracterizarse como muerte embrionaria temprana, que ocurre antes del reconocimiento materno de la lactancia; muerte embrionaria tardía, que ocurre entre los días 24 y 42

de la gestación y muerte fetal, que ocurre después del día 42. Se supone que la frecuencia de pérdidas de preñez es mayor durante el periodo embrionario temprano que puede demostrarse por el uso de transferencia de embriones. Cuando se transfirieron embriones de 2 días a vacas receptoras y luego se recuperaron por *flushing* uterino 9 días más tarde, sólo se recuperó del 55 al 60 % de los *conceptus* (Bertolini et al., 2002). En vacas lecheras en lactancia, la transferencia de embriones frescos o congelados/descongelados da tasas de preñez que son pocas veces mayores al 50 %, lo cual indica que la pérdida embrionaria temprana puede afectar a más del 50 % de los oocitos fertilizados. Para la IA, las pérdidas embrionarias tienen más preponderancia que las pérdidas fetales. Si se las considera juntas, las pérdidas fetales y embrionarias pueden llegar a más del 60 % de las gestaciones.

Varios factores afectan la preñez en bovinos, algunos de los cuales se discuten en otras presentaciones de este libro de resúmenes-

Sin embargo, entre los factores de riesgo comunes relacionados con una menor fertilidad en bovinos encontramos: anomalías del oocito relacionadas con una menor calidad debida al estrés o a una dominancia prolongada, menor desarrollo embrionario y una señal de reconocimiento de preñez comprometida, anestro posparto prolongado, enfermedades periparturientas y uterinas, enfermedades infecciosas, pérdida excesiva de escoria de condición corporal durante el posparto temprano, estrés calórico, mayor número de partos e ingredientes de la dieta.

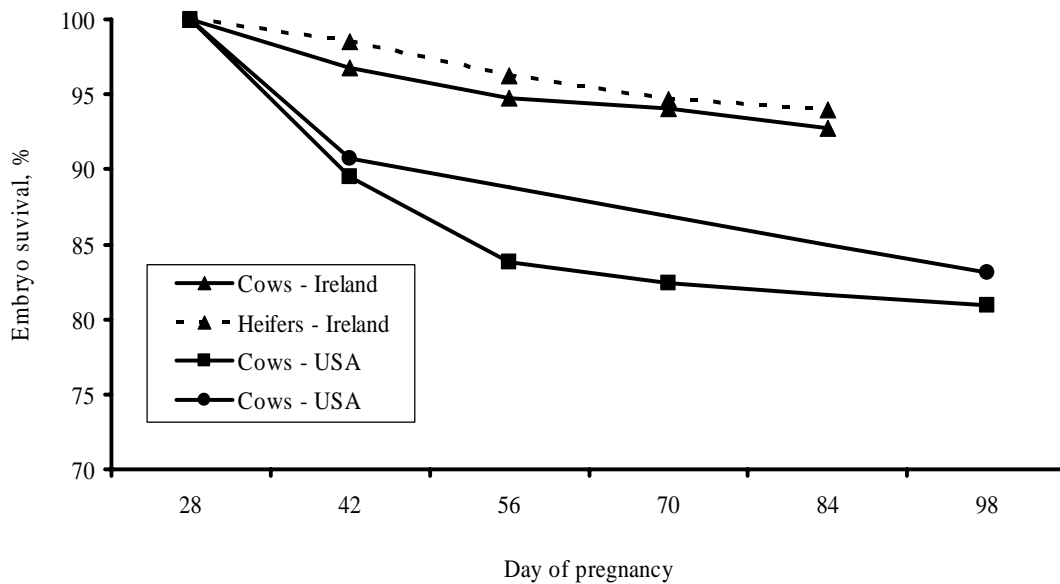
### **Caracterización de pérdidas de preñez**

Las pérdidas de preñez pueden caracterizarse por muerte embrionaria o fetal. La mayoría de los productores reconoce las pérdidas de preñez cuando el feto es expulsado del útero de las vacas preñadas. Sin embargo, se calcula que la mayoría de las pérdidas ocurren durante los primeros 50 d de gestación, durante el periodo embrionario.

Humboldt (2001) sugirió que la luteólisis y el retorno al estro antes del día 24 podría estar relacionado con la muerte embrionaria temprana; pero si el cuerpo lúteo (**CL**) se mantiene y el retorno al estro se demora después del día 24, podría indicar una pérdida embrionaria que sucede después del día 16 de la gestación. Por lo tanto, las pérdidas de preñez antes del día 24 después de IA indican pérdidas embrionarias tempranas y aquéllas entre los días 24 y 50 indican pérdidas embrionarias tardías. Las pérdidas de preñez detectadas después del día 50 caracterizan las pérdidas fetales.

### **Prevalencia de las pérdidas de preñez**

Sartori et al. (2002) colectaron embriones el día 6 después de la ovulación de vacas lecheras en lactancia y observaron que sólo el 33,3 y el 52,8 % fueron considerados viables cuando las vacas estuvieron expuestas a estrés calórico o a neutralidad térmica, respectivamente. Según sus resultados, cuando el estrés calórico está presente, más del 45 % de las preñeces se perdieron para el día 7 de gestación.



**Figura 1.** Curvas de supervivencia embrionaria después del día 28 de gestación en vacas lecheras en lactancia y vaquillonas lecheras primigrávidas en Irlanda y los Estados Unidos. Adaptado de Santos et al. (2004a).

McDougall et al. (2005) estudiaron la preponderancia y los factores de riesgo relacionados con las pérdidas de preñez en vacas lecheras en lactancia alimentadas a pastura en Nueva Zelanda. Un total de 2004 vacas preñadas participaron de un estudio y 128 animales (6,4 %) perdieron la preñez. La tasa de incidencia de pérdida de preñez fue mayor entre las semanas 6 a 10 de gestación que entre las semanas 10 a 14. Vasconcelos et al. (1997) evaluaron la preñez en varios intervalos después de la IA. De las primeras preñeces el día 28 después de la IA, el 89,5 %; 83,8 %; 82,4 %; y 80,9 % permanecieron preñadas los días 42, 56, 70 y 98 de la gestación respectivamente. Santos et al. (2004a) resumieron información de varios experimentos y observaron que el riesgo de pérdida de preñez era mucho mayor al comienzo de la gestación que hacia el final. Entre los días de gestación 30 y 45, se perdieron aproximadamente el 12,8 % de las preñeces. Sin embargo, después del día 45, cuando el intervalo entre los diagnósticos de preñez fue más prolongado que 15 días y se perdieron menos del 11 %. La figura 1 representa curvas de supervivencia de pérdidas fetales en vacas lecheras en lactancia (Santos et al., 2004a). Resulta claro que en las vacas en los Estados Unidos, la tasa de pérdida es mayor durante las etapas tempranas que durante las etapas tardías de la gestación.

En la mayoría de los tambos en los Estados Unidos, alrededor del 10 al 15 % de las preñeces se pierden entre los 40 d de gestación y la parición. Por lo tanto, las pérdidas embrionarias tempranas tienen mayor preponderancia que las tardías que, a su vez, tienen mayor preponderancia que las pérdidas fetales.

## Perdida de preñez temprana

Los cálculos de tasa de fertilización en vacas lecheras en lactancia van desde 55,3 % durante el verano hasta casi el 87,8 % durante los periodos de neutralidad térmicas (Sartori et al., 2002). Sin embargo, las tasas de concepción 27 a 31 d luego de la IA suelen ser menores al 50 % en vacas lecheras en lactancia. Además, cuando se transfieren embriones de 6 a 7 d a vacas lecheras en lactancia, sólo del 35 al 45 % de las vacas continuaban preñadas 22 días más tarde. Por lo tanto, se da una gran pérdida de preñez después de la inseminación y dicha pérdida puede representar hasta el 40 % de los oocitos fertilizados.

### *Calidad del oocito*

La calidad de los gametos femenino y masculino es un factor importante que participa en la tasa de fertilización y en el desarrollo del cigoto recién formado. Estudios diferentes mostraron los efectos negativos de los oocitos de mala calidad sobre la tasa de fertilización, el desarrollo embrionario y la tasa de concepción. La supervivencia embrionaria se reduce si los embriones provienen de oocitos de vacas con folículos de dominancia prolongada, dietas con gosispol o que dan como resultado altas concentraciones de urea y amoníaco en la sangre o la exposición al estrés calórico. Debido a que puede llevar entre 40 y 50 d para que un folículo se desarrolle hasta el estado ovulatorio (Webb et al., 2004), los eventos que ocurren en los meses anteriores a la ovulación pueden influir sobre la fertilización y la supervivencia embrionaria temprana.

### *Folículo persistente*

La ovulación de folículos viejos tiene como resultado oocitos de menor calidad. Revah y Butler (1996) compararon la calidad del complejo *cumulus oophorus* de folículos recuperados el día 13 del ciclo estral (d 0 = ovulación) y los folículos en la etapa de crecimiento recuperados el día 7. El complejo *cumulus oophorus* de folículos de 13 días tenía características degenerativas mientras el complejo *cumulus oophorus* de los folículos de 7 días estaba intacto. La larga exposición del complejo *cumulus oophorus* a concentraciones crecientes de LH provoca una maduración prematura del oocito (Mihm et al., 1999) y tasas de concepción reducidas (Austin et al., 1999). La supervivencia embrionaria temprana se vio comprometida cuando las vacas inseminadas ovularon un folículo persistente en comparación con las vacas que ovularon un folículo en crecimiento (Ahmad et al., 1995). Del mismo modo, a medida que se prolongó el periodo de dominancia, la calidad embrionaria en el día 6 se vio comprometida (Cerri et al., 2005). Estos resultados indican que los factores que provocan la dominancia del folículo ovulatorio pueden comprometer el desarrollo embrionario temprano lo cual probablemente provoque una mayor cantidad de pérdida embrionaria.

### *Estrés calórico*

Las vacas lecheras en lactancia son muy sensibles al estrés calórico. La alta producción de leche está relacionada con la mayor ingesta de alimentos y la tasa metabólica, lo cual compromete los mecanismos de termorregulación de la vaca. Zeron y colaboradores (2001) evaluaron la competencia de desarrollo y la composición de la membrana de los oocitos expuestos al estrés calórico. La exposición a altas temperaturas ambientales provocó una menor producción de estradiol e inhibina en

los folículos y una menor tasa de clivaje y desarrollo hasta el estadio de blastocisto. Los oocitos colectados durante el verano presentaron una morfología empeorada que podría haberse debido a cambios en el perfil de ácidos grasos de la membrana del oocito. A pesar de que el estrés calórico afecta la fertilización, la supervivencia embrionaria y fetal temprana y tardía (Cartmill et al., 2001; Chebel et al., 2004; Sartori et al., 2002), es durante los estadios tempranos de la gestación, desde la fertilización hasta las divisiones celulares iniciales, que las altas temperaturas tienen los efectos más perjudiciales.

En un estudio reciente realizado por Sartori et al. (2002) se demostró que las vacas en lactancia en condiciones de estrés calórico tienen menores tasas de fertilización que las vacas nulíparas y las vacas en lactancia expuestas a temperaturas neutras. Se pensaba que esto estaba relacionado con la calidad de los oocitos porque la cantidad de espermatozoides accesorios era similar entre embriones y oocitos infertilizados. Además, los embriones producidos por vacas en lactancia en climas cálidos fueron de menor calidad que los embriones producidos por vacas en lactancia en temperaturas neutras (Sartori et al., 2002). Drost et al. (1999) demostraron que la transferencia de embriones producidos *in vivo* de vacas expuestas a temperaturas neutras aumentó las tasas de preñez en vacas en condiciones de estrés calórico a comparación de la IA. Esto demuestra que los efectos negativos del estrés calórico pueden comprometer la calidad del oocito, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano, reduciendo así las posibilidades de preñez. Además, los resultados de Drost et al. (1999) indican que es posible superar los efectos negativos de la alta temperatura ambiente y la consecuente alta temperatura corporal sobre la calidad de los oocitos (Sartori et al., 2002).

### *Reconocimiento de preñez*

El día 15 a 17 del ciclo estral, el embrión alongado pasa por un periodo crítico de su desarrollo y se enfrenta con la posibilidad de la regresión luteal y el fin de la preñez debido a la secreción de prostaglandina (**PG**)  $F_{2\alpha}$  desde las células endometriales. Las células mononucleares del trofotodermo en etapas tempranas de desarrollo (15 a 17 días) son responsables de la producción y secreción de interferón Tau (**IFN- $\tau$** ) (Thatcher et al., 2001). El efecto antiluteolítico del IFN- $\tau$  es el resultado de la inhibición de la expresión endometrial de los receptores de oxitocina y probablemente el mecanismo de transducción una vez que la oxitocina se une a su receptor en las células endometriales. De este modo inhiben la liberación episódica de  $PGF_{2\alpha}$  que haría regresar al CL y finalizar la preñez (Demmers et al., 2001). Por lo tanto, el desarrollo comprometido del embrión y el subdesarrollo del trofotodermo son responsables de la pérdida de preñez temprana. Se piensa que esto está mediado por la incapacidad del embrión de suprimir el mecanismo luteolítico durante el periodo de mantenimiento del CL, comprometiendo aún más la implantación del embrión (Thatcher et al., 2001).

### *Enfermedades*

Se ha informado que muchas enfermedades reducen la tasa de concepción lo cual indica una menor fertilización o una mayor pérdida embrionaria temprana y tardía. A pesar de que las enfermedades reducen la fertilidad en bovinos, se desconoce cuál es la etapa de la preñez más afectada por enfermedades actuales o antiguas. Cerri et al. (2006) informaron que las vacas con endometritis subclínica, diagnosticadas por un aumento de neutrófilos en el útero, mostraron tasas de fertilización menores. Resulta claro que la endometritis clínica (McDougall et al., 2006; Galvão et al., 2006a) y subclínica (Galvão et al., 2006a; Gilbert et al., 2005) reducen las tasas de concepción en bovinos y es probable que sea el resultado de supervivencia embrionaria y fertilización reducida.



## **Pérdidas de preñez tardía**

En las vacas primigrávidas, las pérdidas fetales y embrionarias en bovinos lecheros suelen ser bajas y tienen un promedio de 4,2 % (Santos et al., 2004a).

Sin embargo, en vacas lecheras en lactancia, prevalecen las pérdidas de preñez. Las curvas de supervivencia del mantenimiento de la preñez en tres estudios con vacas lecheras en lactancia indican claramente que la tasa de pérdidas de preñez es más pronunciada en los primeros 42 días de gestación en los EE. UU. Sin embargo, resultados de Irlanda indican una tasa de pérdida de preñez similar durante los primeros 80 a 90 días de gestación (Figura 1).

## *Estado de ciclicidad*

Rhodes et al. (2003) indicaron que entre el 11 y el 38 % de las vacas en sistemas de producción de parición durante todo el año siguen siendo anovulatorias a los 50/60 días posparto mientras entre el 13 y el 43 % de las vacas en sistemas de pasturas son anovulatorias antes de comenzar la temporada de servicio. Rutigliano y Santos (2005) evaluaron el estado de ciclicidad en 5.767 vacas lecheras en lactancia durante los primeros 65 d posparto y observaron que las vacas múltiparas tenían 2,1 menos posibilidades de ciclar que las vacas primíparas (81,9 vs 69,5 %;  $P < 0,001$ ). En esa población de vacas Holstein de cinco rodeos lecheros, el 22,5 % de las vacas permanecían anovulatorias el día 60 posparto.

Es interesante notar que aunque las vacas ovularon después de un periodo de anovulación o anestro, la fertilidad fue baja. Estas vacas suelen tener malas tasas de inseminación después de un periodo de espera voluntaria cuando se utilizan sistemas de detección de celo (Gümen et al., 2003). Cuando participaron de un programa de IA a tiempo fijo con GnRH, la mayoría de las vacas anovulatorias experimentaron una ovulación sincronizada pero las tasas de concepción permanecieron bajas (Gümen et al., 2003). La primera fase luteal posparto puede ser de corta duración ( $< 12$  días), generalmente asociada con la falta de exposición previa a la progesterona (Inskeep, 2002) o a cantidades suficientes de estradiol durante el proestro (Mann and Lamming, 2000). Las menores concentraciones plasmáticas de progesterona en el ciclo estral anterior provocó una liberación prematura de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en el ciclo siguiente (Shaham-Albalancy et al., 2001). Por lo tanto, la anovulación presenta un riesgo para lograr y mantener una preñez en bovinos.

Es sabido que la anovulación y el anestro son un factor de alto riesgo para las tasas de concepción (McDougall, 2001; McDougall, 2005; Rhodes et al., 2003), pero es menos conocido el riesgo de pérdidas fetales y embrionarias tardías. Rutigliano y Santos (2005) evaluaron el riesgo de pérdida embrionaria tardía en vacas lecheras en lactancia clasificadas como cíclicas o anovulatorias a los 65 d posparto y sujetas a sincronización de celo u ovulación para la primera IA posparto. Observaron que las vacas anovulatorias tenían 1,3 más posibilidades de perder una preñez que las vacas cíclicas (Tabla 1).

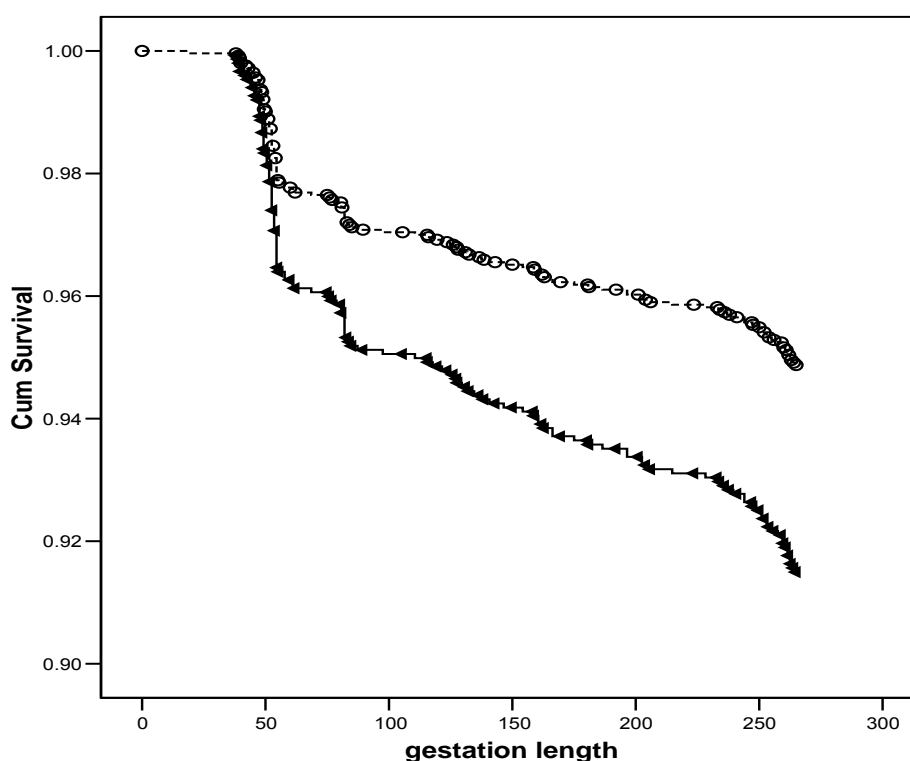
Santos et al. (2004a) revisaron varios estudios con vacas lecheras de alta producción y observaron que el 15,7 y el 26,3 % de las preñeces se perdían en vacas cíclicas y anovulatorias respectivamente. Las vacas anovulatorias tuvieron 2,01 más posibilidades de pérdida de preñez que las vacas cíclicas (OR = 2,01; 95 % intervalo de confianza 1,41; 2,88;  $P < 0,001$ ). De igual modo, en Nueva Zelanda, con vacas lecheras en un sistema de pastura, las vacas clasificadas como anestro al comienzo de la temporada de servicio tuvieron una menor tasa de preñez y mayor riesgo de pérdida de preñez. De hecho, el riesgo de pérdida de preñez aumentó 1,6 veces en anestro comparado con vacas cíclicas (Figura 2). Por lo tanto, se espera

que la reducción de la preponderancia de vacas anovulatorias antes de la primera IA posparto aumente las tasas de concepción y minimice las pérdidas de preñez en bovinos.

**Tabla 1.** El riesgo de pérdida de preñez entre 30 y 58 d de gestación en vacas clasificadas como cíclicas o anovulatorias a los 65 d posparto (Rutigliano and Santos, 2005).

Estado de ciclicidad	Pérdida de preñez	OR Ajustado	Valor P
Cíclica	14,5 (249/1716)	Referente	0,09
Anovulatoria	18,6 (63/339)	1,30 (0,95; 1,79)	

<sup>1</sup> OR = odds ratio.



**Figura 2.** La supervivencia de vacas consideradas cíclicas (círculo abierto) o en anestro (triángulo cerrado) a los 7 días antes de comenzar la temporada de servicio (McDougall et al., 2005).

### *Producción de leche*

El desempeño reproductivo de los bovinos lecheros ha disminuido en América del Norte, Europa e Israel (Royal et al., 2000; Lucy, 2001; Zeron et al., 2001; López-Gatius, 2003) y esto ha sido atribuido

parcialmente al énfasis en la alta producción de leche por vaca (Royal et al., 2000). La mayor producción de leche está acompañada por aumentos en la ingesta de alimentos y tasa metabólica general en vacas lecheras. La mayor ingesta de alimentos relacionada con la producción de leche ha estado asociada con un mayor flujo sanguíneo a través del hígado y una mayor degradación de progesterona y estradiol.

Sangsritavong et al.(2002) demostraron que la ingesta de alimentos con aumentos agudos del flujo sanguíneo en el hígado y la reducción de concentraciones periféricas de progesterona y estradiol. Concentraciones subóptimas de estradiol (Mann and Lamming, 2000) y progesterona (Mann et al., 1999) pueden afectar la fisiología reproductiva de la vaca que afecta negativamente la fertilidad. La mayor producción de leche también produce un mayor estado catabólico durante las primeras semanas de lactancia. Una disminución del balance energético durante el posparto temprano puede demorar la reanudación de la ciclicidad y afectar negativamente la fertilidad. Snijders et al.(2002) observaron que la tasa de clivaje y la cantidad de oocitos que se desarrollan hasta blastocistos se redujeron cuando provenían de vacas de alto mérito genético comparados con los de vacas de mérito medio. Sin embargo, el mismo estudio indicó que la producción de leche de 120 días no estuvo relacionada con la tasa de clivaje y el desarrollo de oocitos cultivados *in vitro*.

Recientemente resumimos nueve estudios en los cuales se evaluaron la producción de leche durante los primeros 90 d posparto y la supervivencia embrionaria (Rutigliano and Santos, 2005). Las vacas fueron divididas en categorías por cuartiles de producción de leche según pariciones (primíparas y múltiparas) y se evaluó la pérdida embrionaria tardía entre los días 30 y 58 de la gestación. La pérdida de preñez no difirió según el nivel de producción de leche (Tabla 2).

**Tabla 2.** Asociación entre la producción de leche durante los primeros 90 d posparto y las pérdidas de preñez entre los 30 y los 58 d de gestación (Rutigliano and Santos, 2005).

Cuartiles de producción de leche	Pérdida de preñez	Odds ratio ajustado y CI del 95 %
Q1; 34,5 kg/d	14,9 (73/491)	Referente
Q2; 41,4 kg/d	13,7 (73/533)	0,91 (0,64; 1,30)
Q3; 45,7 kg/d	14,4 (79/550)	0,94 (0,66; 1,35)
Q4; 51,6 kg/d	18,1 (87/481)	1,20 (0,84; 1,72)

**Tabla 3.** Asociación entre los cambios en el escore de condición corporal (BCS escala de 1-5) durante los primeros 70 d posparto y las pérdidas de preñez entre los 30 y los 58 d de gestación (Rutigliano and Santos, 2005).

Cambios de BCS	Pérdida de preñez	Odds ratio ajustado y CI del 95 %	Valor P
Perdieron 1 unidad o más	22,5 (29/129)	Referente	0,01
Perdieron < 1 unidad	16,8 (176/1047)	0,66 (0,41; 1,04)	
No hubo cambios	12,2 (107/879)	0,50 (0,30, 0,81)	

### *Escore de condición corporal*

López-Gatius et al.(2002) indicaron que una caída de 1 unidad de escore de condición corporal en una escala de 1-5 desde el parto hasta los 30 días posparto aumentó el riesgo de pérdida de preñez 2,41 veces. De igual modo, Silke et al.(2002) observaron que las vacas que perdieron 1 unidad de BCS entre los días 28 y 56 de la gestación tuvieron 3,2 veces más riesgo de pérdida de preñez en el mismo periodo. Observamos resultados similares en vacas de alta producción lechera en los EE. UU. (Rutigliano and Santos, 2005). Las vacas que perdieron más de 1 unidad de BCS durante los primeros 70 d posparto tuvieron más posibilidades de pérdida embrionaria que aquellas que perdieron menos de 1 unidad (Tabla 3).

Estos datos indican que el estado metabólico de la vaca, según lo reflejado en el BCS, afecta la supervivencia fetal y embrionaria. Por lo tanto, se espera que los programas de salud y nutrición durante la gestación tardía y la lactancia temprana que minimizan la movilización de los tejidos mejores el mantenimiento de la preñez en vacas lecheras en lactancia.

### *Mastitis*

La mastitis bacteriana puede ser causada por organismos gram-negativos o gram-positivos. Los primeros liberan endotoxinas de sus paredes celulares que contienen lipopolisacáridos y pueden inducir una liberación endógena de PGF<sub>2α</sub>. Similar a la gram-negativa, la bacteria gram-positiva puede provocar respuestas inflamatorias, pirexia y *shock* séptico. Se sabe que la mastitis, ya sea clínica o subclínica, está asociada con menores tasas de concepción bovinos lecheros (Schrack et al., 2001). Muchos estudios epidemiológicos indican una fuerte relación entre la mastitis y el riesgo de pérdida de preñez en vacas lecheras en lactancia.

Risco et al.(1999) evaluaron el riesgo de pérdida fetal en 2087 vacas con diagnóstico de preñez. Los autores observaron durante el periodo de estudio 127 abortos y 60 casos de mastitis clínica. Después de evaluar el riesgo de aborto, llegaron a la conclusión de que las vacas con un diagnóstico de mastitis clínica durante los primeros 45 d de gestación tuvieron un riesgo 2,7 (95 % intervalo de confianza = 1,3 a 5,6) veces mayor de aborto dentro de los próximos 90 d de gestación que los animales sin mastitis en el mismo rodeo. Santos et al.(2004b) demostraron que los animales que desarrollan mastitis antes de la IA, desde la IA hasta el diagnóstico de preñez y después del diagnóstico de preñez tuvieron una mayor incidencia de aborto que las vacas que no desarrollaron mastitis durante la lactancia.

De igual modo, Chebel et al.(2004) observaron que la mastitis clínica entre el diagnóstico de preñez y la reconfirmación estuvo relacionada con un aumento de la pérdida embrionaria tardía ( $P = 0,02$ ). Las

vacas con mastitis clínica tuvieron 2,80 (intervalo de confianza de 95 %:1,16; 6,78) más posibilidades de perder las preñeces que aquellas que no tuvieron mastitis. En sistemas de pastura, la mastitis clínica también estuvo asociada con el riesgo de pérdida de preñez (McDougall et al., 2005). Por lo tanto, resulta claro que la mastitis clínica está relacionada con un aumento de riesgo de pérdida de preñez, aunque resulta menos claro si se trata de una relación de causa directa o que los mecanismos subyacentes que llevan a la mastitis también afectan el mantenimiento de la preñez en bovinos.

**Tabla 4.** Riesgo de pérdida de preñez entre los 30 y 58 d de gestación en vacas inseminadas luego de la IA a tiempo fijo o sincronización de celo (Rutigliano and Santos, 2005).

Método de IA	Pérdida de preñez	OR <sup>1</sup> Ajustado	Valor P
IA a tiempo fijo	15,2 (227/1493)	Referente	0.99
Celo	15,1 (85/562)	1,00 (0,75; 1,33)	

<sup>1</sup> OR = odds ratio

### *Programas de sincronización*

La baja tasa de detección de celo actual en tambos comerciales ha llevado al uso de protocolos de sincronización de la ovulación y del celo. Estos programas se basan en combinaciones de hormonas como la GnRH y la PGF<sub>2α</sub> en el caso de protocolos Ovsynch y CoSynch, que sincronizan la emergencia de una nueva onda folicular, causan la regresión luteal y sincronizan el desarrollo final y la ovulación del folículo dominante. Otros programas de sincronización de celo u ovulación también podrían incorporar el uso de dispositivos intravaginales con progesterona. Se ha sugerido que las pérdidas de preñez puedan haber aumentado con el uso de programas de sincronización de la ovulación (Lucy, 2001). Muchos estudios comparan las pérdidas embrionarias tardías en vacas lecheras en lactancia cuando se las insemina luego de una ovulación o un celo sincronizado. Las vacas en lactancia inseminadas con un protocolo de IA a tiempo fijo (Ovsynch) tuvieron pérdidas de preñez similares entre el día 31 y 45 después de la IA comparación de vacas inseminadas después del celo espontáneo (10,4 vs. 13,2 %; Chebel et al., 2004). Cuando Santos et al. (2004a) resumieron seis estudios, sólo uno mostró una tendencia a aumentar la pérdida de preñez en vacas inseminadas después de la IA a tiempo fijo a comparación del tratamiento de sincronización de celo (Cartmill et al., 2001). Recientemente, Rutigliano y Santos (2005) evaluaron el riesgo de pérdidas embrionarias tardías en vacas lecheras en lactancia inseminadas al momento de la detección de celo sincronizado o con IA a tiempo fijo. Los autores observaron una pérdida de preñez similar entre los dos métodos de inseminación (Tabla 4).

Es interesante mencionar que cuando se inseminaron las vacas luego de signos secundarios de celo con detectores de monta o luego de la IA a tiempo fijo después de un solo tratamiento con PGF<sub>2α</sub>, el riesgo de aborto aumentó 1,7 veces a comparación de vacas inseminadas después de detectar celo por observación visual de la actividad de monta (Risco et al., 1999). Por lo tanto, cuando están bien implementados, es poco probable que los protocolos de sincronización aumenten el riesgo de pérdidas de preñez en vacas lecheras.

## Gosipol

La semilla de algodón es muy utilizada en dietas de vacas lecheras en lactancia como fuente de proteína, grasa y fibra. La semilla de algodón contiene gosipol, un compuesto polifenólico producido por las glándulas de pigmento de la planta de algodón que pueden ser tóxicas para las células de mamíferos. Muchos estudios han demostrado que el gosipol afecta *in vivo* e *in vitro* la calidad y el desarrollo del embrión (Coscioni et al., 2003; Hernandez-Ceron et al., 2005; Villasenor et al., 2003).

Cuando las vacas en lactancia recibieron dietas con diferentes contenidos de gosipol libre, las que recibieron un mayor contenido de gosipol tuvieron menores tasas de concepción y más pérdidas fetales (Santos et al., 2003). La transferencia de embriones a vacas lecheras en lactancia de vaquillonas donantes alimentadas con gosipol dio menores tasas de preñez si se la compara con la transferencia de embriones de vaquillonas que no recibieron gosipol (Galvão et al., 2006b). Por lo tanto, las dietas que aumentan las concentraciones plasmáticas de gosipol presentan un riesgo para lograr y mantener la preñez de vacas lecheras.

## Conclusiones

Resulta claro que las vacas lecheras de alta producción en lactancia presentan importantes pérdidas de preñez desde la fertilización hasta el parto de un ternero vivo. En la mayoría de los establecimientos, los productores y los veterinarios sólo reconocen las pérdidas fetales que ocurren después del día 40 ó 50 de la gestación. En la mayoría de los casos, no pueden determinarse los agentes causales. Sin embargo, la mayoría de las pérdidas de preñez ocurren durante las etapas embrionarias del desarrollo. Entre los muchos factores que aumentan el riesgo de pérdidas de preñez se encuentran los oocitos de mala calidad debido a estrés proveniente de alta temperatura corporal o dominancia folicular prolongada; enfermedades; condición metabólica de la vaca y consecuentes cambios de BCS lo cual provoca una demora en la reanudación de la ciclicidad ovárica y sustancias tóxicas para el embrión como el gosipol.

## Bibliografía citada

- Ahmad, N., F.N. Schrick, R.L. Butcher, and E.K. Inskeep. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52:1129-1135.
- Austin, E.J., M. Mihm, M.P. Ryan, D.H. Williams, and J.F. Roche. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77:2219-2226.
- Bertolini M., S.W. Beam, H. Shim, L.R. Bertolini, A.L. Moyer, T.R. Famula, and G.B. Anderson. 2002. Growth, development, and gene expression by *in vivo*- and *in vitro*-produced day 7 and 16 bovine embryos. *Mol. Rep. Dev.* 63:318-328.
- Cartmill, J.A., S.Z. El-Zarkouny, B.A. Hensley, T.G. Rozell, J.F. Smith, and J.S. Stevenson. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *J. Dairy Sci.* 84:799-806.
- Cerri, R.L.A., H.M. Rutigliano, R.G.S. Bruno, R.C. Chebel, and J.E.P. Santos. 2005. Effect of artificial insemination (AI) protocol on fertilization and embryo quality in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl. 1):86(Abstr.).
- Cerri, R.L.A., H.M. Rutigliano, F.S. Lima, D.S. Brito, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2006. Effect of source of supplemental Se on embryo quality and uterine health in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):53(Abstr.).

- Chebel, R. C., J.E.P. Santos, J.P. Reynolds, R.L.A. Cerri, S. O. Juchem, and M. Overton. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 84:239–255.
- Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Chebel, J.E.P. Santos, J.H. Kirk, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo quality and development in superovulated Holstein dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):240(Abstr.).
- Drost, M., J.D. Ambrose, M-J. Thatcher, C.K. Cantrell, K.E. Wolfsdorf, J.F. Hansen, and W.W. Thatcher. 1999. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. *Theriogenology* 52:1161-1167.
- Demmers, K.J., K. Derecka, and A. Flint. 2001. Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction* 121:41-49.
- Galvão, K.N., L.F. Greco, J.M. Vilela, and J.E.P. Santos. 2006a. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):9(Abstr.).
- Galvão, K.N., J.E. Santos, A.C. Coscioni, S.O. Juchem, R.C. Chebel, W.M. Sischo, and M. Villaseñor. 2006b. Embryo survival from gossypol-fed heifers after transfer to lactating cows treated with human chorionic gonadotropin. *J. Dairy Sci.* 89:2056-2064.
- Gilbert, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, and M. Frajblat M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 64:1879-1888.
- Gümen, A., J.N. Guenther, and M.C. Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:3184-3194.
- Hernández-Cerón, J. F.D. Jousan, P. Soto, and P.J. Hansen. 2005. Timing of inhibitory actions of gossypol on cultured bovine embryos. *J. Dairy Sci.* 88:922-928.
- Humbolt, P. 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 56:1417-1433.
- Inskeep, E.K. 2002. Factors that affect embryo survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In: Fields, M.J., Sand, R.S., Yelich, J.V. (Eds.), *Factors affecting calf crop: biotechnology of reproduction.* CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 255-279.
- López-Gatius, F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 60:89-99.
- López-Gatius, F., P. Santolaria, J. Yániz, J. Rutllant, and M. López-Béjar, M., 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Anim. Reprod. Sci.* 57:1251-1261.
- Lucy M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Mann, G.E., G.E. Lamming, R.S. Robinson, and D.C. Wathes. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:317-328.
- Mann, G.E., and G.E. Lamming. 2000. The role of sub-optimal preovulatory estradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short estrus cycle in the cow. *Anim. Reprod. Fert.* 64:171-180.
- McDougall, S., R. Macaulay, and C. Compton. 2006. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* (in press).
- McDougall, S., F.M. Rhodes, and G.A. Verkerk. 2005. Pregnancy loss in dairy cattle in the Waikato region of New Zealand. *N. Zeal. Vet. J.* 53:279-287.
- McDougall, S. 2001. Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *N. Zeal. Vet. J.* 49:60-67.
- Mihm, M., N. Curran, P. Hyttel, P.G. Knight, M.P. Boland, and J.F. Roche. 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid estradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 116:293-304.

- Revah, I., and W.R. Butler. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.* 106:39-47.
- Risco, C.A., G.A. Donovan, and J. Hernandez. 1999. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1684-1689.
- Rhodes, F.M., S. McDougall, C.R. Burke, G.A. Verkerk, and K.L. Macmillan. 2003. Invited review: Treatment of cows with extended postpartum anestrous interval. *J. Dairy Sci.* 86:1876-1894.
- Royal, M., G.E. Mann, and A.P. Flint. 2000. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet. J.* 160:53-60.
- Rutigliano and J.E.P. Santos. 2005. Interrelationships among parity, body condition score (BCS), milk yield, AI protocol, and cyclicity with embryonic survival in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl. 1): 39 (Abstr.).
- Sangsritavong, S., D.K. Combs, R. Sartori, L.E. Amentano, and M.C. Wiltbank. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 $\beta$  in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:2831-2842.
- Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and C.H. Holmberg. 2003. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: plasma gossypol, health, and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 86:892-905.
- Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, and K.N. Galvão. 2004a. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:513-535.
- Santos, J.E.P., R.L.A. Cerri, M.A. Ballou, G.E. Higginbotham, and J.H. Kirk. 2004b. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 80:31-45.
- Sartori, R., R. Sartor-Bergfelt, S.A. Mertens, J.N. Guenther, J.J. Parrish, and M.C. Wiltbank. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85:2803-2812.
- Schrick, F.N., M.E. Hockett, A.M. Saxton, M.J. Lewis, H.H. Dowlen, and S.P. Oliver. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84:1407-1412.
- Shaham-Albalancy, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Rosenberg, and D. Wolfenson. 2001. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  secretion in the subsequent oestrous cycle. *Reproduction.* 122:643-648.
- Silke, V., M.G. Diskin, D.A. Kenny, M.P. Boland, P. Dillon, J.F. Mee, and J.M. Sreenan. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic losses in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 71:1-12.
- Snijders, S.E., P. Dillon, D. O'Callaghan, and M.P. Boland. 2000. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on *in vitro* oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* 53:981-989.
- Thatcher, W.W., A. Guzeloglu, R. Mattos, M. Binelli, T.R. Hansen, and J.K. Pru. 2001. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology* 56:1435-1450.
- Thurmond, M. C., J.P. Picanso, and C.M. Jameson. 1990. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:1305-1312.
- Vasconcelos, J.L.M., R.W. Silcox, J.A. Lacerda, J.R. Pursley, and M.C. Wiltbank. 1997. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 56 (Suppl. 1):140(Abstr.).
- Villaseñor, M., A.C. Coscioni, K.N. Galvão, S.O. Juchem, J.E.P. Santos, and B. Puschner. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo development and viability *in vivo* and *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):240(Abstr.).
- Zeron, Y., A. Ocheretny, O. Kedar, A. Borochoy, D. Sklan, and A. Arav. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction* 121:447-454.



Webb, R., P.C. Garnsworthy, J.G. Gong, and D.G. Armstrong. 2004. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *J. Anim Sci.* 82(E-Suppl):E63-E74.

## SISTEMAS INTEGRADOS DE PRODUCCIÓN DE EMBRIONES CON SEXO PREDETERMINADO

---

**Richard Remillard DVM,**

IND Lifetech Inc., Delta, BC, Canadá

### **INTRODUCCIÓN**

Poder predeterminar el sexo de la progenie tiene grandes ventajas tanto para la industria de la carne como para la lechera. Desde fines de la década del '80 se han investigado dos enfoques principales; el primero que trataré aquí, se basa en el contenido de ADN diferente del espermatozoide femenino y masculino. El segundo es un enfoque inmunológico, pero hasta el momento no ha mostrado buenos resultados.

De acuerdo con el sitio web de XY Inc, el uso de un citómetro de flujo para separar los espermatozoides se utilizó por primera vez a fines de la década del '80, pero no produjo espermatozoides viables después que habían sido seleccionados. El primer ternero en el mundo con sexo seleccionado a través del procedimiento de FIV, nació en 1992. Luego, pasaron varios años hasta que se produjera el primer ternero con sexo seleccionado por inseminación artificial con semen fresco. Finalmente, en 1999 se produjo el primer ternero con sexo seleccionado en el mundo, utilizando inseminación artificial con semen seleccionado congelado. Hasta el momento, se ha utilizado la tecnología para predeterminar el sexo de la progenie en muchas especies diferentes, como por ejemplo: caballos, delfines, perros, ovejas, cabras, etc.

### **DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA**

Empezaré diciendo que nuestro acuerdo de licencia firmado con XY Inc incluye una “cláusula de confidencialidad” la cual no me permite dar muchos detalles con respecto a la tecnología. Describiré la parte de la tecnología a la que puede acceder el público y también hablaré sobre nuestra experiencia con respecto a su utilización durante aproximadamente tres años.

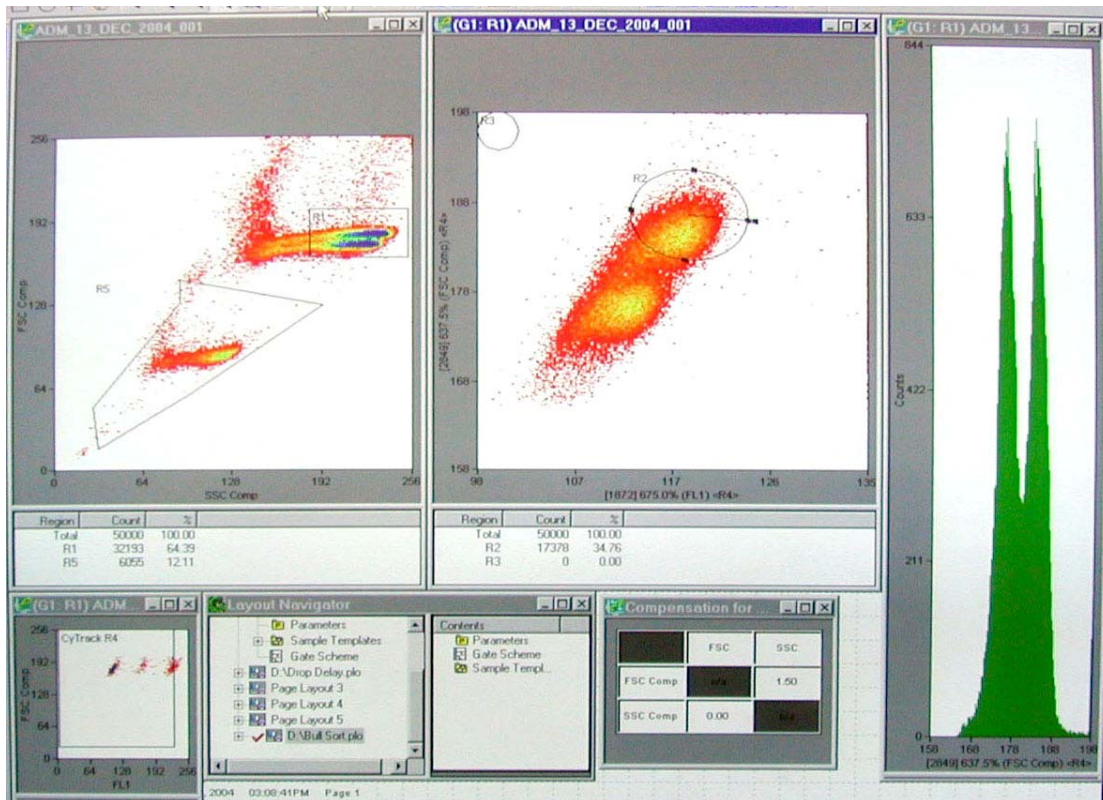
La tecnología de XY Inc está basada en la diferencia en el contenido de ADN entre el espermatozoide masculino (Y) y el femenino (X). El espermatozoide femenino (X) contiene 3,8 % más de ADN en bovinos y esto es diferente para cada especie. Se puede utilizar únicamente semen fresco para

el procedimiento de selección y se necesita un mínimo de mil millones de células por ml para lograr buenos resultados.

Se debe teñir el semen utilizando Hoechst 33342 en una concentración específica durante 45 minutos, lo cual se denomina procedimiento de “cocina”. (Consideramos que el semen de algunos toros se tiñó mejor que otro, lo cual afectó la velocidad y pureza de la población seleccionada). El semen teñido se carga en el clasificador (MoFlo) y el Bovine Sheath Fluid (fluido bovino) presurizado se utiliza para pasar el semen a través del clasificador. El nivel de presión puede afectar la velocidad del proceso de clasificación pero esto también puede dañar el espermatozoide cuando se utiliza un nivel muy alto. (La investigación de XY Inc muestra que una presión de 40 PSI es la óptima para este proceso.)

Se utiliza un inyector patentado para orientar el espermatozoide a través de la punta y un cristal piezoeléctrico rompe el flujo en gotas de 100 um de diámetro. En promedio, el 25 % de las gotas contienen un espermatozoide y algunas veces más de uno, lo cual se denomina tasa de coincidencia (promedio entre 5 % y 6 %).

Se utiliza una luz de láser para excitar el espermatozoide teñido y se colocan 2 sensores a una distancia de 90 grados. La cabeza del espermatozoide tiene forma oval. Para poder determinar el contenido de ADN, la vista frontal de la forma oval debe enfrentar uno de los sensores. El espermatozoide femenino (X) que contiene más ADN, tendrá un índice de reflexión superior al del espermatozoide masculino (Y) y se pueden ver dos poblaciones diferentes de células en la pantalla, como se muestra en la figura 1.



**Figura 1:** Las dos poblaciones del espermatozoide (X & Y) aparecen en la pantalla. La población femenina (X) se encuentra en la parte superior derecha de la pantalla media (en el círculo).

Se aplica una carga en el momento en que el espermatozoide alcanza la última gota adherida. Las gotas cargadas se desvían cuando pasan entre las placas cargadas y luego se recolectan. Las gotas que no contienen el sexo deseado se dirigen directamente a dispositivo de recolección de desperdicios. El clasificador también puede diferenciar entre el espermatozoide vivo y muerto.

Según la calidad del proceso de tñido y el alineamiento de la máquina, se puede aumentar la velocidad del proceso hasta 30.000 gotas por segundo lo cual significa que la computadora tomará 30.000 decisiones por segundo. En promedio, esto resultará en la selección de 4.000 a 5.000 espermatozoides femeninos vivos por segundo o entre 14 y 18 millones de espermatozoides por hora. Es fascinante mirar estos números pero también es decepcionante cuando uno considera que una dosis normal de semen contiene 15 millones de espermatozoides. Esto significa que se produce una dosis por hora, si utilizamos la misma concentración con el semen sexado. Es por eso que la investigación del Dr. Seidel de Colorado State University estudió la concentración de espermatozoides por dosis para inseminación artificial en vaquillonas vírgenes. Los resultados mostraron que una concentración de 2 millones de espermatozoides por dosis da una tasa de preñez superior al 50% en vaquillonas vírgenes.

La concentración estándar del semen sexado por dosis en la industria es de 2 millones, lo que tiene como resultado la producción de un promedio de 7 dosis por hora.

La limitación principal de la tecnología de XY es la velocidad de clasificación y se debe mejorar si se desea reducir el costo de producción. Esto se puede realizar en dos formas diferentes: aumentando la tasa de orientación del espermatozoide (inyector) y/o aumentando la cantidad de gotas que contienen espermatozoides.

## **NUESTRA EXPERIENCIA EN IND LIFETECH INC**

### **1) Variación entre toros**

Aunque el toro produzca un semen de buena calidad, no significa que también producirá un semen seleccionado de buena calidad. Antes de seleccionar un toro para agregar a la lista de producción normal, evaluamos primero 5 eyaculados de ese toro.

El primer paso es evaluar la capacidad de tñido del espermatozoide. Algunos toros necesitan una concentración superior de tñición para lograr una buena diferenciación entre espermatozoides femeninos y masculinos pero una cantidad excesiva de tñición puede disminuir la viabilidad del espermatozoide. Si un toro necesita más de la cantidad máxima de tñición, se lo rechaza.

El segundo paso es evaluar la tasa de supervivencia después del proceso de sexado, congelado y descongelado. El semen de algunos toros se tñe bien pero solamente un porcentaje bajo de sus espermatozoides sobreviven el proceso entero. Un mal momento para evaluar la motilidad del espermatozoide es justo después de proceso de clasificación, ya que parecen muertos. El espermatozoide atraviesa el sistema a una velocidad de 80 km por hora y posteriormente parecen “conmocionados” durante varias horas. En el tercer paso, se evalúa la capacidad de fertilización del semen sexado en nuestros laboratorios de FIV. Encontramos que entre el 30 % y el 35 % de los toros no es óptimo para la producción de semen sexado principalmente porque su semen mostró una tasa de supervivencia escasa o una tasa de producción embrionaria escasa.

Por otro lado, no se ha observado mucha variación entre los eyaculados del mismo toro. La tabla 1 a continuación, muestra la tasa de producción embrionaria de 5 eyaculados de 5 toros. (Los oocitos han sido recolectados de ovarios de matadero.)

Nuestros resultados mostraron que se pueden producir entre el 60 % y 70 % de la cantidad de embriones viables producidos con el semen no sexado del mismo toro. Según experiencias anteriores, se produjo un promedio entre el 25 % y 30 % de embriones viables utilizando semen no sexado de diferentes toros a diferencia de entre el 15 % y 25 % con semen sexado. También se encontró una variación superior utilizando semen sexado de distintos toros, que utilizando semen no sexado de los mismos.

La tasa de producción embrionaria no se diferenció considerablemente si se comparan los resultados de los diferentes lotes del mismo toro pero difiere ampliamente si se comparan los lotes de diferentes toros. El toro C fue constantemente más bajo que el promedio y fue retirado de la lista de producción de embriones. El año pasado, eliminamos a un toro porque también era inferior al promedio. Lo evaluamos nuevamente después de seis meses y obtuvimos buenos resultados, esto significa que la calidad de semen sexado puede cambiar de acuerdo con la edad del toro, la temporada, la salud del toro y la frecuencia de la recolección, etc.

Toro	Lote n.º 1	Lote n.º 2	Lote n.º 3	Lote n.º 4	Lote n.º 5
A	13,1 %	12,0 %	13,5 %	11,6 %	12,6 %
B	20,6 %	20,2 %	19,3 %	21,5 %	20,5 %
C	9,7 %	7,9 %	9,8 %	10,2 %	10,4 %
D	16,0 %	12,8 %	13,1 %	14,4 %	15,6 %
E	23,8 %	24,5 %	23,5 %	25,2 %	24,7 %

**Tabla 1:** La tasa de producción de embriones FIV para cinco (5) lotes de semen sexado de cinco (5) toros.

## 2) Control de calidad

Utilizamos 2 dosis de cada lote de semen congelado para nuestro control de calidad (CC). Evaluamos tres aspectos diferentes del semen sexado.

- a) La motilidad posterior al descongelamiento del semen congelado debe estar, al menos, entre el 35 % y 40 %.

b) La pureza del semen debe ser superior al 85 %. Nuestro objetivo es producir semen sexado con más del 90 % de pureza. Para evaluar la pureza del semen, lo teñimos y pasamos por un clasificador en el que un programa específico evalúa la pureza de la población femenina en la muestra.

c) Muchos metros de tubos y muchas soluciones diferentes participan en el proceso, lo cual aumenta el riesgo de contaminación.

Cultivamos el semen durante 72 horas en Agar para certificar que el semen sexado esté “libre de contaminación”.

Según nuestra experiencia, entre el 12 % y el 15 % del semen sexado no pasó el control de calidad y el semen tuvo que ser eliminado. Esto es una pérdida de tiempo y dinero. Diseñamos un procedimiento de lavado estricto para evitar la contaminación y también para evitar la contaminación “genética” cuando sexamos semen de un toro diferente. Se utiliza una solución denominada FloClean (Chata, Colorado, EE.UU.) para lavar y se enjuaga con un nuevo lote de Bovine Sheath Fluid durante (15) minutos.

### **3) Experiencia de campo con Inseminación Artificial (IA)**

Entre noviembre de 2005 y abril de 2006, realizamos una experiencia de campo en China en el Beijing Dairy Center en 26 tambos, incluyendo más de 2.000 dosis de semen sexado recolectado de 4 toros distintos. (Antes de comenzar esta experiencia de campo, presenté un seminario sobre cómo utilizar el semen sexado para todos los técnicos de IA involucrados en la experiencia de campo. Todos tenían un mínimo de 10 años de experiencia en IA). El semen no sexado sobrevive entre 24 y 30 horas en el tracto uterino, en comparación con el semen sexado que sobrevive un periodo estimado de entre 12 y 18 horas. Por lo tanto, recomendé inseminar entre 6 y 8 horas después que el semen no sexado. Mi teoría era acercarme al momento de la ovulación. Además, el semen se depositó en el cuerpo del útero, en lugar de la punta del mismo, para evitar la excesiva manipulación del útero y, por lo tanto, disminuir la tasa de preñez como se muestra en una experiencia de campo sin publicar de John Schenk de XY Inc. (Encontró en su experiencia de campo de más de 4.000 inseminaciones con semen sexado, que el depósito de semen en la punta del útero disminuye la tasa de preñez en todos los casos, excepto los que fueron realizados por un técnico de TE (transferencia embrionaria) altamente calificado).

Los resultados obtenidos de esa experiencia de campo se muestran en la tabla n.º 2. Observamos una gran variación en la tasa de preñez entre diferentes grupos de tambos. La mayor tasa de preñez que se encontró en un tambo fue del 68 % y la mínima del 22 %. El semen sexado de 4 toros diferentes fue distribuido equitativamente entre los cuatro grupos y no explica la variación entre las tasas de preñez. La capacidad del técnico para realizar la inseminación, combinada con la calidad de la detección de celo, podrían explicar estos resultados. Como se mencionó anteriormente, se requiere una buena detección del celo para maximizar la tasa de preñez, lo que permite predecir el tiempo de ovulación y por lo tanto inseminar las vaquillonas durante ese periodo corto de tiempo. No recomiendo utilizar semen sexado para un “programa a tiempo fijo” sin una buena detección de celo.

El manejo de las vaquillonas parece ser más importante con semen sexado que con el semen no sexado. La tasa de preñez para los 4 grupos que utilizaban semen no sexado fue de 65 %, 56 %, 56 %, y 50 % respectivamente. La tasa de preñez con semen sexado fue igual o ligeramente inferior en los grupos (grupo 1, grupo 2 y grupo 3) pero significativamente inferior para el grupo 4 con escaso manejo.

Grupo	IA (Nb)	Preñadas (Nb)	Tasa de preñez (%)
1	343	229	66,7
2	337	185	55
3	494	234	47,3
4	430	155	36
Total	1604	803	50

**Tabla 2:** Tasas de preñez para vaquillonas vírgenes con semen sexado de 4 toros obtenido en el Beijing Dairy Centre, China, durante el periodo de noviembre de 2005 hasta abril de 2006.

También comparamos la cantidad de inseminaciones y la cantidad de dosis utilizadas en vaquillonas y vacas. El primer grupo fue inseminado una vez con una dosis de semen sexado (1\*1). El segundo grupo fue inseminado una vez con dos dosis de semen sexado (1\*2) y el tercer grupo fue inseminado dos veces con intervalos de 12 horas utilizando una dosis de semen sexado para cada inseminación (2\*1).

En el caso de las vaquillonas no observamos una diferencia importante en la tasa de preñez entre los tres grupos (48 %, 54 %, y 56 %). En el caso de las vacas, aunque hubiésemos tenido un grupo más reducido, podríamos observar un indicio como para recomendar dos inseminaciones con intervalos de 12 horas (32 %, 28 %, y 45 %). No observamos ningún aumento en la tasa de preñez utilizando dos dosis en una inseminación.

IA	Dosis /IA	Tipo	Cantidad	Preñadas	Tasa de preñez
1	1	Vaca	139	44	32 %
1	1	Vaquillona	749	361	48 %
1	2	Vaca	79	22	28 %
1	2	Vaquillona	263	142	54 %
2	1	Vaca	11	5	45 %
2	1	Vaquillona	96	54	56 %
Total		Vaca	229	71	31 %
		Vaquillona	1108	557	50 %

**Tabla 3:** La tasa de preñez en las vaquillonas y vacas para las que se utilizó una o dos dosis de semen sexado y/o una o dos inseminaciones. Beijing Dairy Center, China, noviembre de 2005 hasta abril de 2006.

#### 4) Producción de embriones por FIV

Los embriones por FIV se producen de los ovarios de matadero. Nuestros empleados recolectan los ovarios de las vacas Holstein blancas y negras. Se colocan los ovarios en una solución salina que contienen antibióticos y se mantienen a una temperatura entre 30° C y 35° C. Se envían los ovarios al laboratorio de FIV dos veces al día. Antes de que se aspiren los oocitos, utilizando una jeringa y una aguja de 18 G, se lavan tres veces con solución salina nueva. Se examinan los oocitos recolectados y solamente se seleccionan los que tienen más de 3 capas de células de cúmulus. Todos los oocitos se procesan en grupo (100 por placa) sin identificar la donante.

Después de un periodo de maduración de 20 horas en M199, un medio que contiene FSH, LH y estradiol, se lavan los oocitos tres veces en un medio de fertilización y se fertilizan con semen sexado durante un periodo de entre 22 y 24 horas a una concentración de 3 M de espermatozoides vivos por cada 400 oocitos. Luego, se somete a los oocitos a un agitador (vortex) para eliminar las células de cúmulus y se colocan en un medio de cultivo. Se utiliza el medio de SOF (solución orgánica soluble) que contiene BSA (albúmina sérica bovina), y se colocan 100 cigotos fertilizados en una placa de 500 ul. Al cuarto día, se seleccionan los embriones con 8 células o más y se colocan en un medio de cultivo nuevo.

Al séptimo y octavo día, solamente se congelan los blastocistos utilizando el protocolo de vitrificación que utiliza las pajuelas OPS (pajuelas abiertas y estiradas) como lo describe Gabor Vajta (IETS 2006). Las pajuelas OPS (pajuelas abiertas y estiradas) se colocan un etiquetado previo de 0.5 ml y se sellan para exportar.

Actualmente contamos con 3 laboratorios de FIV y tenemos la capacidad de producir más de 150.000 embriones por año. En 2004, implementamos el semen sexado en nuestro procedimiento de FIV para reducir la cantidad de embriones machos y obtener más del 90 % de embriones hembras.

#### 5) Mercado chino

Durante los últimos cinco años, el gobierno Chino invirtió mucho dinero en el desarrollo de la industria láctea para aumentar el estado de salud de la población china, especialmente la población joven. China importaba animales vivos de Australia y Nueva Zelanda principalmente por razones económicas. Algunas empresas de lácteos consolidadas, con un alto promedio de producción de leche por vaca, han importado embriones *in vivo*, de donantes seleccionadas, de muchos países distintos.

En IND Lifetech, nuestra estrategia es trabajar con las nuevas empresas que planifican establecer tambos grandes que incluyan miles de vacas. La producción promedio de leche por vaca por año en China es de aproximadamente 3.000 Kg. en comparación con 9.700 Kg. en Canadá. Esta es la razón por la que recolectamos nuestros ovarios en el matadero. La producción masiva de embriones por FIV es la forma más barata de producirlos.

El conocimiento del veterinario chino con respecto a los embriones por FIV es bastante limitado, por lo que hemos decidido vender progenie viva en lugar de embriones. En 2002, creamos un tambo que podía albergar a 5.000 receptoras. Capacitamos a un grupo de veterinarios y técnicos para realizar la sincronización de las receptoras, la detección del celo, la evaluación del cuerpo lúteo, la evaluación del embrión y la transferencia, el diagnóstico de preñez por ultrasonido y la determinación del sexo del feto a los sesenta días de preñez. Todas las receptoras preñadas se mantienen en el tambo y nuestro equipo



entrega los terneros y los cría hasta que tienen entre 3 y 6 meses de edad. Las vaquillonas se seleccionan y se venden cuando tienen entre 5 y 6 meses de edad.

Desde el brote de fiebre aftosa en China, dejamos de comprar las receptoras y en cambio las alquilamos de los tambos locales o del comprador. Tenemos 6 unidades móviles que salen a los tambos y transfieren los embriones. Les pagamos por receptora preñada de 3 meses, más un plus por ternero vivo. A la semana de edad, traemos los terneros de la vaquillona a nuestro tambo y los criamos hasta que se venden.

De acuerdo con un modelo comercial a mediano y largo plazo, firmamos un contrato con todos nuestros compradores para abastecerlos con semen sexado para la futura inseminación artificial de las vaquillonas y también proveemos asistencia técnica para establecer un programa de alimentación.

## **CONCLUSIÓN**

La selección previa del sexo de la progenie es posible utilizando un citómetro de flujo. El semen sexado se puede incorporar bien en la producción de embriones *in vitro* y aumentar la cantidad de embriones hembras producidas. También se puede utilizar para la inseminación artificial de vaquillonas o vacas en su primera lactancia. La producción de embriones por FIV combinado con el semen sexado, es una técnica útil para obtener acceso al mercado chino a un precio inferior, pero se necesita un plan comercial a largo plazo para mantenerla.

## **AGRADECIMIENTOS**

A John Schenk de XY Inc por sus consejos.

A mis colegas de IND Lifetech Inc por su colaboración.

A Beijing Dairy Centre por la experiencia de campo realizada.

A mi esposa Karen Galley por la corrección.



## AVANCES EN LA APLICACIÓN DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS EN EQUINOS

---

**Luis Losinno**

Laboratorio de Reproducción Equina, Cátedra de Producción Equina,  
Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria,  
Universidad Nacional de Río Cuarto, (5800) Río Cuarto, Argentina;  
[llosinno@ayv.unrc.edu.ar](mailto:llosinno@ayv.unrc.edu.ar) ; [llosinno@gmail.com](mailto:llosinno@gmail.com)

### INTRODUCCION

Las herramientas y/o procesos tecnológicos que el hombre aplica de manera directa o indirecta a la reproducción, en este caso animal, se conocen como **Biotecnologías Reproductivas**.

Los reportes anecdóticos de estas herramientas de manejo reproductivo en equinos son muy antiguos (s.XVI) pero el verdadero auge ocurre durante el siglo pasado con la expansión de la inseminación artificial (IA) como la de mayor impacto sobre los sistemas productivos. Desde la segunda mitad del siglo XX la aplicación masiva de estas tecnologías ha crecido exponencialmente en la industria equina mundial en especial la IA y la transferencia embrionaria (TE) (Squires, 2006).

El objetivo de esta presentación es realizar una breve descripción conceptual de las últimas biotecnologías reproductivas desarrolladas y sus aplicaciones potenciales en la clínica reproductiva y la producción equina, incluyendo entre ellas una referencia a la inseminación artificial; transferencia embrionaria; criopreservación embrionaria; superovulación; inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI); transferencia intraoviductal de gametas (GIFT) y clonación.

## INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA)

Desde mediados de los años 80 hasta el presente, el crecimiento de esta biotecnología en los sistemas de producción de caballos en el mundo en general y Argentina en particular ha sido exponencial dado que en este periodo la mayoría de las asociaciones de criadores de caballos de razas puras ha aceptado y reglamentado la IA en sus diferentes variantes y otras biotecnologías, en especial la Transferencia Embrionaria, dentro de sus estatutos. En la actualidad, en el mundo hay muy pocas asociaciones que no aceptan el uso de biotecnologías reproductivas, entre ellas una de las razas de mayor impacto económico mundial en la cría de caballos como es la Sangre Pura de Carrera.

Una de las barreras para la inclusión de biotecnologías, aun las más elementales y antiguas, dentro de los programas de reproducción ha sido la desinformación y el consecuente dogmatismo tanto de los profesionales involucrados como de las dirigencias de las razas. En los últimos 10 años, debido entre otros factores al recambio generacional de profesionales y al mayor acceso a información técnica y de divulgación, al menos desde mi perspectiva de docente/investigador y formador de recursos humanos, esto ha cambiado radicalmente. Es verdad que la inclusión de estas herramientas debe estar inserta en un marco productivo que las haga económicamente aplicables, algo que al menos en los últimos años y en especial en algunas razas deportivas como la de polo es particularmente importante.

Dado que el objetivo de esta presentación es la de focalizar solo en los avances, y no realizar una sustitución de las obligadas lecturas técnicas, algunas de las cuales se recomiendan en la bibliografía, son tres los que creo que son remarcables con respecto a la IA:

1) **IA con semen refrigerado.** La criopreservación del semen diluido a 5°C por periodos de hasta 24-48 hs en contenedores de diseño simple, económicos, transportables, aun descartables, resistentes a malos tratos y a temperaturas externas elevadas junto a la difusión del uso de diferentes tipos de diluyentes de alta eficiencia, ha contribuido al crecimiento de este sistema que esencialmente disminuye los costos operativos al evitar transportar animales valiosos, sin disminución en los índices de preñez por ciclo si los procedimientos se realizan correctamente y los animales no tienen problemas de fertilidad aditivos. La implementación en Argentina y otros países de América Latina ha encontrado una dificultad logística referida a los sistemas de transporte públicos y en algunos casos a la falta de entrenamiento idóneo por parte de los veterinarios involucrados. De cualquier manera es uno de los sistemas mas utilizado como complemento de la TE en Colombia y Brasil con resultados comparativos considerados muy buenos.

2) **IA con semen congelado.** Los avances en la investigación de nuevos criopreservadores como las amidas, diferentes curvas de descenso térmico, la evidencia que no hay un patrón standard de respuesta de los espermatozoides a la injuria térmica, inclusive variando dentro de cada padrillo en diferentes eyaculados, época del año, etc. y la presión del mercado y los criadores respecto a implementar protocolos eficientes y comercialmente aceptables, ha llevado a esta técnica a índices de preñez comparables a los de semen refrigerado. En razas deportivas, en especial de salto (pero extendiéndose rápidamente a las demás), el semen de la mayoría de los padrillos importantes se comercializa congelado lo que permite preservar su genética, aun después de muerto el animal, por tiempo indefinido y la difusión internacional de la misma en pequeños contenedores. En Argentina, hay registro de mas de 250 padrillos a los que se les ha congelado semen comercialmente y en la actualidad la demanda de este servicio ha crecido exponencialmente (Squires, 2006, Miragaya MH, 2007).

3) **IA con baja dosis.** Descripta inicialmente para ser utilizada en padrillos con baja fertilidad y a través de una histeroscopia, esta técnica propone utilizar dosis inseminantes de hasta 1/10 de la recomendada para IA tradicional colocando el semen sobre la unión útero-tubarica (papila). El desarrollo de la técnica y su traslado a sistemas de campo utilizando una pipeta de IA mas larga y flexible, guiada trasrectalmente permite depositar el semen sobre la papila disminuyendo la dosis (tanto de semen fresco, refrigerado y congelado) y aumentar la eficiencia en términos de dosis/eyaculado, bajando los costos con resultados en muchos casos superiores a las técnicas convencionales. En mi opinión esta es una de las técnicas de mayor impacto en términos de usuarios que la adoptaron rápidamente y con ello mejoraron su performance de IA a un costo ínfimo en relación al beneficio.

### **TRANSFERENCIA EMBRIONARIA (TE)**

La técnica de transferencia de embriones en equinos es el procedimiento por el cual se recolecta uno o mas embriones por un método no-quirúrgico a través de un lavaje uterino transcervical de una yegua donante inseminada o servida, 6 a 10 días post-ovulación, y se transfiere (de manera quirúrgica o no quirúrgica) al útero de otra yegua receptora sincronizada previamente.

Coincidentemente con el desarrollo de la ultrasonografía reproductiva, a partir de los primeros reportes a comienzos de los '80, las TE han crecido sostenidamente durante las ultimas tres décadas, instalándose como una de las herramientas biotecnológicas de alto impacto en sistemas de producción de equinos de alta performance o valor genético.

En Argentina los primeros ensayos con TE en equinos se realizaron a fines de la década del '80, básicamente sobre yeguas de Polo. En la actualidad se encuentran operando al menos 28 centros de TE y el número de receptoras preñadas ha crecido sostenidamente hasta un total aproximado de 4000 en la última temporada, lo que la ubicaría en tercer lugar en términos de producción de embriones equinos, luego de USA y Brasil.

Entre los factores mas importantes que pueden condicionar los resultados de un programa de TE merecen destacarse: Dificultad en superovular las donantes; fertilidad del padrillo; edad de la donante; correcta detección de la ovulación; condición reproductiva/nutricional/sanitaria y edad de la receptora; entrenamiento del operador y calidad del embrión (Losinno y Alvarenga, 2006).

Bajo condiciones ideales (donantes, receptoras, padrillos fértiles y personal capacitado), se puede esperar una tasa de recuperación de embriones de 50 a 80 % y una tasa de preñez de 50 a 80 %, lo que determinaría una tasa de eficiencia total del 25 al 65 %. Tanto la tasa de recuperación como la de preñez post-transferencia de yeguas subfértiles son significativamente mas bajas comparadas con yeguas normales (20-30% vs 60-80%).

Por ésta técnica es posible obtener, en promedio, 4 ó mas potrillos por año hijos de la misma yegua, pero existen evidencias en Argentina de una yegua de polo de la que se obtuvieron 14 preñeces en la misma temporada reproductiva (2004/5).

Para una actualización completa del tema se recomienda la exhaustiva y reciente revisión de Stout (2006) y nuestra visión del panorama de las TE en América Latina (Losinno y Alvarenga, 2007).

## VITRIFICACIÓN DE EMBRIONES

La vitrificación es un proceso físico de criopreservación donde una solución líquida es transformada en un sólido particular amorfo y estable, llamado vítreo, cuando se congela a bajas temperaturas (criogénicas) utilizando altas concentraciones de crioprotectores. Como resultado, los fluidos intra y extracelulares se tornan más viscosos a medida que el medio se enfría, evitando la unión de moléculas de agua y consecuentemente la formación de cristales de hielo. Para lograr esto, el enfriamiento debe ser muy rápido obteniendo un estado vítreo, de manera casi inmediata. Este estado tiene la distribución iónica y molecular de un líquido, por eso se evitan los efectos nocivos (mecánicos y químicos) de los cristales de hielo que se forman durante la criopreservación convencional.

La técnica de vitrificación posee varias ventajas: es simple, puede realizarse en poco tiempo y no necesita equipos costosos. Sin embargo también presenta algunas desventajas: la alta concentración de crioprotectores utilizados puede ser tóxica para las células. Un problema severo es la remoción de las altas concentraciones intracelulares del crioprotector luego del descongelamiento.

Esta técnica fue introducida por primera vez en 1937 por Luyet quién vitrificó espermatozoides de rana, pero recién en 1985, Rall vitrificó embriones de ratón, demostrando que bajo ciertas condiciones es posible la criopreservación de embriones sin pérdida de la viabilidad.

Las exigencias de las competencias en los diferentes deportes hípicos dificultan que las yeguas gesten o permanezcan en un centro de TE durante su etapa reproductiva o deportiva. La criopreservación permite el transporte de los embriones desde la yegua donante hacia la receptora sin necesidad de mantener la misma sincronizada, reduciendo los costos de mantenimiento y por otra parte posibilitando que completen su temporada deportiva. Una de las ventajas más importantes de criopreservar embriones es que éstos, a diferencia de las gametas, contienen el genoma completo de un nuevo individuo y esta listo para ser transferido a una madre sustituta. Además de las ventajas mencionadas, la criopreservación permite conservar material genético de animales superiores, seleccionados por su desempeño atlético o por sus características raciales o productivas.

A diferencia de los bovinos y otras especies domesticas, una de las limitaciones en los equinos es la dificultad, hasta el momento, de superovular yeguas consistentemente, por lo tanto la cantidad de embriones obtenidos por yegua por ciclo es comparativamente muy baja. Como resultado, los embriones disponibles para investigaciones en esta área de la biotecnología se encuentran muy acotados. De hecho es una de las especies de mamíferos domésticos en la que menos se ha avanzado en este campo, donde solamente se reportan alrededor de 50 potrillos nacidos en el mundo producto de embriones criopreservados, a diferencia de decenas de miles de bovinos.

Hasta principios de los '80 los resultados obtenidos con embriones equinos utilizando técnicas de congelamiento estándar, fueron desalentadores a diferencia de lo que ocurría con embriones de otras especies, en gran medida debido a que la presencia de cápsula en los blastocistos equinos dificulta la difusión de los crioprotectores intracelulares. El primer potrillo nacido de una preñez lograda por medio de esta técnica fue reportado por Yamamoto en 1982. Desde entonces varios intentos de congelar embriones equinos se han publicado con resultados variables y en general desalentadores en términos de tasas de preñez post-descongelación. La primera preñez con embriones vitrificados de ratones fue obtenida por Rall, (1987) y en vacas por Massip (1986). Recién en 1994, Hochi y col. publicaron por primera vez una preñez a partir de un embrión equino vitrificado (Hochi *et al.*, 1994).

El proceso de vitrificación de embriones equinos es un proceso sencillo que se realiza en poco tiempo (3-4 minutos por embrión) y no requiere de equipamiento complejo. Una vez vitrificado el embrión este se puede mantener por tiempo indefinido dentro del termo de nitrógeno líquido.

Para transferir el embrión vitrificado debemos contar con receptoras que se encuentren entre los días 5 a 6 post ovulación.

Los resultados obtenidos hasta el momento en cuanto a preñeces de embriones equinos son muy alentadores. Recientemente, Carnevale *et al.* (2004) y Eldridge-Panuska *et al.* (2005), reportaron tasas de preñez significativamente altas en relación a datos anteriores, lo que sugiere un resurgimiento de la técnica con promisorios resultados experimentales que la hacen potencialmente aplicable en sistemas de producción. En el último reporte de Carnevale *et al.* (2006) se realiza una comparación entre los porcentajes de preñez post transferencia no quirúrgica entre embriones refrigerados que son luego vitrificados y los porcentajes de preñez de embriones únicamente vitrificados. Los resultados son los siguientes:

**Tabla 1.** Efecto del desarrollo embrionario en los porcentajes de preñez de embriones refrigerados y vitrificados luego de la transferencia embrionaria no quirúrgica. (Carnevale, *et al.* 2006).

Estado de desarrollo	Refrigerado/Vitrificado	Vitrificado	Combinado
Mórula tardía	5/7 (71%)	4/4 (100%)	9/11 (82%)
Blastocisto temprano	8/13 (62%)	11/16 (69%)	19/29 (66%)
Combinado	13/20 (65%)	15/20 (75%)	28/40 (70%)

Si los resultados experimentales se trasladan a los sistemas reales de producción, la vitrificación de embriones equinos abrirá nuevos escenarios sobre todo a nivel internacional ya que permitirá un menor movimiento de animales evitando accidentes, diseminación de enfermedades, disminución de costos operativos, etc. Además es una técnica accesible a medianos y pequeños productores por su bajo costo ya que no necesita de insumos o equipamientos sofisticados en comparación con la criopreservación convencional.

## INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDE (ICSI)

Esta técnica de alta complejidad fue desarrollada como alternativa para el tratamiento de casos específicos de infertilidad masculina. En equinos, los resultados hasta el momento demuestran que es más eficiente que la de FIV para la producción *in vitro* de embriones y es ofrecida comercialmente desde el año 2003 para el tratamiento de determinados casos de infertilidad de padrillos. La técnica de ICSI consiste en seleccionar e inyectar un espermatozoide mediante un micromanipulador en el citoplasma de un ovocito en MII, es decir necesita de un ovocito maduro, que puede ser obtenido mediante punción folicular (*in vivo*) o post mortem (*ex vivo*). Se puede utilizar semen fresco, refrigerado, congelado o liofilizado (desecado). El procesamiento del semen consiste en colocar los espermatozoides en un gradiente de percoll para disminuir el número de espermatozoides muertos, luego es centrifugado y colocado en un medio de alta densidad (PVP). Este medio permite disminuir la velocidad del movimiento de los espermatozoides, seleccionar uno, fijarlo mediante la aguja del micromanipulador y aspirarlo desde la cola. El siguiente paso consiste en inyectar el ovocito con el espermatozoide seleccionado. Luego el ovocito inyectado puede ser cultivado *in vitro* o transferido directamente al oviducto de una receptora previamente acondicionada.

El primer reporte de un potrillo nacido por esta técnica fue hecho por Squires y col (1996). Si bien hay pocos grupos trabajando en el desarrollo de la técnica en aspectos específicos para las gametas y embriones equinos, esta ha tenido un gran impulso en los últimos años.

Con el objetivo de trabajar sobre el desarrollo *in vivo* de embriones producidos *in vitro*, nuestro grupo ha realizado transferencias quirúrgicas experimentales de cigotos obtenidos por ICSI a oviductos de yeguas, ovejas y conejas (Herrera, 2006). Debido a las dificultades en el cultivo embrionario equino *in vitro*, hasta el momento la técnica de GIFT ha resultado más eficiente en términos de producción de preñeces, excepto en casos extremos de oligospermia u otras patologías espermáticas que sean incompatibles con técnicas de inseminación artificial (Galli et al., 2007).

Recientemente hemos reportado la producción de embriones por ICSI utilizando espermatozoides de epidídimo criopreservados y espermatozoides desecados (Herrera et al., 2006; Alonso et al., 2007)

Actualmente un grupo de trabajo lo ofrece comercialmente como servicio reproductivo en Argentina.

### **TRANSFERENCIA INTRAVIDUCTAL DE GAMETAS (GIFT)**

Consiste en transferir quirúrgicamente al oviducto de una yegua receptora sincronizada e inseminada, uno o más ovocitos de una donante. Los ovocitos pueden ser obtenidos mediante punción folicular (*in vivo*) o post mortem (*ex vivo*) y madurados *in vitro*.

Esta técnica presenta menos dificultades técnicas y mayores aplicaciones clínicas que las descritas anteriormente dado que en resumen solo necesita de la donante un ovocito viable; y puede ser aplicada en casos de endometritis persistentes, fallas ovulatorias, desgarros cervicales, o en algunos casos de infertilidad idiopática.

En ambos casos (ICSI y GIFT) es en general necesario realizar la aspiración folicular guiada por ultrasonido (OPU). Actualmente los resultados de tasas de aspiración en programas comerciales pueden ser en promedio de 50-70% /ciclo lo que claramente justifica su aplicación comercial (Alonso et al, 2007).

Los reportes de programas clínicos comerciales documentan resultados de 37 % de preñez promedio y obtención de preñeces en el 70 % de las yeguas donantes con problemas de subfertilidad (Hinrichs, 2005). También desde la pasada temporada es ofrecido comercialmente en Argentina.



## CLONACIÓN

Es una técnica que permite producir un individuo a partir de una célula somática (embrionaria, fetal o adulta) y un ovocito en MII enucleado. Se obtiene un individuo con la misma carga genética que otro/s, pero sujeto a variaciones epigenéticas, ambientales y con el agregado del ADN mitocondrial del ovocito receptor, por lo que estrictamente un clon animal no es exactamente igual a otro (Hinrichs, 2006; Vajda, 2006).

En junio del 2003 se reportó en la Universidad de Idaho EEUU el nacimiento del primer équido clonado del mundo, una mula llamada Idaho Gem (Woods 2003). Dos meses más tarde se comunicó el nacimiento de Prometea, el primer caballo clonado, en la Universidad de Cremona, Italia (Galli 2003). Hasta el momento hay entre 10 y 15 clones equinos nacidos reportados.

De acuerdo a los datos disponibles, hasta el momento solo un grupo en Argentina (Halitus/Bioteq) actualmente ofrece comercialmente el servicio de clonación equina en América Latina.

Los aspectos más relevantes y actuales de la clonación en equinos pueden consultarse en la excelente revisión de Hinrichs (2006).

## CONCLUSIÓN

La inserción de biotecnologías reproductivas en equinos es una realidad en cualquier sistema de producción de caballos de mediana a alta complejidad, comenzando por la utilización masiva de la ultrasonografía reproductiva hasta la transferencia embrionaria. Las técnicas de reproducción asistida de mayor complejidad como ICSI, GIFT y clonación, de muy baja eficiencia y alto costo operativo, actualmente dirigidas a una élite de individuos de alto valor genético, económico o afectivo ofrecen hoy herramientas para solucionar problemas de infertilidad puntuales e indudablemente sus resultados mejoraran con el incremento de experimentos controlados trasladables a sistemas reales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso A, Miragaya MH, Losinno L, Herrera C. Intracytoplasmic sperm injection of equine oocytes using air-dried sperm or sperm stored in a high osmolarity medium. *Reproduction, Fertility and Development* 19(301), 2007.
2. Caracciolo di Brienza V, Carnevale EM, Seidel GE Jr. Establishment of pregnancies after vitrification of equine embryos of various developmental stages. *Reprod. Fertil Dev* 16, 252 (2004).
3. Carnevale E. M., Eldridge-Panusca W.D., Caracciolo di Brienza V. How to Collect and Vitrify Equine Embryos for Direct Transfer. 50<sup>th</sup> Annual Convention of AAEP. Internet Publisher: ([www.ivis.org](http://www.ivis.org)), (2004).
4. Eldridge-Panuska W, Caracciolo di Brienza V, Seidel GE Jr. Development of equine embryos in vivo post vitrification and recovery rates of embryos 6.5 days after ovulation. *Theriogenology* 63,5,1308-1319 (2005).
5. Galli C, Colleoni S, Duchi R, Lagutina I, Lazzari G. Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures ranging from *in vitro* maturation and ICSI to embryo

- culture, cryopreservation and somatic cell nuclear transfer. *Animal Reproduction Science* 98:39-55, 2007
6. Galli C, Lagutina I, Crotti G et al. A cloned horse born to its dam twin. *Nature* 424:635, 2003.
  7. Herrera C, Miragaya HM, Losinno L. Intracytoplasmic sperm injection for *in vitro* equine embryo production. *Acta Scientiae Veterinaria* 34(1) 245-249, 2006.
  8. Herrera C., Miragaya H.M., Conde P., Hynes V., Losinno L., Quintans C., Pasqualini R.S. Intracytoplasmic injection of *in vitro* matured equine oocytes with frozen-thawed epididymal sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 94:299-302, 2006.
  9. Hinrichs K. A review of cloning in the horse. *Proc Am Ass Equine Pract.* 398-401, 2006
  10. Hinrichs K. Update on equine ICSI and cloning. *Theriogenology* 64:535-541, 2005
  11. Hochi S., Fujimoto T., Braun J., Oguri N. Pregnancies following transfer of equine embryos cryopreserved by vitrification. *Theriogenology*, 42, 48 –488 (1994).
  12. Losinno L, Alvarenga M. Critical factors on equine embryo transfer programs. *Acta Scientiae Veterinaria*,34(1), 39-49, 2006.
  13. Miragaya MH. Comunicacion personal, 2007.
  14. Squires EL, McCue P. Superovulation in mares. *Animal Reproduction Science*
  15. Squires EL. Integration of future biotechnologies into the equine industry. *Animal Reproduction Science* 89:187-198, 2005.
  16. Stout TAE. Equine embryo transfer: review of developing potential. *Equine Veterinary Journal* 38(5)467-478, 2006
  17. Woods GL, White KL, Vanderwall DK. A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer. *Science* 301:1063, 2003.

## AVANCES EN LA APLICACION DE BIOTECNOLOGIAS REPRODUCTIVAS EN OVINOS Y CAPRINOS

---

**Alejo Menchaca<sup>1</sup>, Martina Crispo<sup>2</sup>, Marcela Vilariño<sup>3</sup>, Edgardo Rubianes<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal de Uruguay;

<sup>2</sup>Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación, Instituto Pasteur, Uruguay; <sup>3</sup>Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay; <sup>4</sup>Facultad de Agronomía, UdelaR, Uruguay.

[alejomen@adinet.com.uy](mailto:alejomen@adinet.com.uy)

### INTRODUCCION

La aplicación en condiciones comerciales de cualquier biotecnología reproductiva depende en forma directa de la relación costo-beneficio afectada en gran medida por la fertilidad obtenida, la repetibilidad de los resultados y la facilidad para su implementación. Los avances de mayor impacto en las últimas décadas estuvieron dirigidos a mejorar la eficiencia de cada uno de estos factores. La aplicación práctica de estos avances está determinada por la articulación entre los ámbitos de producción científica y los de aplicación en términos prácticos. En este sentido, las biotecnologías más clásicas (por ej. sincronización del estro, inseminación artificial y preservación de semen) han tenido un largo periodo para este proceso, los avances han sido incorporados y hoy son aplicados en una gran variedad de situaciones. Por su parte, las técnicas desarrolladas posteriormente como la superovulación y la transferencia de embriones aún presentan ciertas particularidades que determinan que existan menos grupos aplicando esta tecnología a nivel comercial. Más recientemente, en los años '90 aparecen la punción folicular por laparoscopia y la producción in vitro de embriones como nuevas alternativas para aumentar la multiplicación de individuos abriendo posibilidades por demás interesantes para diferentes situaciones. Por último, las tecnologías aún más novedosas como el sexado de semen, la transgénesis y la clonación no sólo tienen su aplicación específica en producción animal, sino que se proyectan también en otras áreas como la farmacéutica y las ciencias biomédicas. La generación de nuevos conocimientos que incrementen la eficiencia de estas biotecnologías, su rápida difusión y la incorporación de los mismos por los técnicos prácticos redundará en los próximos años en un avance técnico en nuestra región.

Presentamos en este trabajo una puesta a punto de los avances en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) en ovinos y caprinos. A su vez se discuten las principales limitantes técnicas para su aplicación práctica, propuesto esto como los actuales desafíos para las diferentes líneas de investigación.

## CONTROL DE LA DINAMICA FOLICULAR Y LA OVULACION

Durante los últimos 50 años se han utilizado distintos tratamientos para la inducción/sincronización de celo en los pequeños rumiantes. Si bien con la mayoría de ellos se logra inducir el celo en un alto porcentaje de los animales tratados, el grado de sincronización y/o la fertilidad obtenida aún deberían ser mejorados. Sumado a esto, en los últimos años se ha incrementado el interés por realizar las inseminaciones sin necesidad de detectar celo, es decir a tiempo fijo (IATF). Por ello, en cierta manera, la respuesta estral ha pasado a un plano secundario y el objetivo se ha centrado en el control de la ovulación propiamente dicha.

Los avances para el control exógeno de la ovulación han sido importantes, siendo la información generada últimamente en el campo de la foliculogénesis, la dinámica folicular, la endocrinología y control de la vida del cuerpo lúteo por demás relevante. Hasta los años '90, la mayoría de los estudios publicados sobre la foliculogénesis en ovinos habían sido enfocados al estudio de poblaciones foliculares (datos estáticos), y muy pocos hacia el seguimiento dinámico de folículos. De ese modo se había determinado que el ovario de ovejas adultas contiene entre 12.000 y 86.000 folículos primordiales y entre 100 y 400 folículos en crecimiento, de los cuales de 10 a 40 son visibles en la superficie ovárica. Estos estudios de los cambios que ocurren en el ovario durante el ciclo estral se realizaban a través de abordajes quirúrgicos (laparotomías o laparoscopías seriadas) o con materiales obtenidos en frigoríficos (Smeaton y Robertson, 1971; Brand y de Jong, 1973; Driancourt et al., 1985; Noel et al., 1993) y la información obtenida presentaba contradicciones. Posteriormente la incorporación de la ultrasonografía transrectal como técnica no invasiva permitió el estudio de la fisiología ovárica de manera repetida en un mismo individuo resolviendo un gran número de interrogantes planteadas en ovejas y cabras.

En la última década, la ultrasonografía ovárica ha permitido conocer con precisión en ovinos y caprinos que el crecimiento folicular se realiza en forma de ondas tanto durante el ciclo estral (ovinos: Schrick et al., 1993; Ravindra et al., 1994; Ginther et al., 1995; Rubianes et al., 1996; caprinos: Ginther y Kot, 1994; de Castro et al., 1998; González de Bulnes et al., 1999), como durante el anestro estacional (Souza et al., 1996; Bartleswki et al., 1998), el período de transición a la estación reproductiva (Ravindra y Rawlings, 1997) y la gestación temprana (Bartleswki et al., 2000; Pinczak et al., 2001). Las características más frecuentemente observadas en ambas especies fueron revisadas por Evans (2003) en ovejas y Rubianes y Menchaca (2003) en cabras y pueden resumirse de la siguiente manera: 1) en cada onda se observa por lo menos un folículo que alcanza un diámetro  $\geq 5$  mm; 2) el folículo más grande de cada onda crece durante 5-7 días, con una tasa de crecimiento cercana a 1 mm/día; 3) el diámetro máximo alcanzado por el folículo mayor de una onda difiere entre las ondas; 4) a medida que avanza la fase lútea y las concentraciones de progesterona séricas aumentan, el diámetro máximo alcanzado por el folículo más grande es menor, el recambio folicular se ve favorecido y los intervalos entre ondas son más cortos que durante la fase luteal temprana; 5) durante la fase luteal media-tardía se ha propuesto que los folículos que no crecen más allá de 4 mm no serían parte del fenómeno de ondas sugiriendo que representan una pool dinámico basal; 6) en la mayoría de los casos los folículos que finalmente ovulan son aquellos que presentan el mayor diámetro al día de la luteolisis; 7) cuando ocurren ovulaciones dobles los folículos ovulatorios generalmente provienen de la misma onda folicular y sólo en algunos casos se originan de ondas diferentes; 8) las ovulaciones dobles ocurren dentro un rango generalmente menor a 12 horas.

Por otra parte, la asociación del uso del radioinmunoanálisis para determinaciones hormonales con los estudios por ultrasonografía ha permitido un gran avance y -en particular- profundizar sobre la relación entre la concentración sérica de progesterona y la fertilidad. Como concepto general se ha demostrado que bajos niveles de progesterona durante los días previos a la ovulación están asociados a una

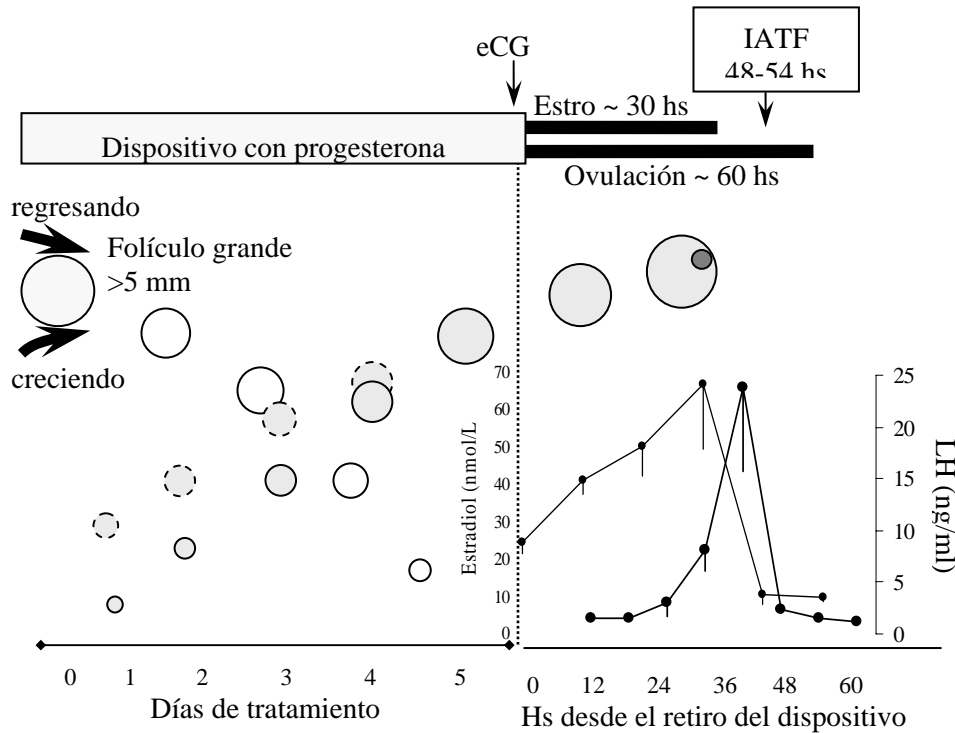
alteración en la dinámica folicular y la ovulación. Esto cobra particular interés al ser la progesterona la hormona más utilizada en protocolos de sincronización de celos en ovinos y caprinos. Los tratamientos desarrollados a partir de los primeros trabajos de T. J. Robinson en la década de los '60, consisten en 12-14 días de exposición a progestágenos (progesterona y sus análogos) y una dosis de 250 a 400 UI de eCG (gonadotrofina coriónica equina) al finalizar el tratamiento. Posteriormente se ha demostrado que estos tratamientos de 12-14 días predisponen a una baja concentración del progestágeno al final del tratamiento (Gaston-Parry et al., 1988; Greyling et al., 1994; Rubianes et al., 1998) y que este hecho estaría afectando la fertilidad finalmente obtenida. El efecto perjudicial de los bajos niveles de progesterona en sangre sobre la fertilidad es debido a dos principales causas: a) una alteración sobre el transporte espermático (Robinson et al., 1968; Quinlivan y Robinson, 1969; Hawk y Conley, 1972); y b) una alteración en el desarrollo folicular y la calidad del ovocito (Revah y Butler, 1996; Johnson et al., 1996; Viñoles et al., 2001; Ungerfeld y Rubianes, 1999).

En los últimos años se han propuesto tratamientos alternativos de corta duración que consisten en sólo 5-7 días de exposición a la progesterona (Tratamientos Cortos) asociado a una dosis de eCG. El objetivo central ha sido evitar concentraciones de progesterona subluteales por periodos prolongados y por el contrario asegurar niveles adecuados que nos permitan la ovulación de ovocitos fértiles. Estos tratamientos fueron evaluados en ovinos y caprinos, durante el anestro estacional y la estación reproductiva, asociados a monta natural e inseminación a celo detectado (Viñoles, 2000; Ungerfeld, 2001; Menchaca, 2006). Durante la estación reproductiva se administra una dosis de PGF2 $\alpha$  al momento de iniciar el tratamiento en caprinos y en ovinos la respuesta estral es superior cuando la PGF2 $\alpha$  se administra al retirar el dispositivo (datos no publicados). En conjunto estos trabajos indican que los Tratamientos Cortos resultan en una serie de beneficios (por ej., mejor control folicular y ovulatorio, aceptable fertilidad, facilidad para su aplicación, reutilización de dispositivos intravaginales) que justifican su uso frente a los tratamientos tradicionales. Actualmente es de interés la utilización de los Tratamientos Cortos en programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.

## **INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO**

Durante los últimos años la eliminación de la detección de celo ha cobrado un mayor interés en programas de inseminación en diferentes especies. En los sistemas pastoriles extensivos la detección de celos dos veces por día por periodos prolongados predispone a diferentes problemas sanitarios, nutricionales y de manejo de la majada, que hacen que esta práctica dificulte la implementación de los programas de IA. De manera similar en sistemas intensivos – por ej. producción de leche caprina - la detección de celo dos veces diarias requiere una rutina de trabajo y disponibilidad de recursos humanos que dificulta la aplicación de la IA también en estos sistemas. Si bien la IATF en ovinos y caprinos ha sido aplicada desde hace varios años asociando una dosis de eCG al finalizar la exposición a la progesterona por 12-14 días, el diseño de tratamientos más eficientes que faciliten aún más implementación de la IA ha sido motivo de estudio. En este sentido, los Tratamientos Cortos descritos en la sección anterior fueron diseñados para sincronizar la ovulación y realizar la IA sin detección de celo en ovejas y en cabras. La Figura 1 muestra la respuesta folicular y el momento ovulatorio inducido con un Tratamiento Corto en ovinos y caprinos. Los resultados de tasa de preñez obtenidos con estos tratamientos asociados a IATF se encuentran entre el 50 y el 80%, dependiendo principalmente de la especie, de la vía de inseminación y del uso del semen fresco, refrigerado o congelado. En caprinos por vía cervical y con semen fresco los mejores resultados se obtuvieron con 5 a 7 días de tratamiento (Menchaca y Rubianes, 2004), siendo superior cuando la inseminación se realizó a las 54 horas de retirado el dispositivo (Menchaca y Rubianes, 2007). En ovinos por vía cervical con semen fresco o refrigerado el momento óptimo para la

IATF es a las 48 horas del retiro del dispositivo (Menchaca et al., 2005) y por vía intrauterina el momento de IATF recomendado es a las 54 horas (datos no publicados).



**Figura 1.** Esquema del Tratamiento Corto en ovinos y caprinos. El dispositivo intravaginal permanece durante 5-6 días y una dosis de 300 UI de eCG se administra al retirar el dispositivo (en estación reproductiva acompañado de una dosis de PGF2 $\alpha$ ). Al colocar el dispositivo en general existe un folículo grande que puede estar en fase de regresión o en crecimiento, en ambos casos la progesterona liberada por el dispositivo favorece su regresión y la emergencia de una nueva onda folicular. Al retirar el dispositivo el nuevo folículo mide 5-7 mm de diámetro y continúa su crecimiento hasta la ovulación que ocurre entre las 60-70 horas más tarde. La IATF se realiza a las 54 horas en cabras por vía cervical y a las 48 o 54 horas en ovejas por vía cervical o intrauterina, respectivamente (adaptado de Menchaca y Rubianes, 2004; Menchaca et al., 2007a).

Por otra parte, históricamente el uso de protocolos con PGF2 $\alpha$  no había representado una alternativa eficaz para realizar IATF en rumiantes debido a la dispersión en el inicio del celo y la ovulación. Recientemente se ha propuesto un nuevo protocolo para IATF en ovinos mediante el uso de PGF2 $\alpha$  (Synchrovine<sup>®</sup>). El mismo surge a partir de nuevos conceptos en el control del cuerpo lúteo y el efecto que esto tiene sobre la dinámica folicular. Cuando aplicamos una dosis de PGF2 $\alpha$  sin conocer el momento del ciclo de la majada, una alta proporción de hembras ovulan entre los 2 a 4 días luego del tratamiento. Esta dispersión en el momento de la ovulación está determinada por la variabilidad del estatus folicular al administrar la PGF2 $\alpha$ . Al momento de la ovulación ocurre la emergencia de la Onda 1

del próximo ciclo, en este caso 2 a 4 días de administrar la  $PGF2\alpha$ . A partir de entonces el folículo de mayor diámetro de la Onda 1 mantiene su desarrollo por unos 5 días. Si administramos una segunda dosis de  $PGF2\alpha$  en este momento – por ej. a los 7 días de la primera dosis - obtendremos una alta proporción de ovejas con un folículo grande y en fase de crecimiento resultando en un alto grado de sincronización de la ovulación. Por lo tanto, el protocolo Synchrovine® fue diseñado utilizando 2 dosis de  $PGF2\alpha$  separadas por 7 días seguida de una IATF por vía cervical a las 42 hs de la segunda dosis (Menchaca y Rubianes, 2004). Durante los últimos 5 años una serie de experimentos han sido realizados con este protocolo sobre más de 3000 ovejas. En resumen, los resultados muestran que la manifestación estral es altamente sincronizada con un 90-95 % de las ovejas en celo durante las 72 horas siguientes al tratamiento y el 80% de estos celos se inicia entre las 25 y 48 hs (Menchaca et al., 2004). Lo más destacable de esta respuesta es que la ovulación también se ve fuertemente sincronizada. En un trabajo reciente donde se determinó el momento ovulatorio por ultrasonografía, el 93% (14/15) de las ovejas tratadas ovularon en un rango de 12 hs entre las 60 y 72 horas luego de la segunda dosis de  $PGF2\alpha$  (datos no publicados). Sin embargo, la tasa de preñez con este protocolo no supera el 50% (rango 30 a 50%). Con el objetivo de incrementar este resultado se han evaluado diferentes análogos de  $PGF2\alpha$ , diferentes dosis de cada análogo, diferentes vías de IA (cervical e intrauterina), diferentes momentos de IA y diferente número de espermatozoides en la dosis de IA. Sin embargo, en todos estos trabajos no se logró superar el 50% en la tasa de preñez con una única IATF. No obstante, es de destacar que las ovejas vacías retornan al estro entre el día 14 a 19 luego de la IATF y por lo tanto es posible realizar el repaso con IA a celo detectado durante este periodo. La tasa de preñez final con estos dos servicios en 6 días de IA (1 día de IATF + 5 días de repaso) ha resultado en valores cercanos al 70-80% de preñez (Menchaca y Rubianes, 2004), lo cual representa una opción interesante para su aplicación en majadas generales. El protocolo Synchrovine® ha sido aplicado en ciertas situaciones donde se dificulta el uso de los tratamientos con progesterona y eCG (por ej. países donde no están disponibles estas hormonas, formación de anticuerpos por el uso reiterado de eCG, menor costo del tratamiento con  $PGF2\alpha$ ).

## SUPEROVULACION Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La transferencia de embriones (TE) es aplicada en diferentes programas de multiplicación de genética en pequeños rumiantes debido a que permite – a partir de un núcleo reducido de reproductores - maximizar la producción de nuevos individuos en un periodo corto de tiempo. Los resultados de un programa MOET (*multiple ovulation and embryo transfer*) pueden resumirse en 10 cuerpos lúteos por donante, 7 embriones colectados, 5 embriones transferibles y un 50-60% de sobrevivencia embrionaria luego de la transferencia a las receptoras. A modo de ejemplo en un programa MOET en ovinos realizado recientemente, sobre un total 3681 embriones producidos en 25 días de colecta, se obtuvo una tasa ovulatoria de 10,6 cuerpos lúteos, 7,7 embriones colectados y 5,4 embriones transferibles por donante (A. Menchaca, datos no publicados). En este trabajo la tasa de recuperación embrionaria fue de 73,0% y la tasa de fertilización de 86,9%. Sin embargo, el uso masivo de esta técnica se ha visto en parte limitado por la variabilidad en los resultados (Armstrong y Evans, 1983; Lucy et al., 1992; Vivanco et al., 1994) y requerir tratamientos de superovulación y equipamiento de elevado costo.

La variabilidad en los resultados responde a un componente multifactorial atribuido entre otras causas a la raza, la edad, el estado corporal, la estación del año, el estado fisiológico y las hormonas utilizadas. Sin embargo, cuando estos factores son controlados de manera adecuada, la variabilidad en los resultados no deja de frustrar tanto a técnicos como a cabañeros. En los últimos años fue demostrado que el status folicular ovárico al iniciar el tratamiento con FSH juega un rol decisivo en la respuesta obtenida. Los

mecanismos que determinan el patrón de desarrollo folicular en ondas afectan de manera directa la respuesta a la superovulación. Se ha demostrado que la presencia de un folículo grande al iniciar el tratamiento con FSH determina un pobre reclutamiento folicular, una menor respuesta ovulatoria, una inadecuada calidad luteal subsiguiente y un menor número y calidad de los embriones colectados (Rubianes et al., 1995; Rubianes et al., 1997; Menchaca et al., 2002; González de Bulnes et al., 2002). Teniendo en cuenta estos resultados parece clara la necesidad de diseñar una estrategia que nos asegure la ausencia de un folículo  $\geq 5$  mm al iniciar el tratamiento con FSH. Al igual que los protocolos utilizados en bovinos, el objetivo sería sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular para iniciar el tratamiento en ese momento. En pequeños rumiantes los tratamientos tradicionales, que comienzan la administración con FSH 48-60 hs antes de finalizar un tratamiento de 12-14 días de exposición a la progesterona, no controlan el status folicular.

El método más efectivo y simple de asegurar la ausencia de un folículo dominante es controlando la emergencia de la primer onda (Onda 1) luego de la ovulación. Tanto en ovejas como en cabras, próximo al momento de la ovulación (Día 0) emerge la Onda 1 con una mínima variación individual. Esto nos permite asegurar, con alta certeza, que inmediatamente luego de la ovulación estaremos en ausencia de un folículo dominante y en presencia de un elevado número de folículos pequeños. Recientemente se ha diseñado un nuevo protocolo que inicia el tratamiento con FSH justo en este momento (Protocolo Día 0; Rubianes y Menchaca, 2003). En la Figura 2 se muestra un esquema del Protocolo Día 0. Este tratamiento requiere la previa sincronización de la ovulación para lo que utilizamos los Tratamientos Cortos descritos en la sección anterior. Luego de sincronizado el estro, la FSH comienza a administrarse cuando la ovulación es detectada por ultrasonografía o estimada (p.ej. 36 horas de iniciado el estro). Actualmente iniciamos el tratamiento con FSH a tiempo fijo a las 84 horas de retirar el dispositivo intravaginal, administrando una dosis de GnRH (por ej. 8  $\mu$ g de buserelina) 36 horas del retiro del dispositivo (Pierson et al., 2003). De esta manera el Protocolo Día 0 no requiere la detección de celo lo que es de interés en programas a gran escala. La dosis total de FSH es dividida en 6-8 dosis decrecientes administradas cada 12 horas. Con las últimas dos dosis de FSH se aplica dos medias dosis de PGF2 $\alpha$  (por ej. 37,5 mg de D(+)-cloprostenol o 80  $\mu$ g de delprostenate). El tratamiento finaliza con una dosis de GnRH a las 12 hs luego de la última FSH. Con este esquema el pico de LH ocurre a las 4 horas y la ovulación entre las 18 y 28 horas de administrada la GnRH (Menchaca et al., 2001). La inseminación se realiza a tiempo fijo a las 20 horas de la GnRH con semen fresco o a las 18 y 24 horas cuando se utiliza semen congelado.

El uso de este protocolo ha sido evaluado con resultados promisorios tanto en caprinos (Menchaca et al., 2007b) como en ovinos (Menchaca et al., 2007c) y se encuentra actualmente en fase de validación en programas comerciales. La Tabla 3 muestra los resultados al comparar el tratamiento tradicional con el Protocolo Día 0. El análisis conjunto de estos trabajos muestra en promedio con el Protocolo Día 0 un incremento de 3 cuerpos lúteos por donante superovulada en ambas especies. De manera similar, el número de embriones colectados y transferibles se incrementó en 2 embriones por donante comparado con el protocolo tradicional.



**Tabla 1.** Respuesta superovulatoria y embrionaria obtenida con el Protocolo Día 0 comparado con el Protocolo Tradicional en ovejas y cabras (adaptado de Menchaca et al., 2007b; 2007c).

	Hembras con >2CL	N° de CL	Embriones colectados	Embriones transferibles	Embriones 1 y 2/ colectados (%)
<b>OVEJAS</b>					
estación reproductiva					
Tradicional (n=22)	20/22	10,1 ± 1,1	8,0 ± 0,9	5,9 ± 1,1	108/184 (59%)
Protocolo Día 0 (n=22)	22/22	13,5 ± 1,4	10,3 ± 1,2	7,9 ± 1,4	131/227 (58%)
<i>P</i>	NS	<0,05	<0,10	<0,10	NS
<b>CABRAS</b>					
estación reproductiva					
Tradicional (n=18)	9/18	6,3 ± 0,8	4,8 ± 0,6	2,6 ± 0,5	16/43 (37%)
Protocolo Día 0 (n=20)	17/20	9,6 ± 0,6	6,7 ± 0,8	4,9 ± 0,7	81/114 (71%)
<i>P</i>	<0,05	<0,05	<0,10	<0,10	<0,01
<b>CABRAS</b>					
anestro estacional					
Tradicional (n=28)	26/28	10,7 ± 1,5	7,6 ± 1,2	4,2 ± 0,7	95/205 (46%)
Protocolo Día 0 (n=24)	21/24	14,3 ± 1,5	9,7 ± 1,7	5,9 ± 1,2	118/203 (58%)
<i>P</i>	NS	<0,05	NS	NS	<0,05

## PRESERVACION Y SEXADO DE SEMEN

El semen ovino y caprino puede utilizarse fresco, refrigerado o congelado. El uso de semen fresco permite una alta tasa de preñez cuando se utiliza por vía cervical lo que lo hace una práctica ampliamente utilizada en todo el mundo. Esta simple técnica ha brindado en los últimos 50 años uno de los principales aportes a la mejora genética de majadas o rebaños comerciales en los países de la región.

Por su parte, el semen refrigerado a 5 °C es una alternativa efectiva para diferentes situaciones como por ejemplo cuando hay interés por incorporar nuevo material genético y escasa cantidad de machos con pruebas disponibles, o cuando estos son mantenidos en centros y las distancias son relativamente cortas (menor a 12 horas), o si los periodos de servicios son muy reducidos (abril-mayo en ovinos en Uruguay), requiriendo en todos los casos adecuadas comunicaciones y accesos. El semen mantenido a 5 °C durante 24 horas permite alcanzar resultados aceptables con tasas de preñez de 40-50% por vía cervical (Salamon et al., 1979). Diferentes trabajos han sido reportados en Uruguay con semen refrigerado a 5 °C y utilizado por vía cervical en ovinos. En programas con detección de celo, el uso de diluyentes a base de

leche UHT con 5% de yema de huevo y 2% de glicerol - aún luego de 24 horas de preservación a 5 °C - permitió resultados superiores al 50% en la tasa de concepción (J. Gil, J. Olivera, S. Fierro, comunicación personal). La aplicación práctica de esta alternativa toma mayor interés cuando se lo asocia a IATF, debido a que sólo es necesario realizar la IA en un solo día facilitando así toda la operativa en el transporte y manejo del semen. En un trabajo también realizado en Uruguay (Fernández Abella et al., 2003) se reportaron resultados auspiciosos utilizando leche con citrato de sodio y 21,3% de yema de huevo, obteniendo una tasa de preñez del 52% cuando la IATF se realizó a las 46 horas de retirada la esponja. En otro estudio, utilizando semen refrigerado por 12 horas en un diluyente a base de TRIS asociado a IATF (Menchaca et al., 2005), también se obtuvo la mayor tasa de preñez cuando la inseminación (dosis: 200 x 10<sup>6</sup> espermatozoides) se realizó a las 48 horas de finalizado el Tratamiento Corto. En resumen, estos trabajos efectuados en condiciones productivas típicas de Uruguay, permiten concluir que es posible considerar el uso de semen refrigerado a 5 °C con resultados aceptables en programas por vía cervical. Esto adquiere mayor interés asociado a IATF, donde si bien se han reportado resultados aceptables con 24 horas de conservación, en la práctica es preferible un periodo cercano a las 12 horas.

La congelación de semen es la técnica que mayor potencial ofrece en la difusión de genética a partir de reproductores machos. Sin embargo, durante el proceso de congelación-descongelación se produce una desestabilización de membranas con una prematura reacción del acrosoma. Los espermatozoides son parcialmente capacitados en dicho proceso reduciendo así su poder fecundante, siendo más grave cuando se realiza IA por vía cervical. Como resultado, el éxito de esta tecnología depende en gran medida de la posibilidad de depositar la dosis seminal en el sitio y en el momento adecuado, en este caso en la luz uterina algunas horas antes de que ocurra la ovulación. Como consecuencia, el uso de semen congelado en condiciones productivas se ha visto limitado por la baja tasa de preñez obtenida por vía cervical. La incorporación de la endoscopia en los años '80 permitió superar esta limitante al depositar el semen directamente en la luz del útero (Killeen y Cafery, 1982). Actualmente si pretendemos obtener una tasa de preñez aceptable (>60%), aplicar una metodología de fácil implementación (por ej. IATF) y trabajar con programas a gran escala (por ej. 400 a 500 ovejas por día), aún es necesario el uso de la vía laparoscópica. El desarrollo de alternativas a esta técnica que permitan la deposición del semen en la luz uterina por vía cervical continúa siendo motivo de estudio.

Otra aproximación para incrementar la tasa de preñez con semen congelado por vía cervical ha sido el estudio vinculado a los diluyentes y al proceso de congelación-descongelación (revisado por Salamon y Maxwell, 2000; Leboeuf et al., 2002). En los últimos años se ha propuesto el agregado de plasma seminal en diferentes momentos del proceso de congelación-descongelación (Maxwell, 2006); sin embargo los resultados son controvertidos (O'Meara et al., 2007) y más estudios son necesarios en este sentido. Recientemente, vinculado a la seguridad sanitaria en el comercio internacional de genética, ha crecido el interés por el desarrollo de diluyentes comerciales sin componentes biológicos en su fórmula. A modo de ejemplo el uso de Bioexcell<sup>®</sup> en ovinos ha permitido resultados similares que con los diluyentes tradicionales (Gil et al., 2003).

Por último, se ha desarrollado la tecnología del sexado de semen que abre un campo por demás interesante al permitir la producción de animales con sexo previamente conocido. A partir de los primeros trabajos reportados en ratones a fines de los '80 (Johnson et al., 1989) miles de animales de diferentes especies han sido producidos con semen sexado (Garner, 2006), e incluso esta tecnología podría ser de interés también en humanos vinculado a ciertas patologías ligadas al sexo (Maxwell et al., 2004). La mayoría de los trabajos con semen sexado han sido realizados en bovinos y pocos reportes existen en ovinos (Catt et al., 1996; Cran et al., 1997; Hollinshead et al., 2002), no habiéndose reportado trabajos en caprinos. La técnica de citometría de flujo permite una alta exactitud en la identificación del sexo del

nuevo individuo cercana al 90%. Sin embargo, algunas limitantes dificultan la aplicación de la técnica en condiciones comerciales (revisado por Evans et al., 2004; Maxwell et al., 2004; Garner, 2006). Entre estas pueden citarse el elevado costo de cada dosis producida, la baja eficiencia en la producción aunque esta ha sido mejorada (15 millones de espermatozoides X y Y por hora), la reducción significativa del tiempo de vida del espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra, la baja cantidad de espermatozoides viables por dosis (particularmente luego del congelado-descongelado). Todos estos factores hacen necesario la deposición del semen en la porción craneal del cuerno a la vez de conocer con precisión el momento de la ovulación. Los resultados en ovinos con semen sexado y congelado sugieren una dosis mínima de  $10\text{-}15 \times 10^6$  espermatozoides móviles y utilización de la IA intrauterina para obtener una tasa de preñez aceptable (Maxwell et al., 2003; de Graaf et al., 2007b). En Argentina se reportaron tasas de preñez aceptables (30-44%) en ovejas inseminadas por laparoscopia con  $8\text{-}10 \times 10^6$  espermatozoides totales (Cattaneo et al., 2004). Por otra parte, el semen sexado asociado a programas MOET puede ser utilizado para incrementar de manera significativa la eficiencia en la multiplicación de ciertos individuos de interés (de Graaf et al., 2007a). También ha sido propuesto el uso de esta tecnología incorporada a la producción *in vitro* de embriones ovinos (O'Brien et al., 2004). En la medida que se incremente la eficiencia en el proceso de sexado - disminuyendo el costo de cada dosis producida - el uso de esta tecnología podrá ser aplicado en situaciones cada vez menos particulares.

## PUNCION FOLICULAR Y PRODUCCION IN VITRO DE EMBRIONES

La producción de embriones *in vitro* ha mostrado un fuerte avance en los últimos 15 años y seguramente se continúe incrementando su eficiencia en los próximos años. La punción folicular por laparoscopia (LOPU) asociada a la producción *in vitro* (PIV) de embriones son dos tecnologías cuya aplicación conjunta representan una alternativa menos traumática e invasiva que la técnica de TE tradicional (Tervit et al., 1992; Baldassarre et al., 1994; Todini et al., 1994) y que a la vez permite obtener tres veces más descendencia (Cognie et al., 2004). Además, la LOPU y la PIV sirven de plataforma para el desarrollo y aplicación de técnicas más modernas como el sexado de semen, la transgénesis y clonación. La baja incidencia de lesiones producida por la LOPU permite repetirla con una alta frecuencia durante la vida reproductiva de las hembras incrementando así la oferta de ovocitos y potenciales embriones. Por otra parte, la punción folicular evita algunas limitantes propias de los programas MOET que resultan en una gran variabilidad de los resultados, como la baja tasa ovulatoria, alta incidencia de cuerpos lúteos de regresión prematura y baja tasa de fertilización (Baldassarre y Karatzas, 2004).

Existen diferentes tratamientos de estimulación folicular previo a la punción. En general, las hembras son sincronizadas mediante el uso de un progestágeno durante varios días (p. ej. 10-12 días), en cabras asociado a una dosis luteolítica de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  36-48 horas antes del retiro del dispositivo. A las 36 horas antes de finalizar el tratamiento se administra una dosis de FSH y la LOPU se realiza junto con el retiro del dispositivo. Luego de comparar diferentes protocolos, Baldassarre et al. (2002) recomiendan una dosis única de 80 mg de FSHp + 300 UI de eCG 36 horas previo del momento en que se realiza la aspiración. Este es el tratamiento de elección tanto en ovejas (Baldassarre et al., 1996; Stenbak et al., 2001) como en cabras (Baldassarre et al., 2002). Los resultados reportados con este protocolo sobre 21.219 ovocitos colectados indican una media de 13,4 ovocitos por cabra y una tasa de recuperación cercana al 80% (Baldassarre y Karatzas, 2004).

Los ovocitos recuperados son madurados *in vitro* en estufa de cultivo a 37°C con 5% de  $\text{CO}_2$  y 95% de aire para que adquieran competencia de desarrollo. Existe una gran variedad de medios utilizados por diferentes grupos que difieren en sus componentes o en la concentración de los mismos. Algunos de los más utilizados son el TCM199 o el CR1aa suplementados con FSH, LH, estradiol, fluido folicular, suero

fetal bovino o albúmina sérica bovina y aminoácidos. Luego de 24 horas de maduración los ovocitos alcanzan el estado de metafase II con la extrusión del primer cuerpo polar. La fertilización *in vitro* se realiza mediante la adición del semen al medio de cultivo de ovocitos, previa capacitación del mismo a través de medios especiales adicionados con 10% de suero de oveja en celo. La fecundación se realiza durante un periodo de 6 horas, encontrándose un 50% de los ovocitos penetrados entre las 2,5 y 3 horas luego de la inseminación con semen fresco capacitado (Huneau et al., 1994). Posteriormente los ovocitos son cultivados en un medio de desarrollo ya sea con co-cultivo con células somáticas, o en un medio semidefinido que contemple los requerimientos embrionarios. El desarrollo *in vitro* se produce durante 6 días hasta que los embriones alcancen el estadio de blastocisto, momento en el que pueden ser transferidos a receptoras o congelados para su posterior uso. La tasa de clivaje a las 48 horas es cercana al 80%, con un desarrollo posterior a blastocisto del 50% y un porcentaje de sobrevivencia embrionaria luego de la transferencia cercana al 40-50% (Cognie et al., 2004).

Una de las limitantes de la técnica es el bloqueo en el desarrollo embrionario que se produce en el pasaje de 8 a 16 células cuando los embriones son cultivados en medio estándar como el TCM199. Una alternativa es transferir los embriones previo a este momento, por ejemplo luego de 24 horas de iniciada la fertilización *in vitro*. Esto implica la transferencia directamente en el oviducto y la disponibilidad de un mayor número de receptoras. La mayoría de los grupos se han enfocado en superar el fenómeno del bloqueo celular durante el desarrollo *in vitro* y transferir embriones en estadio de blastocisto. Los resultados han sido mejorados con el uso de sistemas de co-cultivo con células de oviducto incorporadas a estos medios. El efecto de las células de oviducto podría estar vinculado a la producción de algunos factores de crecimiento que regulan positivamente el desarrollo embrionario y/o a la remoción de componentes tóxicos del medio (Killian, 2004). Otros medios de cultivo que no requieren el uso de co-cultivo como el SOF (*synthetic oviduct fluid*) han sido desarrollados como forma de mejorar los requerimientos del embrión (Garner et al., 1994). Más recientemente se ha avanzado con el desarrollo de medios secuenciales que se adaptan a los distintos estadios evolutivos del embrión (Garner et al., 2000). El estudio de medios que se adapten a los requerimientos propios de cada etapa de desarrollo continúa siendo de interés.

Otra limitante aún presente en la producción *in vitro* de embriones es la baja sobrevivencia embrionaria luego de la congelación-descongelación tanto con el método convencional como con la vitrificación. Utilizando la vitrificación, los resultados de sobrevivencia embrionaria pueden considerarse apenas aceptables tanto en ovinos como en caprinos: 15 al 30% (Ptak et al., 1999; Traldi et al., 1999; Dattena et al., 2004). Recientemente, mediante el método cryotop para vitrificación que utiliza un volumen mínimo de medio (0,1 µl), se obtuvieron resultados similares a la tasa de sobrevivencia de embriones ovinos transferidos frescos (Kelly et al., 2004). Es necesario obtener resultados consistentes en un mayor número de trabajos que permitan incrementar la tasa de preñez obtenida en receptoras con embriones *in vitro* congelados-descongelados.

## TRANSGENESIS Y CLONACION

La técnica de clonación por transferencia nuclear (TN) permite multiplicar en forma idéntica individuos con material genético de interés. La técnica de TN consiste en introducir el ADN de un individuo determinado (célula donante) en ovocitos enucleados que actúan como células receptoras, fusionar a través de pulsos eléctricos las membranas del ovocito y de la célula donante y reiniciar posteriormente el ciclo celular, obteniendo gran cantidad de embriones que generarán individuos idénticos entre sí. A diez años del nacimiento de Dolly, la primera oveja clonada a partir de células somáticas (Wilmut et al., 1997), la técnica ha ido perfeccionándose con el objetivo de mejorar los resultados obtenidos. Los actuales

desafíos se presentan principalmente en la etapa de reprogramación nuclear, la que es afectada por la fase del ciclo celular, tipo y edad de la célula donante, factores citoplasmáticos y grado de metilación del ADN en la célula donante (Tibary et al., 2005). En pequeños rumiantes, la principal aplicación de la TN se da asociada a la producción de animales transgénicos como biorreactores. La transgénesis es una técnica que permite obtener individuos modificados genéticamente mediante la inserción o el silenciamiento de un gen de interés ya sea enfocado a la producción animal o la medicina humana. Por último, la combinación de ambas técnicas - transgénesis y TN - permiten modificar genéticamente células somáticas mediante la lipofección e introducir las posteriormente en ovocitos enucleados, previa selección *in vitro* de las células que integraron el transgen. A pesar que la eficiencia de ambas técnicas en conjunto es menor que la eficiencia de la microinyección clásica de ADN en pronúcleos (1-4% de las crías nacidas por microinyección son transgénicas; Nieman y Kues, 2003), la selección previo a la microinyección de las células lipofectadas nos da la seguridad de que todas las crías nacidas son transgénicas para el gen de interés (Keefer et al., 2001; Baldasarre et al., 2004). Además la TN permite la incorporación de mutaciones dirigidas a cierta región del genoma, lo que representa una ventaja con respecto a la técnica de microinyección en pronúcleos en la que la incorporación del transgen se efectúa al azar y con una cantidad de copias desconocida. Luego de la obtención de los animales transgénicos fundadores, los mismos pueden ser rápidamente multiplicados mediante la técnica de clonación (Keefer et al., 2002).

A diferencia de otras especies, la aplicación de la transgénesis en pequeños rumiantes se ha enfocado sobre todo a la producción de animales biorreactores a los cuales se les incorpora el gen productor de una proteína recombinante de interés (por ej. la antitrombina humana III, el factor activador del plasminógeno, la  $\alpha$ -antitripsina; Niemann y Kues, 2003). La producción de estas proteínas está dirigida a la glándula mamaria a través de la incorporación en el transgen de un gen promotor lácteo como el de la  $\beta$ -caseína, por lo que posteriormente pueden ser purificadas en leche. La ventaja de trabajar con pequeños rumiantes en comparación con los bovinos es su menor tamaño, menor costo de mantenimiento, un periodo de gestación más corto y su mayor eficiencia para producir leche en el caso de los caprinos.

Otro de los grandes avances que se han producido en los últimos años en el área de la transgénesis es la incorporación de las técnicas de interferencia de ARN (siARN) así como la transfección de ADN mediada por lentivirus. Esta última supera las limitaciones de las transferencias de genes mediadas por otros virus, como el silenciamiento del locus transgénico y los bajos niveles de expresión. Debido a su capacidad de infectar un gran espectro de células en diferentes etapas del ciclo celular, la transgénesis lentiviral es actualmente el método más eficiente para producir animales transgénicos, incluyendo el ganado y las aves (Robl et al, 2007).

El siARN es una técnica relativamente sencilla en la cual el ARNm de interés es degradado por exonucleasas y por lo tanto no hay producción de proteínas, generando así un animal knock-down para ese gen. Con la aplicación conjunta de ambas técnicas – siARN y transfección por lentivirus - en un futuro cercano se podría lograr un método con una gran eficiencia en transferencia génica, que permita obtener animales knock-down para un gen altamente específico en estas especies (Niemann et al., 2005).

La gran velocidad con que estas biotecnologías han avanzado en los últimos años no deja de sorprendernos y nos compromete a tener un criterio formado sobre el uso de las mismas en diferentes situaciones. Esto ha generado polémica y el debate trasciende los ámbitos académicos siendo abordado desde diferentes enfoques, donde confrontan aspectos bioéticos, religiosos, políticos y económicos. Al margen de estas posturas y desde una posición puramente técnica es oportuno citar un enunciado incluido en el juramento de graduación del veterinario: *“juro solemnemente que los conocimientos científicos y habilidades serán utilizados para el beneficio de la sociedad mediante la protección de la*

*salud animal, el alivio del sufrimiento innecesario de estos, la conservación de los recursos animales, la promoción de la salud pública y el avance en el conocimiento médico".*

## CONCLUSIONES

Se presentaron los avances más recientes y de mayor impacto en la aplicación de las TRA en ovinos y caprinos. Asimismo se plantearon una serie de limitantes aún presentes y que podrían interpretarse como los puntos a resolver en los próximos años. En los últimos 20 años el estudio de la dinámica folicular ha permitido un importante avance en el uso de diferentes hormonas para el control de la ovulación. Una de las aplicaciones ha sido en el diseño de nuevos protocolos para IATF, tecnología con mayor demanda en los últimos años en respuesta al creciente interés por evitar la detección de estro. A su vez, la información generada sobre la dinámica folicular, el control del cuerpo luteo y la ovulación también ha sido incorporada a los programas MOET en pequeños rumiantes. En los últimos años se han desarrollado nuevos protocolos de superovulación que permiten incrementar el número de embriones transferibles por donante, aunque la variabilidad en los resultados continúa siendo motivo de estudio. Por su parte, la producción *in vitro* de embriones asociada a la punción folicular por laparoscopia es aplicada en diferentes situaciones al permitir un incremento significativo en la multiplicación de individuos de interés. Tecnologías más modernas como el sexado de semen, la transgénesis y la clonación han adquirido un interés particular no sólo en producción animal, sino también vinculado a las ciencias biomédicas y a la farmacéutica. Estas últimas tecnologías requieren incrementar su eficiencia de manera tal que el costo de producir un nuevo individuo justifique su aplicación en condiciones cada vez menos particulares. En suma, una serie de avances durante los últimos años en las ciencias más fundamentales ha tenido un fuerte impacto sobre las biotecnologías aplicadas a la multiplicación de ovinos y caprinos. En los próximos años probablemente la gran mayoría de estos avances sean incorporados por diferentes grupos de investigación, empresas privadas o técnicos prácticos en nuestra región.

## REFERENCIAS

- Armstrong DT, Evans G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology* 1983; 19:31-42.
- Baldassarre H, Wag B, Keefer CL, Lazaris A, Katatzas CN. State of the art in the production of transgenic goats. *Reprod Fertil Dev* 2004; 16:465-470.
- Baldassarre H, de Matos DG, Furnus CC, Castro TE, Fischer EIC, de Matos DG. Technique for efficient recovery of sheep oocytes by laparoscopic folliculocentesis. *Anim Reprod Sci* 1994; 35:145-150.
- Baldassarre H, Furnus CC, de Matos DG, Pessi H. In vitro production of sheep embryos using laparoscopic folliculocentesis alternative gonadotrophin treatments for stimulation of oocyte donors. *Theriogenology* 1996; 45:707-717.
- Baldassarre H, Karatzas CN. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-84:255-266.
- Baldassarre H, Wang B, Kafidi N, Keefer CL, Lazaris A, Karatzas CN. Advances in the production and propagation of transgenic goats using laparoscopic ovum pick-up and in vitro embryo production technologies. *Theriogenology* 2002; 57:275-284.
- Bartlewsky PM, Beard AP, Cook SJ, Rawling NC. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J Reprod Fert* 1998; 113:275-285.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. Ultrasonographic study of ovarian function during early pregnancy and after parturition in the ewe. *Theriogenology* 2000; 53:673-89.

- Brand A, de Jong WHR. Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. *J Reprod Fert* 1973; 33:431-439.
- Catt SL, Catt JW, Gomez MC, Maxwell WMC, Evans G. Birth of a male lamb derived from in vitro matured oocyte fertilized by intracytoplasmic injection of a single "male" sperm. *Vet. Rec.* 1996; 139: 494-495.
- Cattaneo L, Panarace M, Caballero J, Calvi M, Vietri B, Puyó E, Medina M. Pregnancy rate in ewes inseminated with sexed semen in Argentina. *Reprod Fert Dev* 2004; 16:284 (abstract).
- Cognié Y, Poulin N, Locatelli Y, Mermillod P. State-of-the-art production, conservation and transfer of in-vitro-produced embryos in small ruminants. *Reprod Fert Dev* 2004; 16:437-445.
- Cran DG, McKelvey WAC, King ME, Dolman DF, McEvoy TG, Broadbent PJ, Robinson JJ. Production of lambs by low dose intrauterine insemination with flow cytometrically sorted and unsorted sperm. *Theriogenology* 1997; 47:267 (abstract).
- Dattena M, Accardo C, Pilichi S, Isachenko V, Mara L, Chessa B, Cappai, P. Comparison of different vitrification protocols on viability after transfer of ovine blastocysts in vitro produced and in vivo derived. *Theriogenology* 2004; 62:481-493.
- de Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* 1999; 52:399-411.
- de Graaf SP, Beilby K, O'Brien JK, Osborn D, Downing JA, Maxwell WMC, Evans G. Embryo production from superovulated sheep inseminated with sex-sorted ram spermatozoa. *Theriogenology* 2007a; 67:550-555.
- de Graaf SP, Evans G, Maxwell WMC, Cran DG, O'Brien JK. Birth of offspring of pre-determined sex after artificial insemination of frozen-thawed, sex-sorted and re-frozen-thawed ram spermatozoa. *Theriogenology* 2007b; 67:391-398.
- Driancourt, MA, Gibson, WR, Cahill, LP. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. *Reprod Nutr Develop* 1985; 25:1-15.
- Evans ACO. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:289-306.
- [Evans G, Hollinshead FK, Maxwell WM.](#) Preservation and artificial insemination of sexed semen in sheep. *Reprod Fertil Dev* 2004; 16:455-64.
- [Fernandez Abella D, Preve MO, Villegas N.](#) Insemination time and dilution rate of cooled and chilled ram semen affects fertility. *Theriogenology* 2003; 60:21-26.
- Garner DK, Lane M, Spitzer A, Batt PA. Enhanced rates of cleavage and development of sheep zygotes cultured to the blastocyst stage in vitro in the absence of serum and somatic cells: amino acids, vitamins, and culturing embryos in groups stimulate development. *Biol Reprod* 1994; 50:390-400.
- Garner DL. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology* 2006; 65:943-957.
- Gaston-Parry O, Heasman K, Nemorin JKE, Robinson TJ. A radioimmunoassay for fluorogestone acetate (FGA) and its application to the measurement of plasma FGA and progesterone in ewes treated with FGA-impregnated intravaginal sponges. *Austr J Biol Sci* 1988; 41:57-67.
- Gil J, Rodriguez-Irazaqui M, Lundeheim N, Soderquist L, Rodriguez-Martinez H. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell® and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology* 2003; 59:1157-1170.
- Ginther OJ, Kot K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology* 1994; 42:987-1001.
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes. *Theriogenology* 1995; 43:689-703.
- Greyling JPC, Kotze WF, Taylor GJ, Hagendijk WJ, Cloete F. Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of progestogen outside the normal breeding season. *S Afr J Anim Sci* 1994; 24:33-37.
- Gonzalez de Bulnes A, Santiago Moreno J, Gomez-Brunet A, Inskip EK, Townsend EC, Lopez-Sebastian A. Follicular dynamics during the estrous cycle in dairy goats. *Anim Sci* 1999; 68:547-554.
- Hawk HW, Conley HH. Investigations of sperm transport failure in ewes administered synthetic progestagen. *J Anim Sci* 1972; 34:609-613.

- Hollinshead FK, O'Brien JK, Maxwell WMC, Evans G. Production of lambs of predetermined sex after the insemination of ewes with low numbers of frozen-thawed sorted X- or Y-chromosome bearing spermatozoa. *Reprod Fert Dev* 2002; 14:503-508.
- Johnson LA, Flook JP, Hawk HW. Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. *Biol Reprod* 1989; 41:199-203.
- Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Dom Anim Endocr* 1996; 13:69-79.
- Keefer CL, Baldassarre H, Keyston R, Wang B, Bhatia B, Bilodeau AS, Zhou JF, Leduc M, Downey BR, Lazaris A, Karatzas CN. Generation of Dwarf Goat (*Capra hircus*) Clones Following Nuclear Transfer with Transfected and Nontransfected Fetal Fibroblasts and In Vitro-Matured Oocytes. *Biol Reprod* 2001; 64:849-856.
- Keefer CL, Keyston R, Lazaris A, Bhatia B, Begin I, Bilodeau AS, Zhou FJ, Kafidi N, Wang B, Baldassarre H, Karatzas CN. Production of cloned goats after nuclear transfer using adult somatic cells. *Biol Reprod* 2002; 66:199-203.
- Kelly JM, Kleemann DO, Kuwayama M, Walker SK. Vitrification of in vitro-produced bovine and ovine embryos using the minimum volume cooling cryotop method. *Reprod Fert Dev* 2004; 16:172-173.
- Killian GJ. Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:141-153.
- Killen ID, Caffery GJ. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. *Aust Vet J* 1982; 59:95-102.
- [Leboeuf B](#), [Restall B](#), [Salamon S](#). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2000; 62:113-41.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, de La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci* 1992; 70:3615-3626.
- Maxwell WMC, Hollinshead FK, Rath D, O'Brien JK, Evans G. Effect of dose of sperm processed for sex-sorting and cryopreservation on fertility in ewes. *Theriogenology* 2003; 59:511 (abstract).
- [Maxwell WM](#), [de Graaf SP](#), [Ghaoui Rel-H](#), [Evans G](#). Seminal plasma effects on sperm handling and female fertility. *Soc Reprod Fert Suppl* 2007; 64:13-38.
- Maxwell WMC, Evans G, Hollinshead FK, Bathgate R, de Graaf SP, Eriksson BM, L. Gillan, K.M. Morton, J.K. O'Brien. Integration of sperm sexing technology into the art toolbox. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:79-85.
- Menchaca A. Tratamientos cortos con progestinas para IATF en caprinos: respuesta endocrina, control del cuerpo lúteo, dinámica folicular, momento ovulatorio y fertilidad obtenida. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay, 2006.
- Menchaca A, Rubianes E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fert Dev* 2004; 16:403-414.
- Menchaca A, Rubianes E. Pregnancy rate obtained after a Short-Term Protocol for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in goats. *Reprod Dom Anim* 2007a, *in press*.
- Menchaca A, Pinczak A, Rubianes E. Ultrasonographic estimation of the ovulation rate and the length of the ovulation period in superovulated goats. *Theriogenology* 2001; 55:531 (abstract).
- Menchaca A, Pinczak A, Rubianes E. Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on Day 0 or day 3 post-ovulation in goats. *Theriogenology* 2002; 58:1713-1721.
- Menchaca A, Miller V, Gil J, Pinczak A, Laca M, Rubianes E. Prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment associated with Timed Artificial Insemination in ewes. *Reprod Dom Anim* 2004; 39:352-355.
- Menchaca A, Pinczak A, Queirolo D. Storage of ram semen at 5° C: effect of preservation period and moment of timed artificial insemination. *Anim Reprod* 2005; 2:195-198.
- Menchaca A, Miller V, Salveraglio V, Rubianes E. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronise ovulation in goats. *Anim Reprod Sci* 2007a; *in press*.



- Menchaca A, Vilariño M, Crispo M, Pinczak A, Rubianes E. Day 0 Protocol: superstimulatory treatment initiated in absence of a dominant follicle improves ovarian response and embryo yield in goats. *Theriogenology* 2007b; aceptado.
- Menchaca A, Vilariño M, Kmaid S, Pinczak A, Saldaña JM. Day 0 Protocol for superovulation in sheep: ovulatory response and embryo yield. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007c; 64:515.
- Niemann H, Kues W, Carnwath JW. Transgenic farm animals: present and future. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2005; 24:285-298.
- Niemann H, Kues WA. Application of transgenesis in livestock for agriculture and biomedicine. *Anim Reprod Sci* 2003; 79:291-317.
- Noel B, Bister JL and Paquay R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *J Reprod Fert* 1993; 99:695-700.
- O'Brien JK, Hollinshead FK, Evans G, Maxwell WMC. In vitro developmental capacity of in vitro produced sexed embryos derived from sex-sorted and re-cryopreserved frozen-thawed ram sperm. *Reprod Fertil Dev* 2004; 16:286 (abstract).
- O'Meara CM, Donovan A, Hanrahan JP, Duffy P, Fair S, Evans ACO, Lonergan P. Resuspending ram spermatozoa in seminal plasma after cryopreservation does not improve pregnancy rate in cervically inseminated ewes. *Theriogenology* 2007; 67:1262-1268.
- Pierson JT, Baldassarre H, Keefer CL, Downey BR. Influence of GnRH administration on timing of the LH surge and ovulation in dwarf goats. *Theriogenology* 2003; 60:397-406.
- Pinczak A, Menchaca A, Rubianes E. Seguimiento ultrasonografico ovárico y embrionario durante la gestación temprana de la cabra. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina 2001; 298 (abstract).
- Ptak G, Dattena M, Loi P, Tischner M, Cappai P. Ovum pick-up in sheep: efficiency of in vitro embryo production, vitrification and birth of offspring. *Theriogenology* 1999; 52:1105-1114.
- [Quinlivan TD](#), [Robinson TJ](#). Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. *J Reprod Fertil* 1969; 19:73-86.
- Ravindra JP, Rawlings NC, Evans ACO, Adams GP. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrus cycle. *J Reprod Fert* 1994; 101:501-509.
- Ravindra JP, Rawlings NC. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. *J Reprod Fert* 1997; 110:279-289.
- Revah I, Butler WR. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fert* 1996; 106:39-47.
- Robinson TJ, Quinlivan TD, Baxter C. The relationship between dose of progestagen and method of preparation of intravaginal sponges on their effectiveness for the control of ovulation in the ewe. *J Reprod Fertil* 1968; 17:471-483.
- Robl J, Wang Z, Kasinathan P, Kuroiwa Y. Transgenic animal production and animal biotechnology. *Theriogenology* 2007; 67:127-133.
- Rubianes E, Ibarra D, Ungerfeld R, de Castro T, Carbajal B. Superovulatory response in anestrus ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology* 1995; 43:465-472.
- Rubianes E, de Castro T, Carbajal B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can J Anim Sci* 1996; 76:473-475.
- Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, Rivero A, Adams GP. Ovarian response to superstimulatory treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology* 1997; 47:1479-1488.
- Rubianes E, de Castro T, Kmaid S. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrus goats. *Theriogenology* 1998; 49:356 (abstract).
- Rubianes E, Menchaca A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:271-287.
- Salamon S, Maxwell WMC. Storage of ram semen *Anim Reprod Sci* 2000; 62:77-111.

- Salamon S, Maxwell WMC, Firth JH. Fertility of ram semen after storage at 5°C. *Anim Reprod Sci* 1979; 2:373-38.
- Schrick FN, Surface RA, Pritchard JY, Dailey RA, Townsend EC, Inskeep EK. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol Reprod* 1993; 49:1133-1140.
- Smeaton TC and Robertson HA. Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *J Reprod Fert* 1971; 25:243-252.
- Souza CJH, Campbell BK, Baird DT. Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus. *J Reprod Fert* 1996; 108:101-106.
- [Stenbak TK](#), [Redmer DA](#), [Berginski HR](#), [Erickson AS](#), [Navanukraw C](#), [Toutges MJ](#), [Bilski JJ](#), [Kirsch JD](#), [Kraft KC](#), [Reynolds LP](#), [Grazul-Bilska AT](#). Effects of follicle stimulating hormone (FSH) on follicular development, oocyte retrieval, and in vitro fertilization (IVF) in ewes during breeding season and seasonal anestrus. *Theriogenology* 2001; 56:51-64.
- Tervit HR, Smith JF, McGowan LT, Well RW and Parr J. Laparoscopic recovery of oocytes from sheep. *Proc Aust Soc Repro Bio* 1992; 24:26 (abstract).
- Tibary A, Anouassi A, Khatir H. Update on reproductive biotechnologies in small ruminants and camelids. *Theriogenology* 2005; 64:618-638.
- Todini L, Cognie Y, Poulin N and Guerin Y. In vivo recovery of oocytes from goats by laparoscopic follicular aspiration. *Soc Ital Patol Allev Ovini e Caprini. Italy, 1-4 giugno 1994*; 1331-1334.
- Traldi AS, Leboeuf B, Cognié Y, Poulin N, Mermillod P. Comparative results of in vitro and in vivo survival of vitrified in vitro produced goat and sheep embryos. *Theriogenology* 1999; 51:175 (abstract).
- Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short progestagen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim Sci* 1999; 68:349-353.
- Ungerfeld R. Efecto de la dosis de progestina y del tiempo de administración sobre la fertilidad del celo inducido en ovejas durante el anestro estacional. Tesis de maestría, PEDECIBA, UdelaR, Montevideo, Uruguay, 2001.
- Viñoles C. Some aspects on the effects of estrous synchronization treatments on ovarian dynamics in the cyclic ewe. Tesis de maestría, Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia, 2000.
- Viñoles C, Forsberg M, Bancharo G, Rubianes E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology* 2001; 55:993-1004.
- Vivanco HW, Greaney KB, Varela H. Explaining the variability in superovulation responses and yielded of transferable embryos in sheep embryo transfers. *Theriogenology* 1994; 41:329 (abstract).
- Wilmot I, Schuleke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385:810-813.



## NUEVAS ALTERNATIVAS PARA LA SUPEROVULACIÓN DE DONANTES DE EMBRIONES

---

**Gabriel A. Bó<sup>1</sup>, Pablo M. Chesta<sup>1</sup>, Daniel Carballo Guerrero<sup>1</sup> y Reuben J. Maplettoft<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), J.L. de Cabrera 106, X5000GVD, Argentina

<sup>2</sup>Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada

e-mail: [gabrielbo@iracbiogen.com.ar](mailto:gabrielbo@iracbiogen.com.ar)

### *Introducción*

Reproducir los animales de mayor valor comercial ha llevado a desarrollar distintas biotecnologías que permitan obtener la mayor cantidad de descendientes en el menor tiempo posible. Durante los últimos años se han llevado a cabo numerosas investigaciones con el objetivo de aumentar la cantidad de embriones transferibles obtenidos en los tratamientos superovulatorios. En base a los resultados de experiencias realizadas en varios laboratorios se puede afirmar los tratamientos con FSH deben comenzarse en el momento de comienzo de la onda folicular, antes de la selección del folículo dominante (Bungarts y Niemann, 1992; Huhtinen et al., 1992; Adams et al., 1993a, 1993b; Nasser et al, 1993; Adams et al., 1994; Bó et al., 1995). Para iniciar los tratamientos superestimuladores al comienzo de una onda folicular se pueden realizar exámenes diarios por ultrasonografía o utilizar tratamientos que la sincronicen. Existen métodos mecánicos como la aspiración de todos los folículos  $\geq 5$  mm presentes en el ovario (la superovulación debe iniciarse 1 o 2 días después; Bergfelt et al., 1997) o tratamientos hormonales (Bó et al., 1995). El intervalo ideal entre el tratamiento con 5 mg de Estradio-17 $\beta$  o 2,5 mg de benzoato de estradiol (EB) y la superovulación es de 4 días (Bó et al., 2002). Este tratamiento es el más utilizado en la actualidad en todo el mundo, debido a que resulta en un número de embriones transferibles similar o superior a los tratamientos realizados de la manera más tradicional (8 a 12 días después del celo), con la gran ventaja de que permite independizarse de la detección de celos de las donantes para programar un protocolo de superovulación. El objetivo de este resumen es presentar nuevos trabajos en donde se ha avanzado en la simplificación del protocolo de superovulación, mediante la inseminación de las donantes a tiempo fijo (IATF) y presentar nuevas alternativas de superovulación sin el uso de

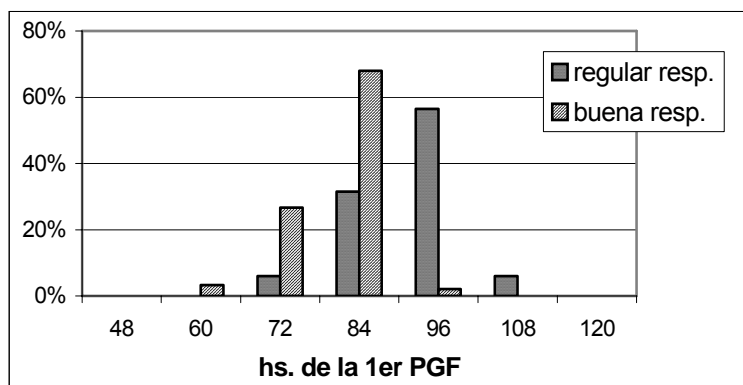
estradiol, para comenzar a trabajar sobre ellos en teniendo en cuenta que cada vez son mas los países donde no hay estradiol disponible en el mercado veterinario.

### Sincronización de la ovulación e IA a tiempo fijo en donadoras de embriones

La sincronía de la ovulación también es uno de los problemas reportados como causa de pobre respuesta superovulatoria. En las vacas superovuladas, el intervalo desde la administración de PGF hasta el pico de LH varía en un rango de 38 a 42 h (Greve et al., 1983; Callesen et al. 1986) y se ha observado una correlación inversa entre la tasa ovulatoria y el intervalo comprendido entre administración de PGF y el pico de LH. Aunque se han publicado varios y controvertidos trabajos sobre el uso de GnRH, LH, hCG durante el estro para "asegurar" la presencia de un pico preovulatorio de LH en vacas superestimuladas (Wubishet et al., 1986; Savage et al, 1987; Mapletoft et al., 2000, Barros y Nogueira, 2001) no existen trabajos donde se haya evaluado críticamente el efecto de los inductores de la ovulación sobre la sincronía de las ovulaciones.

Se realizó un experimento preliminar con el objetivo de determinar el momento y la distribución de las ovulaciones en vacas tratadas con Folltropin-V (Chesta et al., 2003). Para este experimento se utilizaron 18 vacas secas (Angus y Hereford), de 3 a 6 años de edad, con una condición corporal entre 2,5 y 4 (escala 1–5). En el Día 0, todas las vacas recibieron un DIB (Syntex S.A., Argentina) más 2,5 mg de estradiol-17 $\beta$  y 50 mg de progesterona im (Laboratorio Río de Janeiro, Argentina). En el Día 4 todos los animales recibieron 400 mg NIH-FSH-P1 de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá). En el Día 6, las vacas fueron divididas al azar en dos grupos: las que se les retiró el DIB ese día por la tarde (Día 6.5 o P12 según Barros y Nogueira, 2005) y las que se les retiró el DIB en el Día 7 por la tarde (Día 7.5 o P24). Las vacas de ambos grupos recibieron 150  $\mu$ g de D (+) cloprostenol (PGF, Celar, Zoovet, Argentina) 12 h antes de retirado el DIB y cuando se retiró el DIB. Las vacas fueron examinadas por ultrasonografía cada 12 h y por 5 días desde el momento de la primera PGF (Hora 0). Se definió la ovulación como la desaparición de los folículos  $\geq 10$  mm presentes en el Día 8. Se evaluó la distribución del tiempo de ovulación por el Test de Bartlett y se comparó el número de ovulaciones totales y el momento promedio de ovulación por el test T de Student. No hubo diferencias en el momento y la distribución de la ovulación entre las vacas del Grupo Día 6.5 ( $87,5 \pm 3,4$  h) y Día 7.5 ( $82,3 \pm 3,5$  h,  $P=0,3$ ) y tampoco se observaron diferencias entre los grupos en la cantidad de ovulaciones ( $P=0,27$ ). Sin embargo, cuando los resultados fueron analizados en función de la respuesta superovulatoria de cada animal (vacas con 1 o más ovulaciones,  $n=14$ ), considerando como "buena" a vacas con  $> 4$  ovulaciones y "regular" a vacas con  $\leq 4$  ovulaciones, surgen claras diferencias (Figura 1). Las vacas con "buena" respuesta ovularon antes ( $79,6 \pm 1,8$  h) que las vacas con respuesta "regular" ( $90,2 \pm 3,7$ ;  $P=0,023$ ). Además, el intervalo entre la primera y la última ovulación fue 0 a 12 h en 11/14 (78,6%) vacas, 12 a 24 h en 2/14 (14,3%) vacas y 24 a 36 h en 1/14 (7,0%) vacas.

**Figura 1.** Distribución de las ovulaciones en vacas con "regular" ( $\leq 4$  ovulaciones) o "buena" ( $> 4$  ovulaciones) respuesta superovulatoria.



En conclusión, las vacas con una respuesta “regular” tienen un ovulación 12 h más tarde que las vacas con una respuesta “buena” y en la mayoría de los casos hay un intervalo de hasta 12 h entre la primera y última ovulación. Esto indica que las IA tradicionalmente realizadas a las 60 y 72 h de la primera PGF serían adecuadas para las vacas con “buena” respuesta superovulatoria, pero tal vez muy anticipadas para las vacas con respuesta “regular”.

Teniendo en cuenta estos resultados preliminares se realizó una serie de experimentos para evaluar y estudiar con más detalle el momento de la ovulación en vacas donadoras de embriones y comprobar el efecto de la sincronización de la ovulación sobre la producción de embriones fertilizados y transferibles en vacas superestimuladas con FSH (Bó et al., 2006). Los objetivos del primer experimento fueron: 1) Evaluar el efecto de atrasar la remoción del dispositivo con progesterona por 12 h con respecto al tratamiento tradicional (Día 6 por la tarde) sobre la sincronía y tasa de ovulación, índices de fertilización y el número de embriones transferibles en vacas donantes de embriones. 2) Evaluar el efecto de la aplicación de GnRH en el momento esperado del celo sobre la sincronía y tasa de ovulación, índices de fertilización y el número de embriones transferibles en vacas donantes de embriones.

Se utilizaron donantes de embriones (53 vacas y 42 vaquillonas Angus y Brangus), ciclando y con una condición corporal entre 2.5 y 3.5 (Escala 1 al 5) que fueron bloqueadas por raza y edad y divididas en 4 grupos en un diseño experimental de 2 x 2 factorial. Todas las donantes fueron tratadas el Día 0 con un dispositivo intravaginal DIB, junto con 2,5 mg de E-17 $\beta$  y 50 mg de progesterona. El Día 4 se inició el tratamiento superovulatorio, el cual consistió en la aplicación una dosis total de 360 mg NIH-FSH-P1 de Folltropin-V a las vacas Angus, 320 mg de Folltropin-V a las Brangus, 200 mg de Folltropin-V a las vaquillonas Angus y 180 mg de Folltropin-V a las vaquillonas Brangus. En el Día 6 (mañana y tarde), todas las vacas recibieron 2 inyecciones 150  $\mu$ g de D (+) cloprostenol (Ciclose, Syntex) y fueron divididas al azar en dos grupos a las cuales se les retiró el DIB en el Día 6 por la tarde (Día 6.5 o P12) o 7 por la mañana (Día 7 o P24). El Día 8 las vacas en cada grupo fueron nuevamente subdivididas para recibir 0.05 mg de Lecirelina por vía intramuscular o un placebo por la misma vía. Se realizó la IA en el Día 8 PM y el Día 9 AM (60 y 72 h de la primera dosis de PGF) con semen congelado de probada calidad. El Día 15 se colectaron los embriones por método no quirúrgico y fueron evaluados según las normas de la IETS por estadio de desarrollo y calidad.

Además, se realizó ultrasonografía transrectal (100 Falco Vet, Pie Medical, Holanda con un transductor 8 MHz) a un subgrupo de 37 vacas y 17 vaquillonas que representaban a cada grupo. Las donantes fueron examinadas el Día 0 del tratamiento para determinar ciclicidad y el Día 8 del tratamiento para determinar desarrollo folicular, contabilizando, identificando y diagramando todos los folículos menores a 6 mm, de 6 a 8 mm y folículos mayores a 10 mm. Además se hicieron examinaciones frecuentes (cada 8 h), desde el Día 8 hasta el Día 11, para determinar el momento y número de ovulaciones (desaparición de folículos mayores a 10 mm). La técnica de seguimiento utilizada fue la descrita en los trabajos anteriores (Bó et al., 1994). Los datos obtenidos de mediciones realizadas sobre cada unidad experimental, como el momento de la ovulación, fueron analizadas por la Prueba de Levene para contrastar la hipótesis de igualdad de varianzas entre los grupos y fueron analizadas por ANAVA, teniendo en cuenta el efecto día de remoción del DIB, tratamiento con GnRH y su interacción. Los datos de la respuesta superovulatoria fueron evaluados por el número y calidad de los embriones obtenidos analizados por ANAVA.

Se encontró un efecto significativo de la raza sobre el número de ovulaciones (Angus:  $14.0 \pm 1.0$  vs Brangus:  $22.0 \pm 1.8$ ;  $P < 0.001$ ), pero no sobre el momento de las ovulaciones (Angus:  $81.0 \pm 1.2$  h vs Brangus:  $77.6 \pm 1.3$  h;  $P > 0.13$ ). Además no se encontraron diferencias entre vacas y vaquillonas ( $P >$

0.13) en ninguno de los parámetros evaluados. Con respecto a los tratamientos, a pesar de que no hubo diferencias en el número de ovulaciones ( $P > 0.22$ ; Tabla 1), se encontraron diferencias significativas en la distribución de las ovulaciones ( $P < 0.01$ ). Cuando el DIB fue removido en el Día 7 (P24) y la GnRH administrada en el Día 8, se encontró una mayor homogeneidad en las ovulaciones que en los otros tres tratamientos (Tabla 1). Las ovulaciones ocurrieron entre las 56 y 104 h después de la PGF en el Grupo Día 6.5-control (no GnRH), entre las 64 y 96 h en las del Grupo Día 6.5-GnRH, entre las 72 y 96 h en las del Grupo Día 7-control y entre las 64 y 96 h en las del Grupo Día 7-GnRH. Además, demorar la remoción del DIB resultó en una demora en el comienzo de las ovulaciones, evitando las ovulaciones muy tempranas. Cuando el DIB fue removido el Día 6.5, 11/27 (40.7 %) de las donantes comenzaron a ovular antes de las 72 h después de la PGF, pero cuando el DIB fue removido en el Día 7, 1/27 (3.7 %) de las donantes comenzaron a ovular antes de las 72 h ( $P < 0.001$ ). El número de ovocitos/embriones y embriones transferibles fue numéricamente mayor en las donantes tratadas con GnRH que en las no tratadas con GnRH y cuando el DIB fue removido en el Día 7 que en el Día 6.5 (Tabla 2), sugiriendo que otros factores además del momento de la ovulación participan en la producción de embriones de calidad. No obstante, la remoción del DIB en el Día 7 y la administración de GnRH en el Día 8 sincronizaron las ovulaciones y evitaron las ovulaciones tempranas, dando potencialmente más seguridad de que la IA se realice en el momento más oportuno en relación a las ovulaciones.

**Tabla 1.** Número medio e intervalo a la ovulación (en horas desde la primera PGF) en vacas y vaquillonas Angus y Brangus superovuladas y tratadas con dispositivos con progesterona (DIB) por 6.5 o 7 días, combinados o no con GnRH en el Día 8.

Remoción del DIB	GnRH (Día 8)	N	Ovulaciones	Intervalo a la ovulación (h)	
			Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE	Varianza
Día 6,5 (P12)	No	13	15,2 $\pm$ 2,2	79,4 $\pm$ 2,0	50,2 <sup>b</sup>
Día 6,5 (P12)	Sí	14	16,6 $\pm$ 1,6	77,1 $\pm$ 2,0	53,8 <sup>b</sup>
Día 7 (P24)	No	13	18,1 $\pm$ 2,3	83,6 $\pm$ 2,0	53,0 <sup>b</sup>
Día 7 (P24)	Sí	14	17,9 $\pm$ 2,4	79,1 $\pm$ 0,7	7,6 <sup>a</sup>
<b>Efectos Principales</b>					
	Sí	28	17,3 $\pm$ 1,4	78,1 $\pm$ 1,1 <sup>c</sup>	30,6
	No	26	16,6 $\pm$ 1,6	81,5 $\pm$ 1,4 <sup>d</sup>	53,9
Día 6,5 (P12)		27	15,9 $\pm$ 1,3	78,2 $\pm$ 1,4	51,6
Día 7 (P24)		27	18,0 $\pm$ 1,6	81,2 $\pm$ 1,1	33,5

Medias o varianzas en la misma columna con diferentes superíndices difieren (<sup>ab</sup> $P < 0,01$ ; <sup>cd</sup> $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Número medio ( $\pm$  EE) de ovocitos/embriones colectados, ovocitos fertilizados y embriones transferibles en vacas y vaquillonas Angus y Brangus superovuladas y tratadas con dispositivos con progesterona (DIB) por 6,5 o 7 días, combinados o no con GnRH en el Día 8. En todos los casos las donantes fueron IA 12 y 24 h después de la GnRH.

Remoción del DIB	GnRH (Día 8)	N	Ovocitos/Embriones Colectados	Ovocitos Fertilizados	Embriones Grado 1 y 2
Día 6,5 (P12)	No	23	8,8 $\pm$ 1,6	6,6 $\pm$ 1,3	4,2 $\pm$ 0,8
Día 6,5 (P12)	Sí	23	10,4 $\pm$ 1,8	7,0 $\pm$ 1,4	5,4 $\pm$ 1,1
Día 7 (P24)	No	22	10,8 $\pm$ 1,8	8,2 $\pm$ 1,4	5,6 $\pm$ 1,2
Día 7 (P24)	Sí	27	13,3 $\pm$ 2,1	9,2 $\pm$ 1,4	5,4 $\pm$ 0,9
<b>Efectos Principales</b>					
	No	45	9,8 $\pm$ 1,2	7,4 $\pm$ 1,0	4,9 $\pm$ 0,7
	Sí	50	12,0 $\pm$ 1,4	8,2 $\pm$ 1,0	5,4 $\pm$ 0,7
Día 6,5 (P12)		46	9,6 $\pm$ 1,2	6,8 $\pm$ 0,9	4,8 $\pm$ 0,7
Día 7 (P24)		49	12,2 $\pm$ 1,4	8,7 $\pm$ 1,0	5,5 $\pm$ 0,7

Medias no difieren ( $P > 0,1$ ).

Se realizó otro experimento para evaluar el efecto de la aplicación de GnRH o pLH (Lutropin, Bioniche Animal Health, Canada) a las 12 o 24 h de retirado el dispositivo sobre los índices de fertilización y la cantidad de embriones transferibles en donantes Angus y Brangus (Chesta et al., 2007). Se utilizaron 131 donantes, 99 Angus (56 vaquillonas y 43 vacas) y 32 Brangus (22 vaquillonas y 10 vacas), todas se encontraban ciclando y con una condición corporal entre 2,5 y 3,5 (escala del 1 al 5). En el Día 0 todas las donantes fueron tratadas con un dispositivo intravaginal DIB, junto con 2,5 mg de E-17  $\beta$  y 50 mg de progesterona. El Día 4 se iniciaron los tratamientos superovulatorios con Folltropin-V, de la misma forma que en los experimentos anteriores. En el Día 6 (mañana y tarde), todas las vacas recibieron 2 inyecciones 150  $\mu$ g de D+ cloprostenol. Se realizó la remoción del dispositivo en el Día 7 por la tarde y en el Día 8 fueron divididas en uno de los cuatro grupos de tratamiento: 1) las que se les realizó la aplicación de GnRH a las 12 h de removido el dispositivo (Día 8); 2) las que se les realizó la aplicación de GnRH a las 24 h de removido el dispositivo (Día 8.5); 3) las que se les aplicó 25 mg de pLH a las 12 h de removido el dispositivo (Día 8); y 4) las que se les aplicó pLH a las 24 h de removido el dispositivo (Día 8.5). Se realizó la IA a las 12 y 24 h de aplicado el inductor de la ovulación (GnRH o pLH) con semen congelado de probada calidad. Se colectaron los embriones por método no quirúrgico el Día 15 por la mañana en los grupos que recibieron el inductor a las 12 h de retirado el dispositivo y en el Día 15 por la tarde en los grupos que recibieron el inductor a las 24 h. Los embriones colectados fueron evaluados según las normas de la IETS por estadio de desarrollo y calidad.

En el caso de las donantes Angus no se observaron diferencias entre vacas y vaquillonas ( $P > 0,34$ ) para ninguno de los parámetros evaluados, tampoco se encontró interacción entre tipo de inductor y momento de aplicación ( $P > 0,70$ ; Tabla 3); cuando se realizó el análisis de los efectos principales se observó mayor número de ovocitos fertilizados y embriones grado 1 y 2 cuando se aplicó el inductor a las 24 h (Tabla 3).



**Tabla 3.** Número medio ( $\pm$  EE) de ovocitos/embriones colectados, ovocitos fertilizados y embriones transferibles en vacas y vaquillonas Angus superovuladas que recibieron GnRH o pLH como inductor de la ovulación a las 12 h (Día 8) o 24 h (Día 8.5) de removido el DIB (remoción del dispositivo en el Día 7 PM, P36).

Tipo de Inductor	Día	N	Ovocitos/Embriones Colectados	Ovocitos fertilizados	Embriones Grado 1 y 2
GnRH	Día 8 (12 h)	26	4,7 $\pm$ 0,9	3,2 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 0,6
GnRH	Día 8,5 (24 h)	26	5,7 $\pm$ 1,1	4,5 $\pm$ 0,9	3,7 $\pm$ 0,8
pLH	Día 8 (12 h)	26	5,2 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,7	2,9 $\pm$ 0,6
pLH	Día 8,5 (24 h)	21	6,8 $\pm$ 1,1	5,6 $\pm$ 0,9	4,4 $\pm$ 0,7
Efectos principales					
GnRH		52	5,2 $\pm$ 0,7	3,9 $\pm$ 0,6	3,1 $\pm$ 0,5
pLH		47	5,9 $\pm$ 0,7	4,6 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,4
	Día 8 (12 h)	52	5,0 $\pm$ 0,6	3,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
	Día 8,5 (24 h)	47	6,2 $\pm$ 0,8	5,0 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	4,0 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Medias en la misma columna con diferentes superíndices difieren ( $P < 0,05$ )

En el caso de las donantes Brangus no se observaron diferencias entre vacas y vaquillonas ( $P > 0,19$ ), tampoco se encontró diferencias entre la aplicación de GnRH o PLH a las 12 o 24 h para los parámetros evaluados (ovocitos/embriones colectados, ovocitos fertilizados y embriones grado 1 y 2; Tabla 4).

**Tabla 4** Número medio ( $\pm$  EE) de ovocitos/embriones colectados, ovocitos fertilizados y embriones transferibles en vacas y vaquillonas Brangus superovuladas que recibieron GnRH o pLH como inductor de la ovulación a las 12 o 24 h de removido el DIB (remoción del dispositivo en el Día 7 PM, P36).

Tipo de Inductor	Día	N	Ovocitos/Embriones Colectados	Ovocitos fertilizados	Embriones Grado 1 y 2
GnRH	Día 8 (12 h)	8	4,5 $\pm$ 1,8	2,9 $\pm$ 1,5	2,4 $\pm$ 1,2
GnRH	Día 8,5 (24 h)	9	5,7 $\pm$ 1,5	4,8 $\pm$ 1,2	4,0 $\pm$ 0,7
pLH	Día 8 (12 h)	8	10,1 $\pm$ 4,2	5,4 $\pm$ 1,7	4,5 $\pm$ 1,3
pLH	Día 8,5 (24 h)	7	3,6 $\pm$ 1,4	3,4 $\pm$ 1,4	2,9 $\pm$ 1,4
Efectos principales					
GnRH		17	5,1 $\pm$ 1,2	3,9 $\pm$ 0,9	3,2 $\pm$ 0,7
pLH		15	7,1 $\pm$ 4,5	4,5 $\pm$ 1,1	3,7 $\pm$ 0,9
	Día 8 (12 h)		7,3 $\pm$ 2,3	4,1 $\pm$ 1,2	3,4 $\pm$ 0,9
	Día 8,5 (24 h)		4,8 $\pm$ 1,1	4,2 $\pm$ 0,9	3,5 $\pm$ 0,7

Los porcentajes no difieren ( $P > 0,13$ )

Estos resultados indican que la aplicación del inductor de la ovulación a las 24 h de removido el dispositivo es la aconsejada para donantes Angus, debido a la mayor producción de embriones grado 1 y 2, pero el intervalo entre la remoción y la aplicación del inductor sería indistinto en el caso de Brangus. Otros trabajos indican también que el intervalo de 24 h desde la remoción del dispositivo hasta la administración de GnRH o pLH parece ser más conveniente para ganado *Bos taurus*, mientras que el intervalo de 12 h es mejor para vacas *Bos indicus* (Baruselli et al., 2006). Esto está evidenciado por un número mayor de embriones grado 1 y 2 en vacas Holstein en experimentos realizados en Brasil (pLH Día 8.5:  $4.7 \pm 0.9$  vs pLH Día 8:  $2.1 \pm 0.5$ ,  $P < 0.01$ ; Bó et al., 2006). En otro experimento realizado en vacas Holstein (Baruselli et al., 2005) se utilizaron implantes Crestar que fueron removidos junto con la última FSH (Día 7.5) y se evaluó la aplicación de la GnRH a las 12 h (Día 8) o a las 24 h (Día 8.5) de retirado el Crestar. Todas las vacas fueron IA a las 12 y 24 h de la GnRH. Los animales que recibieron GnRH a las 24 h de la remoción del Crestar fueron los que tuvieron mayor cantidad de embriones [GnRH Día 8.5 (24 h pos Crestar):  $2.9 \pm 1.0$  vs GnRH Día 8 (12 h pos Crestar):  $1.6 \pm 0.6$  embriones grado 1 y 2].

En un estudio reciente realizado en Texas (USA), en el cual se removió el CIDR a todas las vacas en el Día 7, no hubo diferencias significativas en el número de embriones transferibles entre vacas que fueron IA a las 12 y 24 h después de la primera monta detectada con Heat-Watch y las que fueron tratadas con 12.5 mg de pLH (Lutropin-V) en la mañana del Día 8 e IA a tiempo fijo 12 y 24 h después (Larkin et al., 2006). La gran ventaja de la inseminación a tiempo fijo es que se pueden programar los trabajos a horas pre-establecidas y no depender del momento en que la vaca es montada para realizar las IA a las 12 y 24 h después. Además, el esquema de IA a tiempo fijo utilizando dispositivos con progesterona y GnRH o pLH es mucho más barato que montar un sistema Heat-Watch en el campo.

## El Nuevo Dilema

Los esteres de estradiol y el E-17 $\beta$  no están disponibles en la farmacéutica veterinaria de varios países y es posible que otros países no puedan utilizar esteres de estradiol en un futuro cercano. Los veterinarios que trabajan en transferencia de embriones se enfrentan o se enfrentarán en poco tiempo con un dilema de manejo. Ha sido claramente demostrado que el control exógeno de la onda de emergencia folicular ofrece la ventaja de poder iniciar los tratamientos superovulatorios en el momento óptimo para el reclutamiento folicular independientemente del estadio del ciclo estral. Es práctico y fácil de aplicar y se elimina la necesidad de detectar estro u ovulación y esperar 8-12 días para iniciar el tratamiento con FSH. Como no siempre es posible la ablación folicular, los veterinarios que trabajan en transferencia de embriones deben encontrar otras alternativas.

## GnRH o pLH

Es posible sincronizar la emergencia de una onda folicular con una inyección de GnRH. En las vacas que tienen un folículo dominante en crecimiento (de al menos 10 mm de diámetro), el tratamiento con GnRH induce la liberación de LH y la ovulación (Macmillan y Thatcher, 1991), y la emergencia de una nueva onda de maduración folicular aproximadamente 2 días más tarde (Martinez et al, 1999). Pursley et al (1995) desarrollo un esquema de sincronización de la ovulación con GnRH para IATF (Ovsynch) para vacas lecheras lactantes. La primera inyección de GnRH es seguida por una inyección de PGF 7 días más tarde y 48 horas después se coloca una segunda inyección de GnRH; la IATF se realiza entre las 0 y 24 horas mas tarde, siendo el óptimo entre las 16 y 18 horas. El protocolo Ovsynch ha sido mucho mas

eficaz en las vacas de leche lactantes que en vaquillonas. Aunque no se conoce la causa de esta discrepancia, la ovulación luego de la primera inyección de GnRH ocurrió en el 85% de las vacas pero solo en el 54% de las vaquillonas (Pursley et al, 1995).

Los resultados en nuestro laboratorio confirmaron que el tratamiento con GnRH provocó la ovulación del folículo dominante en el 56% de las vaquillonas solamente y por lo tanto, esto no pudo inducir la emergencia de una nueva onda folicular en forma consistente (Martinez et al, 1999). Además, nuestros resultados indican que las vacas de carne lactantes parecen ser mas similares a las vaquillonas que a las vacas lecheras lactantes, ya que luego de la administración de GnRH en cualquier momento del ciclo estral, fue muy raro que ovulara mas del 60% (Colazo et al, 2007). En este estudio también fue demostrado que la concentración de progesterona circulante afectó la liberación de LH que siguió a la administración de GnRH y por ende a la ovulación. Por lo tanto, la utilidad de la GnRH para sincronizar la onda folicular para superestimulación parece ser de un valor cuestionable.

También hemos comparado la hormona luteinizante porcina (pLH; Lutropin-V, Bioniche Animal Health) con GnRH en protocolos tipo Ovsynch. En un estudio (Martinez et al, 1999), caracterizamos la dinámica folicular ovárica en vaquillonas tratadas con pLH o GnRH en los días 3, 6 y 9 (día 0=ovulación), correspondiente a las fases de crecimiento, estática temprana y estática tardía de la primera onda de maduración folicular. Las tasas de ovulación totales combinadas para todos los días de tratamiento fueron del 78 y 56% en vaquillonas tratadas con pLH y GnRH respectivamente. Cuando el CL en desarrollo incrementó la secreción de progesterona, la eficacia de la GnRH decayó. En general, el día promedio de emergencia de la segunda onda folicular fue diferente en las vaquillonas que ovularon con respecto a los controles o a las vaquillonas que no lo hicieron; la nueva onda de emergencia ocurrió 1.3 días post tratamiento, pero solo en las vaquillonas que ovularon. Aunque en las vaquillonas que no ovularon los tratamientos no indujeron la atresia del folículo dominante o alteraron el intervalo a la nueva onda folicular, ocurrió una onda de emergencia folicular espontánea en muchos de estos animales. Por ello, el número de vaquillonas en los cuales surgió una nueva onda luego del tratamiento con GnRH fue más alto que lo esperado (basado solamente en la proporción que ovuló en respuesta a la GnRH). Aunque una sincronía menos precisa de la onda puede aun resultar en una ovulación relativamente sincrónica en los protocolos de IATF (Colazo et al, 2007), una sincronía precisa de la emergencia de la onda folicular es esencial para obtener buenas repuestas superovulatorias.

La asincronía reportada en la emergencia de la onda folicular luego de la administración de GnRH (Martinez et al, 1999) parece estar respaldada por experimentos de superestimulación. En tres experimentos sucesivos (Deyo et al, 2001), los tratamientos con GnRH o pLH para sincronizar la onda folicular para superestimulación resultó en menos embriones que en los animales controles o en aquellos que la emergencia de la onda había sido sincronizada con estradiol o ablación folicular. Sin embargo, esto debería ser confirmado por otros autores.

### **Pre-sincronización**

Una alternativa para superar la variación en las respuestas con respecto a la emergencia de la onda folicular luego de la administración de GnRH o pLH es asegurarse que un folículo dominante viable presente al momento del tratamiento a través de la presincronización (Moreira et al, 2001). Si la GnRH es administrada durante la fase de crecimiento temprano del folículo dominante, puede que la ovulación en respuesta a la liberación de LH no ocurra, por lo tanto no habrá emergencia de una onda folicular (Martinez et al., 1999). Moreira et al (2001) sugirió que las vacas responderán mas consistentemente a los protocolos con GnRH si estos son iniciados entre los días 5 y 12 del ciclo; y que esto puede ser logrado a través de la pre-sincronización antes de la primera inyección de GnRH. La pre-sincronización

tanto con una o dos dosis de PGF con 14 días de intervalo ha demostrado mejorar las tasas de preñez en los protocolos Ovsynch (Moreira et al, 2001). Además, es posible inducir un folículo persistente con la utilización de un CIDR usado y la inyección de PGF en el momento de su inserción (Colazo et al, 2006). La administración de GnRH en el momento de la remoción del CIDR 7 a 10 días mas tarde resultó en ovulación y emergencia de una onda folicular 1 a 2 días después. Sin embargo, para nuestro conocimiento, los tratamientos de superestimulación iniciados después de una pre-sincronización y tratamiento con GnRH o LH no han sido estudiados. No obstante, esta alternativa puede necesitar un mayor planeamiento para realizar la superestimulación de grupos grandes de vacas al mismo tiempo (la ventaja de los tratamientos actuales con estradiol y progesterona), con la pérdida de los beneficios de sincronizar la onda folicular en cualquier momento del ciclo.

### **Superestimulación de la primera onda folicular**

Otra alternativa estudiada es iniciar el tratamiento con FSH en el momento de emergencia de la primera onda folicular. La primera onda emerge consistentemente en el día de la ovulación (o en el día luego del comienzo del estro, Ginther et al, 1989). Nasser et al, (1993) ha demostrado que la superestimulación puede ser iniciada con éxito en el momento de emergencia de la primera onda folicular y Adams et al (1994) demostró que la respuesta superovulatoria no difirió cuando los tratamientos con gonadotropinas fueron iniciados en el momento de la emergencia de la primera o segunda onda folicular. Sin embargo debe insertarse un dispositivo con progesterona en el momento de iniciar los tratamientos para facilitar la inducción de la regresión luteal (Macmillan, comunicación personal) y para mejorar la calidad del ovocito/embrión. El punto es determinar el momento de la ovulación con ultrasonografía o iniciar los tratamientos un día después del comienzo del estro. Se inserta un nuevo CIDR en el momento del primer tratamiento con FSH y la FSH es administrada dos veces por día durante 4 a 5 días. El CIDR se retira en el momento del último tratamiento con FSH y se administra PGF en ese momento y 12 horas mas tarde. Las inseminaciones se realizan entre las 12 y 24 horas después de comenzado el estro. Para evitar la necesidad de detectar estro u ovulación, Nasser et al (2003) indujeron una ovulación sincrónica en vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas con un protocolo de estradiol-CIDR y la administración de pLH 24 horas después de retirado el CIDR. Los tratamientos superestimuladores se iniciaron 24 horas después (en el momento esperado de la ovulación y consecuentemente la emergencia de la primera onda folicular). No hubo diferencias en el numero de embriones transferibles en las vacas tratadas con CIDR cuando los tratamientos con FSH fueron iniciados en el momento de emergencia de la primera onda folicular ( $8.0 \pm 1.8$ ) o 4 días después de la inyección de 2,5 mg de EB y 50 mg de progesterona (Grupo control:  $6.6 \pm 2.0$ ) pero ambos fueron mayores que si los tratamientos se iniciaban en el momento de emergencia de la primera onda sin el uso de un nuevo CIDR durante las aplicaciones de FSH ( $0.2 \pm 0.2$ ;  $P < 0.05$ ).

Recientemente hemos evaluado un tratamiento similar utilizando un protocolo que no incluyó la administración de estradiol (Carballo Guerrero et al., 2007; abstract presentado en este Simposio). Se insertó un dispositivo intravaginal con progesterona (Cue-Mate, Bioniche Animal Health, Canada) en cualquier momento del ciclo estral y se inyectó 150 µg de cloprostenol (PGF, Bioprost, Biotay, Argentina) para inducir la luteólisis y reducir la concentración endógena de progesterona. Diez días más tarde, los animales recibieron una segunda inyección de PGF y se retiró el Cue-Mate. Los animales recibieron pLH (Lutropin-V) 36 h después, de manera de inducir la ovulación en las próximas 30 a 36 h. En el tiempo esperado de ovulación se insertó un nuevo Cue-Mate y se iniciaron los tratamientos con Folltropin-V que fueron administrados cada 12 h, durante 5 días (10 tratamientos). La PGF fue administrada con las dos últimas inyecciones de FSH y los Cue-Mate fueron retirados con la última inyección de FSH; la pLH se administró 24 h después de la remoción del dispositivo vaginal y los animales fueron IATF a las 12 y 24 h

después. Los resultados preliminares en 34 donantes Bonsmara que fueron superestimuladas usando este protocolo no han mostrado diferencias en el número de embriones transferibles cuando se las comparo con las 34 controles que fueron superestimuladas 4 días después de la inyección de EB (Bioestradiol, Biotay, Argentina) y 50 mg of progesterona (P4; Lab. Rio de Janeiro, Argentina) y la inserción de un Cue-Mate ( $3.7 \pm 0.8$  vs  $5.1 \pm 0.9$  embriones, respectivamente;  $P > 0.3$ ).

### **Regulación negativa de la glándula pituitaria**

Se ha demostrado en el bovino que luego de la administración experimental con agonistas de la GnRH, los folículos crecieron hasta 8 mm de diámetro cuando se inhibió la liberación de LH y hasta 4 mm de diámetro cuando se inhibieron tanto la liberación de FSH como los pulsos de LH. Similarmente, cuando fue administrada una vacuna anti-GnRH (Crowe et al, 1993; Prendiville et al, 1995), los folículos crecieron hasta 3 mm pero no más. El crecimiento de los folículos a un tamaño mayor se continuó luego de tratamientos con FSH y la tasa de crecimiento que tuvieron en respuesta a la FSH exógena fue similar a los controles (Crowe et al, 1993). Ambos hallazgos proveen la posibilidad de preparar vacas donantes que están en un estado constante de respuesta, con folículos que nunca alcanzan la dominancia al menos que se le administre FSH exógena.

D'Occhio et al (1997) ha desarrollado un modelo en el cual dos implantes impregnados con un agonista de la GnRH, la Deslorelina, son insertados para desensibilizar la glándula pituitaria a la GnRH y bloquear el pico de LH endógeno. Cada implante libera 20  $\mu$ g de Deslorelina cada 24 h. Siete días después de la inserción de los implantes (colocados en cualquier estadio del ciclo estral) se iniciaron los tratamientos superestimuladores con FSH (Folltropin-V) y dos 2 días mas tarde se administro PGF. A las 60 h del tratamiento con PGF se indujo la ovulación con una inyección de pLH (Lutropin-V). El número de embriones transferibles fue numéricamente mayor que en el grupo control; pero lo mas importante, no fue necesario esperar un momento apropiado del ciclo estral para sincronizar la onda folicular antes de iniciar el tratamiento con FSH (Barros y Nogueira, 2001). La cuestión ahora es la disponibilidad de la Deslorelina. Uno debe tener en cuenta que la Deslorelina regula negativamente la glándula pituitaria, por lo que hay una posibilidad potencial a que las vacas se muestren en anestro por un periodo de tiempo luego que el implante sea removido (Braga et al., 2005).

### **Otras alternativa**

Con nuestros conocimientos sobre el control endocrino de la dinámica de la onda folicular en la vaca, ha sido posible desarrollar esquemas que sincronizaran la emergencia de la onda folicular en grupos de vacas en cualquier momento del ciclo estral. Sabemos que podemos estandarizar la fase luteal del ciclo con un dispositivo intravaginal con progesterona. Para sincronizar la emergencia de la onda folicular, el asunto es causar la regresión de los folículos existentes y un pico de FSH para inducir el reclutamiento folicular. Sin embargo sincronizar un onda folicular no es todo lo necesario para asegurar una respuesta superovulatoria ya que en un estudio reciente se encontraron diferencias significativas entre vacas en el número de folículos que entraban en una folicular (Singh et al., 2004). La respuesta superovulatoria fue mayormente dependiente del número de folículos que entraron en la onda y una examinación ultrasonografica y conteo de todos los folículos  $\geq 2$  mm de diámetro fue altamente predictiva de la respuesta superovulatoria (Singh et al, 2004). De esta manera las vacas que tienen una baja cantidad de folículos en la onda folicular siempre van a tener una baja respuesta superovulatoria.

## **Progesterona**

La alteración en la frecuencia de los pulsos de LH por la inserción de un nuevo dispositivo con progesterona (Savio et al, 1993; Stock y Fortune, 1988; Taylor et al, 1994) o una inyección de progesterona (Anderson y Day, 1994) resulto en la regresión de un folículo persistente y el desarrollo subsecuente de una nueva onda folicular en aproximadamente 3 a 5 días. Sin embargo, no esta claro como la administración de progesterona exógena afectara el crecimiento del folículo dominante. En un estudio en el cual se administro un CIDR usado y una inyección de 150 mg de progesterona con un CL funcional existente en el día 13 del ciclo, no hubo alteración en el patrón de la onda folicular (Colazo et al, 2007b). En otro estudio la administración de 300 mg diarios de progesterona durante la fase estática de crecimiento del folículo dominante suprimió el crecimiento y acorto la vida media del folículo dominante (Adams et al, 1992). Sin embargo, la emergencia de la próxima onda fue algo variable. La precisión de la emergencia de la onda folicular luego de la administración de progesterona parece ser dependiente de la dosis de progesterona y el estadio de desarrollo del folículo dominante, lo que no permite la precisa sincronización de los grupos de vacas donantes en cualquier momento del ciclo estral. Sin embargo, este concepto puede ser mas posible si fuera inducido un folículo persistente (como se describió anteriormente).

Por el otro lado, algunos profesionales han reportado superovulaciones exitosas en vacas donantes cuando se insertó un dispositivo con progesterona en cualquier momento del ciclo estral y la superestimulación se inició 3 a 5 días mas tarde. Macmillan et al. (1994) insertó un CIDR durante el diestro temprano en 126 vacas lecheras no lactantes y paridas, e inicio el tratamiento con FSH varias veces entre los días 10 y 17 del ciclo. Cuando se lo comparó con las 50 vacas control en las cuales el tratamiento con gonadotropinas había sido iniciado el día 10 del ciclo, no hubo diferencias en el número de CL o embriones transferibles, aunque ambos fueron levemente bajos. Aunque el pico de liberación de progesterona luego de la inserción del CIDR nuevo puede potencialmente causar la supresión de la liberación de LH y la posible regresión del folículo dominante (ver anteriormente), es mas probable que el CIDR este manteniendo simplemente la fase luteal y que los tratamientos con gonadotropinas sean iniciados en cualquier estado de la onda folicular. Por eso es posible inducir la superestimulación en todos los estados de la onda folicular con la dosis de gonadotropinas usada normalmente, pero la producción de embriones parece variar con el estadio de la onda folicular al momento de iniciado el tratamiento (Lindsell et al, 1986). De hecho, el CIDR puede ser solamente necesario o muy temprano en el ciclo o al final del ciclo cuando esta ocurriendo la regresión luteal. La mayoría de los esquemas superestimuladores involucran dosis suprafisiológicas de FSH, el cual puede causar crecimiento de los folículos subordinados y una respuesta superovulatoria. Sin embargo, no esta claro como esto puede afectar la calidad del ovocito/embrión. En trabajos realizados por nosotros (Bó et al., 1996) se encontró que la superestimulación de vacas que eran tratadas con un Syncro-Mate-B sólo (sin estradiol) 5 días antes del inicio de las inyecciones de FSH resultó en una respuesta superovulatoria similar, pero con una menor cantidad de ovocitos fertilizados y embriones transferibles que cuando se utilizó el Syncro-Mate-B pero además se inyectó 5 mg de E-17 $\beta$  4 días antes de las inyecciones de FSH.

## **Estimulación de los folículos subordinados**

Durante una onda folicular normal, los folículos subordinados regresan debido a las concentraciones decrecientes de FSH, causadas por las secreciones (estradiol e inhibina) de la cohorte y especialmente del folículo dominante. Los folículos pequeños requieren FSH para continuar su crecimiento y se ha evidenciado que folículos tan pequeños como de 1 mm de diámetro comenzaran a

crecer bajo la influencia de la FSH (Jaiswal et al, 2004). Quizá todo lo que se necesite para la superestimulación es la presencia de folículos de 3 a 4 mm de diámetro en el momento que sea iniciado el protocolo tradicional de tratamiento superestimulador durante 4 o 5 días. Asumiendo una tasa de crecimiento de 1 a 2 mm por día, esto debería tomar 2-3 días, o sea, sumar 2-3 días al protocolo de superestimulación. Bajo estas circunstancias, la presencia del folículo dominante puede no tener ningún efecto en la respuesta superovulatoria, la FSH exógena reemplaza a aquella que está siendo inhibida por las sustancias que secreta el folículo dominante. Caccia et al. (2000) ha demostrado que la administración de 500 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) 2 días antes de iniciar los tratamientos con FSH tienden a incrementar la respuesta superovulatoria, posiblemente por el reclutamiento de más folículos a la onda. Este trabajo fue repetido recientemente por Carballo Guerrero et al. (2007, abstract presentado en este Simposio) donde la aplicación de 500 UI de eCG aumento la producción de embriones en vacas con historia de baja respuesta superovulatoria ( $\leq 3$  embriones transferible por tratamiento). Cuando se incluyó eCG en el tratamiento las vacas produjeron  $3,6 \pm 0,6$  embriones transferibles contra  $1,0 \pm 0,2$  embriones transferibles cuando no se utilizó eCG ( $P < 0,01$ ). El mecanismo involucrado podría ser el que se describió anteriormente. Otra alternativa podría involucrar la inserción de un dispositivo con progesterona en cualquier estado del ciclo y la iniciación del tratamiento con FSH 2 a 3 días más tarde (una vez que los niveles de progesterona se hayan estabilizado). La FSH podría ser administrada durante 6 a 7 días sin diferir la última parte del protocolo de uso corriente. La dosis total de FSH puede no tener que ser incrementada; es decir, la dosis total de la FSH puede ser dividida en más tratamientos, comenzando con las dosis bajas en las aplicaciones tempranas de manera de reclutar los folículos muy pequeños. En un experimento preliminar (A. Trébul y Bó comunicación personal) superovulamos 8 vacas donantes con esta alternativa y obtuvimos un número equivalente de CL ( $13,6 \pm 2,1$ ) comparado con 7 vacas superovuladas utilizando el tratamiento convencional con benzoato de estradiol y progesterona ( $13,9 \pm 2,3$  CL,  $P > 0,94$ ). Hay un riesgo que todavía debe ser estudiado, si por azar iniciamos el tratamiento en animales que justo en ese momento están iniciando una nueva onda folicular, no sabemos si el tratamiento más prolongado con FSH puede afectar la calidad ovocitaria, y por ende el número de embriones transferibles. Sin embargo, es poco probable que los ovocitos de estos folículos se deterioren si los niveles de progesterona permanecen elevados. En un experimento reciente los ovocitos permanecieron en el estadio de vesícula germinal por al menos 120 horas luego de finalizado los tratamientos con FSH cuando los niveles de progesterona se mantuvieron  $> 5$  ng/mL (Saravanan et al, 2004).

### **Superestimulación repetida**

Tradicionalmente, las vacas donantes son colectadas cada 60 días aproximadamente. Sin embargo, la sincronización selectiva de la emergencia de la onda permite superestimular exitosamente cada 25 a 35 días, sin preocuparse por la expresión de estro (Mapletoft et al, 2002). Una vez que los múltiples CL regresan y las vacas reovulan (Mapletoft et al., 1991), los patrones de normales de ondas foliculares son reestablecidas y la superestimulación puede ser nuevamente aplicada (Bó et al., 1991). Brevemente, a las vacas se les inserta un progestágeno en cualquier momento del ciclo junto con una inyección de estradiol más progesterona, y 4 días más tarde se inicia el tratamiento con FSH. El progestágeno es removido 12 después de la administración de PGF y las vacas son inseminadas en el estro; 7 días más tarde se recolectan los ovocitos/embriones y las vacas reciben otra inyección de PGF (a menudo se la repite en 4 o 5 días, o luego de los 7 días si la donante no ha sido observada en estro). Todo el protocolo se repite 10-15 días más tarde sin preocuparse por el estadio del ciclo estral. Los profesionales no han reportado cambios en el número de embriones transferibles luego de cada superestimulación (Stables R, AETA/CETA Annual Meeting, 2003), y algunos hemos repetido la

superovulación cada 30-40 días de intervalo durante todo un año o más (Bó et al., 2001). El mismo concepto puede ser utilizado con la ablación folicular, excepto que los tratamientos con FSH deben iniciarse 1 o 2 días después de la ablación de los 2 folículos más grandes en el ovario.

La cuestión de cuando los tratamientos superestimulatorios repetidos pueden ser hechos en vacas en las cuales la emergencia de la onda folicular no esta sincronizada es menos complicado de lo que se puede pensar. Asumamos que una vaca donante es superestimulada con alguno de los protocolos descritos anteriormente; en el día de la colecta se deberá administrar PGF seguida por una segunda inyección el día después. En un estudio, todas las vacas tuvieron regresión luteal entre los 3.5 días luego de la administración de una sola inyección de 500 µg de cloprostenol en el día de la colecta y el 88% mostró signos de estro 7 días luego del tratamiento (aquellas con menos respuesta superovulatoria tendieron a mostrar estro mas temprano, mientras que aquellas con mayores respuestas tendieron a hacerlo ligeramente mas tarde, Mapletoft et al, 1991). Como se ha indicado anteriormente, una vez que las vacas reovulan, los patrones de ondas foliculares se reestablecen. Por lo tanto, la vaca puede ser superestimulada el día después del estro (primera onda folicular, se debe usar un dispositivo con progesterona) o diez días mas tarde, en el momento aproximado en que emerge la segunda onda folicular (sin o con dispositivo). De esta forma, las vacas donantes pueden ser superestimuladas en grupos cada 29 o 30 días aproximadamente, sin la necesidad de sincronizar la emergencia de la onda folicular con tratamientos hormonales exógenos.

### **Comentarios finales y conclusiones**

La incorporación de los protocolos que controlan la dinámica folicular y la ovulación ofrecen la ventaja de poder programar los tratamientos rápidamente y en momentos predeterminados, sin la necesidad de detectar los celos de las vacas para saber cuando se debe iniciar la superovulación. Además, los trabajos recientes indican que se pueden también obviar la detección de celos de la superovulación y realizar las IA de las donantes a tiempo fijo, colocando pLH o GnRH después de la remoción del dispositivo con progesterona (12 h en *Bos indicus* y 24 h en *Bos taurus*). En todos los casos las IATF se realizan a las 12 y 24 h de la GnRH o pLH. Estos tratamientos son prácticos y fáciles de realizar por el personal de campo, y lo más importante es que no dependen de la pericia y exactitud en la observación de celos para realizar las inseminaciones. Más aun, estos protocolos han hecho posible inducir exitosamente la superestimulacion en donantes con función ovárica anormal. Sin embargo, el estradiol, que ha comprobado ser el mas útil para cumplir con los objetivos, esta siendo retirado de muchos laboratorios veterinarios alrededor del mundo, dejando solo la ablación folicular como un método apto para sincronizar la emergencia de la onda folicular para superestimulacion. Desafortunadamente, la ablación folicular es difícil de utilizar en este aspecto.

Aunque la administración de GnRH o pLH para sincronizar la emergencia de la onda folicular parece ser demasiado variable para superestimulacion, la presincronizacion podría mejorar las respuestas. Otra alternativa podría ser el inicio de los tratamientos con FSH en el momento de emergencia de la primera onda folicular (en el día de la ovulación y con un dispositivo con progesterona). La alternativa final puede ser usar FSH o eCG para reclutar folículos en la onda y luego iniciar el protocolo superestimulatorio 2 o 3 días después. A pesar que los resultados preliminares son promisorios, se deben hacer más trabajos de investigación para evaluar críticamente estas ultimas alternativas.



## Referencias

1. Adams GP, Matteri RL, Ginther OJ. The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. *J Reprod Fertil* 1992; 95:627-640.
2. Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim Reprod Sci* 1993a; 30:259-271.
3. Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates. *Can J Anim Sci* 1993b; 73:267-275.
4. Adams GP, Nasser LF, Bo GA, Garcia A, Del Campo MR, Mapletoft RJ. Superstimulatory response of ovarian follicles of Wave 1 versus Wave 2 in heifers. *Theriogenology* 1994; 42:1103-1113.
5. Adams GP. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology* 1994; 41:19-24.
6. Anderson LH, Day ML. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicles and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. *J Anim Sci* 1994; 72:2955-2961.
7. Barros CM, Nogueira MFG. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2001; 56:1483-1496.
8. Barros CM, Nogueira MFG. Superovulation in Zebu Cattle: Protocol P36. *Embryo Transfer Newsletter, IETS*, June 2005;5-9.
9. Baruselli PS, Sa Filho M, Martins C, Reis EL, Nasser LF, Bo G.A. Novos Avancos nos tratamentos de superovulacao em doadoras de embriones bovinos. VI Simposio internacional de Reproducción Animal, Cordoba, Argentina, 2005;353-376.
10. Baruselli PS, Sá Filho M, Martins CM, Nasser LF, Nogueira MFG, Barros CM, Bó GA. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2006; 65: 77-88.
11. Bergfelt DR, Bo GA, Mapletoft RJ; Adams GP. Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence in cattle. *Anim Reprod Sci* 1997; 49: 1-12.
12. Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 1995; 43:31-40.
13. Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Effect of progestogen plus estradiol-17 $\beta$  treatment on superovulatory response in beef cattle. *Theriogenology* 1996; 45:897-910.
14. Bó GA. Control del desarrollo folicular y su aplicación en programas de superovulación de donantes de embriones. Segundo Seminario Internacional de Reproducción Bovina, CGR, Santa Fé de Bogotá, Colombia, 2001; CD.
15. Bo GA, Baruselli, Moreno D, Cutaita L, Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H and Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002; 57:53-72.
16. Bó GA, Baruselli PS, Chesta P, Martins CM. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 2006; 65:89-101.
17. Braga, D.P.A.F., Baruselli, P.S., Marques, M.O., Barufi, F.B, Aspden, W.J., D'Occhio, M.J. Evaluation of a GnRH agonist (deslorelin) bioimplant in *bos indicus* cattle for contraception and live weight gain [Avaliação do bioimplante com agonista do gnrh (deslorelina) na contracepção e ganho de peso em bos indicus]. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) 2005; abstract.
18. Bungarts L, Niemann H. Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination. *J Reprod Fertil* 1994; 101:583-591.
19. Caccia M, Tríbulo R, Tríbulo H, Bo GA. Effect of eCG pretreatment on superovulatory response in CIDR-B treated beef cattle. *Theriogenology* 2000; 53:495 (abstract).
20. Callesen H, Greve T, Hyttel P. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology* 1986; 25:71-86.

21. Chesta P, Cutaia L, Tribulo H, Tribulo R, Alasino R, Ausar F, Beltramo D, Bianco I, Bo GA. Distribución de las ovulaciones en vacas superovuladas com Folltropin-V. V Simpósio Internacional de Reproduccion Animal, Huerta Grande, Córdoba, Argentina, 2003; 409 (abstract).
22. Chesta P, Tribulo R, Tribulo H, Balla E, Baruselli PS, Bo GA. Effect of time of ovulation induction by gonadotropin-releasing hormone or pituitary luteinizing hormone on ova/embryo production in superstimulated beef cows inseminated at a fixed time. *Reproduction, Fertility and Development* 2007; 19:307 (abstract).
23. Colazo MG, Small JA, Kastelic JP, Davis H, Ward DR, Wilde R, Mapletoft RJ. Effects of CIDR-based Presynchronization and eCG on fertility to a GnRH-based Timed-AI Protocol in Beef Cattle. *Reprod, Fert Dev* 2006; 18:114. (abstract).
24. Colazo, MG, Kastelic JP, Davis H, Rutledge MD, Martínez MF, Small JA, Mapletoft RJ. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. *Domest Anim Endocrin* 2007; (aceptado disponible on-line desde el 18 December 2006)
25. Colazo MG, Kastelic JP, Small JA, Wilde RE, Ward DR, Mapletoft RJ. Ovarian follicular dynamics, CL function, estrus, ovulation, and fertility in beef cattle resynchronized with progestins and ECP, GnRH or progesterone. *Can Vet J* 2007; 48:49-56.
26. Crowe MA, Enright WJ, Boland MP, Roche JF. Follicular growth and serum FSH responses to recombinant bovine FSH (rbFSH) in GnRH immunized heifers. *J Anim Sci* 1993; 71 (suppl 1): 212. (abstract).
27. Deyo CD, Colazo MG, Martinez MF, Mapletoft RJ. The use of GnRH or LH to synchronize follicular wave emergence for superstimulation in cattle. *Theriogenology* 2001; 55:513 (abstract).
28. D'Occhio MJ, Jillella D, Lindsey BR. Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicles to LH. *Theriogenology* 1999; 51:9-36.
29. D'Occhio MJ, Sudha G, Jillella D, White T, MacLellan LJ, Walsh J, Trigg TE, Miller D. Use of GnRH agonist to prevent the endogenous LH surge and injection of exogenous LH to induce ovulation in heifers superstimulated with FSH: a new model for superovulation. *Theriogenology* 1997; 47:601-613.
30. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1989; 20:187-200.
31. Greve T, Callesen H, Hyttell P. Endocrine profiles and egg quality in the superovulated cow. *Nord Vet Med* 1983; 35:408-421.
32. Huhtinen M, Raino V, Aalto J, Bredbacka P. Increased ovarian responses in the absence of the dominant follicle in superovulated cows. *Theriogenology* 1992; 37:457-463.
33. Jaiswal RS, Singh J, Adams GP. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biol Reprod* 2004; 71:1244-1251.
34. Larkin SW, Chesta PM, Looney CR, Bo GA, Forrest DW. Distribution of ovulation and subsequent embryo production using Lutropin (pLH) and estradiol-17 $\beta$  for timed AI of superstimulated beef females. *Reprod Fertil Dev* 2006; 18: 289 (abstract).
35. Lindsell CE, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulatory and endocrine responses in heifers treated with FSH-P at different stages of the estrous cycle. *Theriogenology* 1986; 26:209-219.
36. Macmillan KL, Taufva VK, Hayman DL. Superovulation responses to ovine FSH administered during late dioestrus to cows fitted with an intravaginal progesterone device. *Theriogenology* 1994; 41:243 (abstract).
37. Macmillan KL, Thatcher WW. Effects of an agonist of Gonadotropin-Releasing Hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod* 1991; 45:883-889.
38. Mapletoft RJ, Bo G, Willmott N, Pierson RA. The Effect of Dose of Cloprostenol on Return to Estrus of Superovulated Donor Cows. *Theriogenology* 1991; 35:237 (abstract).
39. Mapletoft RJ, Bo GA, Adams GP. Advances in the manipulation of donor cow and recipient estrus cycles in bovine embryo transfer programs. *Arquivos de la Facultad de Veterinaria (UFRGS, Porto Alegre)* 2000; 28:23-48.

40. Martinez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim Reprod Sci* 1999; 57:23-33.
41. Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; 84:1646-1659.
42. Nasser L, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 1993; 40:713-724.
43. Nasser LF, Bó GA, Reis EL, Menegati JA, Marques MO, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Superovulatory response during the first follicular wave in nelore (*bos indicus*) donors. *Theriogenology* 2003; 59:530 (abstract).
44. Prendiville DJ, Enright WJ, Crowe MA, Finnerty M, Roche JF. Immunization of heifers against gonadotropin-releasing hormone, antibody titers, ovarian function, body growth, and carcass characteristics. *J Anim Sci* 1995; 73:2382-2389.
45. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $2\alpha$  and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44: 915-923.
46. Saravanan D, Adams GP, Malhi P, Mayes MM, Ratto MH, Singh J. () Effect of FSH on nuclear maturation of oocytes in the bovine model *50th Annual Meeting of the Canadian Fertility and Andrology Society* 2004; Jasper Canada. November 24-27, 2004.
47. Savage NC, Howell W, Mapletoft RJ. Superovulation in the cow using estradiol 17 $\beta$  or GnRH in conjunction with FSH-P. *Theriogenology* 1987; 27:383-394.
48. Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, De la Sota RL, Wolfenson D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrus cycle in cows. *J Reprod Fertil* 1993; 97:197-203.
49. Singh J, Dominguez M, Jaiswal R, Adams G P. A simple ultrasound test to predict superovulatory response in cattle. *Theriogenology* 2004; 62:227-243.
50. Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993; 132:1108-1114.
51. Taylor C, Manikkam M, Rajamahendran R. Changes in ovarian follicular dynamics and luteinizing hormone profiles following different progestogen treatments in cattle. *Can J Anim Sci* 1994; 74:273-279.
52. Wubishet A, Graves CN, Spahr SL, Kesler DJ, Favero RJ. Effects of GnRH treatment on superovulatory responses of dairy cows. *Theriogenology* 1986; 25:423-427.





**COMUNICACIONES CORTAS**

---



**TEMA A**

---

**MANIPULACIÓN, CRIOPRESERVACIÓN Y CULTIVO DE GAMETAS**





## EFFECTO DEL SEMEN SEXADO POR MEDIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA FECUNDACIÓN *IN VITRO* Y LA ULTRAESTRUCTURA DE BLASTOCISTOS PRODUCIDOS *IN VITRO*

GA Palma, Nora S. Olivier, Christine Neumüller<sup>1</sup> y Fred Sinowatz<sup>1</sup>

Reprobiotec, Biología y Biotecnología de la Reproducción, 7600 Mar del Plata, Argentina <sup>1</sup>Lehrstuhl für Tieranatomie II, Universidad de Munich, Alemania

Se empleó semen sexado por medio de citometría de flujo, de 6 toros de raza Holstein para estudiar su eficiencia en un programa de producción *in vitro* (PIV) de embriones y comparar su ultraestructura con embriones producidos *in vitro* sin sexar. Se analizó la motilidad progresiva rectilínea, la tasa de división *in vitro*, la tasa de desarrollo de los embriones y la ultraestructura de los blastocistos producidos. Los complejos cúmulos ovocitos (COCs) fueron recolectados por medio de aspiración folicular de ovarios de matadero. Los COCs seleccionados (n = 2182) fueron madurados en grupos de 30-40 COCs en 400µl de TCM-199 modificado, suplementado con 0,05 IU/ml r-hFSH, durante 20-22h a 38,5°C en 5% CO<sub>2</sub> en aire. Los ovocitos madurados fueron divididos en 6 grupos, de acuerdo a las condiciones experimentales: 1852 COCs fueron fecundados con semen sexado de 6 toros Holstein (S1, n = 310; S2, n = 300; S3, n = 320; S4, n = 310; S5, n = 302; S6, n = 310) y 330 COCs con semen no sexado de un toro control (C), el cual fue adecuado para la producción *in vitro* de embriones (30%). Los espermatozoides fueron separados por medio del método MoFlo® SX *sperm sorter*. La motilidad de los espermatozoides fue determinada después de su preparación con Percoll® para la inseminación *in vitro*. Después de la fecundación, los presuntos cigotos fueron cultivados en CR-1aa durante 7 días. La evaluación fue realizada a los 2 y 7 días para establecer las tasas de división y desarrollo de blastocistos respectivamente. Los resultados de 6 repeticiones fueron comparados. El número de gotas inseminadas por cada pajuela descongelada fue expresado como la media ± DS y analizado por medio de ANOVA. La proporción de embriones que desarrollaron en los diferentes estadios fueron comparados a través del análisis de Chi-cuadrado. Las diferencias de los resultados fueron considerados significantes cuando p < 0,05. Una muestra de los blastocistos de 7 días de todos los grupos fueron separados para su estudio ultramicroscópico. Se determinó la densidad relativa de las mitocondrias en embriones de 7 días a una magnificación de 6.000x. La motilidad progresiva rectilínea, las tasas de división y desarrollo de blastocistos se muestran en la Tabla 1. El número de grupos de COCs inseminados en cada gota, fue significativamente más bajo con el semen sexado (2±1,0, 2±1,0, 2±1,0 para S1, S2 y S4), comparado con el grupo control sin sexar (14±1,5). Se observó una frecuencia significativamente alta de sesiones contaminadas, cuando se inseminó con semen sexado (S3, 6/6, 100% y S4, 3/6, 50%) comparado con el semen no sexado (C, 0%; 0/6, p < 0,01), lo cual impidió continuar con los estudios con esos grupos.

**Tabla 1.** Motilidad rectilínea progresiva (%) y tasas de división (d3) y desarrollo de blastocistos (d7)

Semen	MPR	Nº de COCs inseminados	2 ó + células (división)	Blastocistos producidos
S 1	48,0 ± 12,0*	310	51,3**	4,9**
S 2	41,0 ± 11,9*	300	38,0**	0,0**
S 3	39,0 ± 9,9*	320	0,0	0,0
S 4	42,0 ± 4,6*	310	17,4**	3,5**
S 5	72,0 ± 7,1*	302	82,0	-
S 6	64,0 ± 9,3*	302	80,6	25,8
Control	82,0 ± 4,6*	330	86,1	33,6**

En las mismas columnas difieren significativamente \* p < 0,05, \*\* p < 0,01

El porcentaje de motilidad progresiva tuvo una buena correlación con la capacidad de desarrollo de los blastocistos (R<sup>2</sup> > 0.70), los valores de regresión fueron significativos (p < 0,01). Con una dosis de espermatozoides sexados se inseminaron significativamente menos ovocitos que con la misma concentración inicial del semen congelado/descongelado sin sexar. Los estudios ultraestructurales indicaron que algunos blastocistos producidos con semen sexado presentaron más desviaciones en el número y estructura de las organelas, como las mitocondrias y el retículo endoplásmico que los blastocistos del grupo control. Los blastocistos de los grupos sexados mostraron una proporción significativamente alta de mitocondrias inmaduras (33,7%; 120/356) comparado con el control (21,6%; 66/306; p < 0,01). Los núcleos de los blastocistos sexados mostraron una tasa significativamente menor de envolturas nucleares intactas (66,6%; 16/24) que el control (95,8%; 23/24; p < 0,01). Los resultados demuestran que, la capacidad del semen sexado, para producir embriones *in vitro*, es más baja que el semen sin sexar y que las alteraciones ultraestructurales podrían ser la consecuencia de las bajas tasas de desarrollo *in vitro* observadas en este estudio. La alta tasa de blastocistos, obtenida en uno de los grupos y la adecuada progresión desde 2 hasta 7 días, indican que el semen sexado puede ser empleado en PIV. Sin embargo la alta variabilidad de los resultados, la alta incidencia de contaminaciones, la reducida capacidad fecundante y las alteraciones estructurales indican que se requieren mejoras adicionales para minimizar el daño en los espermatozoides durante el proceso de separación y conservación, para su aplicación con éxito en un programa comercial de PIV.

## CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS PATOLOGÍAS ESPERMÁTICAS PRESENTES EN SEMEN PORCINO FRESCO Y REFRIGERADO

M. E. Torretta y M. B. Rabaglino

Dpto. de Reproducción Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. UNRC. Ruta Nacional 36, Km 601. Estafeta postal N° 9 - (5800) E. mail: [mtorretta@ayv.unrc.edu.ar](mailto:mtorretta@ayv.unrc.edu.ar)

El objetivo de este estudio fue cuantificar y calificar las anomalías morfológicas en semen porcino fresco y refrigerado y compararlas a fin de diferenciar su origen. El trabajo se realizó en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UNRC y en una empresa de explotación porcina de la Pcia de Bs. As. Las muestras seminales se obtuvieron cada 15 días durante 6 meses, mediante el método manual, de 10 verracos híbridos, entrenados. Inmediatamente postcolecta, el eyaculado se llevó al laboratorio, donde, a fin de determinar su calidad, se realizaron evaluaciones macroscópicas y microscópicas de rutina y se estudiaron en detalle las patologías espermáticas. Para ello, el semen se fijó en una solución de formol salino tamponado (FST) en proporción 2:1. Posteriormente, una gota de esta muestra húmeda se colocó entre porta y cubreobjetos y se observó en microscopio de contraste de fases a 1200 X (Carl Zeiss Standard WL) con objetivo 100 X, ocular de 12 X, contando en guarda griega sobre un total de 400 espermatozoides. Las patologías espermáticas presentes en cada muestra se caracterizaron y cuantificaron de acuerdo a la clasificación descrita por Barth, (1989). Los eyaculados que cumplían con las exigencias mínimas de calidad, se diluyeron y refrigeraron a 15 – 17° C, en dosis de 3 x 10<sup>9</sup> espermatozoides en 80 ml de diluyente de larga duración. Para estudiar la morfología espermática, inmediatamente postrefrigeración se fijaron 10 gotas de semen diluido, proveniente de cada muestra en 1 ml de FST y se evaluaron los mismos parámetros que en semen fresco. El estudio estadístico se realizó mediante análisis exploratorio de los datos, análisis de la varianza y a posteriori, test SNK (Student - Newman - Keuls) para diferencia de medias. Los resultados obtenidos en el semen fresco y refrigerado pueden observarse en la tabla.

**Tabla N° 1.** Porcentajes promedio de patologías espermáticas totales (PET), cabezas anormales (Pca), patologías de acrosoma (PA), de pieza media (PPM), de pieza principal (PPP) y de cola (PC), gota protoplasmática proximal (GPP) y gota citoplasmática distal (GPD), hallados en las muestras de semen **fresco y refrigerado** de verracos usados para IA (n= 120).

<i>SEMEN</i>	<b>PET (%)</b>	<b>Pca (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>PPM (%)</b>	<b>PPP (%)</b>	<b>PPF (%)</b>	<b>GCP (%)</b>	<b>GCD (%)</b>
<b>Fresco</b>	10.08 a	0.50 a	0.00 a	1.40 a	2.85 a	0.63 a	4.60 a	1.89 a
<b>Refrigerado</b>	29.21 b	2.69 b	1.67 b	7.34 b	2.02 b	2.06 b	4.75 a	1.60 a

Letras diferentes indican diferencias significativas.

De los resultados del presente trabajo, se concluye que la refrigeración provoca algunas alteraciones sobre el semen refrigerado, las cuales se pueden cuantificar, calificar y diferenciar de las propias del semen fresco, mediante técnicas de evaluación microscópicas de escasa complejidad.

Trabajo subsidiado por SecyT-UNRC.

## PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS POR TRANSFERENCIA NUCLEAR O PARTENOGENÉISIS, ACTIVADOS CON Dihidroleucodina

G.D. Vichera Y D.F. Salamone

Laboratorio De Biotecnología Animal, Facultad De Agronomía, Universidad De Buenos Aires

El desarrollo de embriones reconstruidos tras una transferencia nuclear es afectado por distintos factores y uno de los más importantes es la activación. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de activación de la lactona dihidroleucodina (dhl) sobre ovocitos madurados *in-vitro* y sobre embriones reconstruidos por transferencia nuclear. Complejos ovocito-cúmulus fueron madurados en tcm-199, 5% sfb, 2% atb y 2ug/ml fsh, incubados a 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, por 24 hs. En un 1<sup>er</sup> experimento se determinó la concentración y tiempo de incubación más efectivos para realizar la activación utilizando dhl. La activación partenogénica fue inducida utilizando ionomicina (io) 5 µm por 3 min y luego incubando con 1 o 5 µm dhl por 3 o 5 hs; o 1,9 mM 6-dimetilaminopurina (6-dmap) por 3 hs. En un 2<sup>do</sup> experimento, se activaron embriones reconstruidos por transferencia nuclear, con io 5 µm por 3 min y luego incubando con 5 µm dhl o 1,9 mM 6-dmap por 3hs. Los embriones se co-cultivaron con células del cumulus por 7 días. Se evaluó el n° de embriones clivados a las 48 hs, y el n° de mórulas y blastocistos a los 5 y 7 días. El día 8, los blastocistos fueron teñidos con hoechst 33342, determinando su n° de células.

**Tabla 1.** Desarrollo *in-vitro* de ovocitos bovinos activados partenogénicamente.

Tratamiento	Coincubación DHL (HS)	n	Clivaje N (%)	Mórulas N (%)	Blastocistos N (%)
lo +1,9 mM 6-DMAP	0	83	47 ( 57 )a	18 ( 22 )a	8 ( 10 )a
lo + 1 µM DHL	3	105	37 ( 35 )b	2 ( 2 )b	0 ( 0 )b
lo + 5 µM DHL	3	109	57 ( 52 )a	19 ( 17 )a	8 ( 7 )a
lo + 1 µM DHL	5	103	43 ( 42 )a	4 ( 4 )b	0 ( 0 )b
lo + 5 µM DHL	5	103	49 ( 48 )a	7 ( 7 )b	2 ( 2 )b

**Tabla 2.** Desarrollo *in-vitro* de embriones bovinos clonados.

	Embriones reconstruidos	Clivaje n ( %)	Mórulas n (%)	Blastocistos n (%)	Nº células (st.dev)
Clonación 6-DMAP	38	22 ( 58 )ab	9 ( 24 )	3 ( 8 )	79 (±22)
Clonación DHL	47	20 ( 43 )a	7 ( 15 )	2 ( 4 )	86 (±14)
Partenogénesis 6-DMAP	91	70 ( 77 )c	21 ( 23 )	11 ( 12 )	111 (± 7)
Partenogénesis DHL	116	79 ( 68 )cb	21 ( 18 )	12 ( 10 )	96 (±19)

abc porcentajes con diferencias significativas. (Chi Cuadrado p<0,05).

La concentración y el tiempo de incubación con DHL más efectivo para producir embriones partenogénicos fue 5 µM por 3 hs, no advirtiéndose diferencias significativas con los porcentajes de desarrollo obtenidos utilizando 6-DMAP. Con este tratamiento logramos activar en forma efectiva, embriones reconstruidos por transferencia nuclear, que desarrollaron hasta estadio de blastocisto. Si bien son requeridos estudios sobre los mecanismos de acción de la DHL, los datos aportados sugieren que este compuesto podría tener inmediatas aplicaciones en mejoras de las técnicas de clonación.

**PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS POR inyección INTRACITOPLASMÁTICA del  
espermatozoide (ICSI), ACTIVADOS CON Dihidroleucodina**

**G. Vichera, J. Grasa, F. Pereyra-Bonnet, M. Silvestre Y D. Salamone  
Laboratorio De Biotecnología Animal, Facultad De Agronomía, Universidad De Buenos Aires**

En el bovino, la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) es frecuentemente asistida con un procedimiento artificial de activación que asegure la secuencia de eventos ocurridos en una fertilización normal. Aún así, las tasas de clivaje y desarrollo hasta estadio de blastocisto continúan siendo bajas. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de activación de un nuevo compuesto, la lactona dihidroleucodina (DHL), sobre ovocitos madurados *in-vitro* y fertilizados por ICSI. Para realizar este trabajo, complejos ovocito-cúmulus fueron colectados de ovarios obtenidos de matadero y madurados en medio TCM-199, 5 % de SFB, 2 % Antibiótico y 2 ug/ml de FSH, incubados a 39°C en atmósfera húmeda, 5% de CO<sub>2</sub>, durante 24 hs. La inyección se realizó en gotas de 20 µl de medio TL-H; los espermatozoides fueron inmovilizados en polivinilpirrolidona (PVP) al 10% y utilizando una pipeta de inyección se los introdujo dentro del ovoplasma. La activación fue inducida utilizando Ionomicina 5 µM por 4 minutos, luego TCM-199 por 3 hs para permitir la extrusión del 2° corpúsculo polar y posteriormente incubando con 5 µM DHL o 1,9 mM 6-dimetilaminopurina (6-DMAP) por 3hs (Activación Haploide). Los embriones se co-cultivaron con células del cúmulus por 7 días. Se evaluó el N° de embriones clivados a las 48 hs, y el N° de mórulas y blastocistos a los 5 y 7 días respectivamente. El día 8, los blastocistos fueron teñidos con Hoechst 33342 determinando el N° de células utilizando un microscopio de epifluorescencia. Los resultados de desarrollo se analizaron mediante Chi cuadrado.

**Tabla 1.** Desarrollo In-vitro de embriones producidos por ICSI.

	n	Clivaje N (%)	Mórulas N (%)	Blastocistos N (%)	N° CÉLULAS (ST.DEV)	
ICSI no Activados	102	13 (13)a	0 (0)a	0 (0)	-----	
ICSI / Act. 6-DMAP	86	44 (51)b	12 (14)b	5 (6)a	53 (±32)	
ICSI / Act. DHL	114	64 (56)b	11 (10)b	2 (2)a	76 (±54)	
Act. Haploide 6-DMAP	116	76 (66)bc	18 (16)b	4 (3)a	71 (±32)	Act. Haploide
DHL	113	53 (47)bd	14 (12)b	0 (0)	-----	

abc porcentajes con diferencias significativas. (Chi Cuadrado p<0,05).

Nuestros resultados confirman que la técnica de ICSI por si misma, no es suficiente para activar ovocitos bovinos y que la eficiencia de la técnica puede ser mejorada, asistiendo químicamente al proceso de activación. Además, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ICSI activados con DHL y con 6-DMAP. Esto demostró que la activación artificial de ovocitos fertilizados por ICSI, puede realizarse de forma efectiva utilizando DHL (compuesto nunca antes utilizado con este fin en mamíferos) y que los embriones producidos de esta forma, pueden evolucionar hasta estadio de blastocistos.

## EFECTO DE LA DIHIDROLEUCODIA COMO INHIBIDOR DE LA MEIOSIS EN OVOCITOS BOVINOS.

M.G. Català, D.F. Salamone

Lab. de Biotecnología Animal, Fac. Agronomía, UBA. Mail: [salamone@agro.uba.ar](mailto:salamone@agro.uba.ar)

La Dihidroleucodina (DhL) es una lactona sesquiterpénica obtenida a partir de *Artemisia Deuglasiana* Besser. El objetivo del presente este trabajo es el estudio del efecto inhibitorio y reversible de la DhL sobre el ciclo celular meiótico. Experimento 1: determinación de la concentración óptima para producir inhibición reversible sobre la maduración. Experimento 2: concentración óptima de DhL fue utilizada para evaluar desarrollo embrionario. En el exp.1 (n=928) complejos ovocitos-cúmulus (COCs) inmaduros fueron aspirados de folículos entre 4 y 6mm de diámetro provenientes de ovarios bovinos de matadero local y cultivados *in vitro* con el agregado de diferentes concentraciones de DhL (5, 10, 20, 30, 100µM) durante 12h para mantener el arresto meiótico. La maduración *in vitro* (MIV) se realizó en TCM199 suplementado con 10%SFB y DhL bajo atmósfera humidificada con 5%CO<sub>2</sub>. Los COCs fueron lavados con TALP-HEPES, realizando un posterior cultivo de 24h en medio de maduración sin el inhibidor. Para evaluar el estadio de maduración nuclear se desnudaron los ovocitos con 1mg/ml de hialuronidasa y se tiñeron con Hoechst 33342 a las 12 (arresto meiótico) (Tabla 1) y 36h MIV sin DhL (reversibilidad del inhibidor). En el exp.2 (n=557) se estudió el desarrollo embrionario de los COCs inhibidos con 30µM DhL realizándose dos controles a las 24 y 36h de maduración sin inhibición. Los COCs se fertilizaron *in vitro* (FIV) o activaron partenogenéticamente (AP) (Tabla 2). Brevemente, la FIV se realizó por el método de Brackett Oliphant utilizándose una concentración final de 12,5x10<sup>6</sup> esperm/ml de medio. La AP se realizó en un cultivo de 4min. en medio TALP-HEPES con 5µM de Ionomicina seguido de 3h en TCM199 con 2mM de 6-DMAP. El cultivo embrionario se efectuó en co-cultivo (células del cúmulo) por 9d.

**Tabla 1:** Análisis del efecto inhibitorio de la DhL durante 12 hs de cultivo con concentraciones crecientes

Concentración DhL (µM)	n	Vesícula Germinal (%)	Metafase I (%)	Metafase II (%)	Metafase III (%)	Degenerados (%)
0	64	24 <sup>a</sup> (37,5)	17(26,5)	21 <sup>a</sup> (33)	-	2(3)
5	98	39 <sup>a</sup> (40)	24(24)	30 <sup>a</sup> (31)	-	5(5)
10	105	49 <sup>a</sup> (46)	24(23)	26 <sup>a</sup> (25)	-	6(6)
20	110	51 <sup>a</sup> (46,5)	31(28,5)	21 <sup>a</sup> (19)	1(1)	6(5)
30	94	57 <sup>b</sup> (61)	18(19)	14 <sup>b</sup> (15)	-	5(5)
100	96	39 <sup>a</sup> (41)	25(26)	26 <sup>a</sup> (27)	-	6(6)

<sup>a,b</sup>: Superíndices diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (Fisher test, p<0,05)

**Tabla 2:** Desarrollo embrionario por FIV y AP

Procedimiento	h MIV-conc. DhL <sup>a</sup>	n	Clivados (%)	Mórula (%)	Blastocisto (%)
FIV	24-0	89	83 (93)	21(25)	9(11)
	36-0	82	66(80)	9(16)	2(4)
	36-30	52	49(94)	9(18)	2(4)
AP	24-0	77	59(77)	20(34)	2(3)
	36-0	48	40(83)	7(17,5)	1(2,5)
	36-30	46	31(67)	8(26)	1(3)

<sup>a</sup> h MIV-conc. DhL: horas de Maduración *in vitro* – concentración de DhL (µM)

Exp.1: el efecto inhibitorio de la DhL es dependiente de la concentración utilizada (61% vs. 37.5% control, p<0.05). Una vez reiniciada la meiosis no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para alcanzar el estadio de MII. Exp.2: no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos de FIV o AP. Este estudio demuestra que DhL es un compuesto efectivo en la inhibición de la meiosis y que su utilización no afecta negativamente el posterior desarrollo embrionario.

## PATRONES DE DISTRIBUCIÓN MITOCONDRIAL Y MADURACIÓN NUCLEAR EN OVOCITOS EQUINOS MADURADOS IN VITRO

J. Aguilar<sup>1</sup>, C. Mas<sup>2</sup>, M. Reyley<sup>1</sup>, R. Ludueña<sup>1</sup>, H. Mouguelar<sup>3</sup>, L. Losinno<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Producción Equina, <sup>3</sup> Anatomía Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nac 36 Km 603, Río Cuarto, Córdoba 5800, Argentina. <sup>2</sup> Dpto. de Química Biológica, Fac. de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Haya de la Torre s/n 5000 Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.

El uso de biotecnologías de la reproducción se ve limitado en equinos por la baja eficiencia en los métodos de maduración in vitro de los ovocitos de yegua. El objetivo de este trabajo fue comparar dos medios de maduración in vitro para ovocitos de yegua analizando por microscopia confocal laser su estadio nuclear y la distribución citoplásmica de mitocondrias. Complejos ovocito cumulus (COC's) compactos, expandidos y desnudos fueron seleccionados y asignados aleatoriamente para madurar in vitro, o no (control), en uno de los siguientes medios: TCM-199 con el agregado de suero fetal bovino (10%) más FSH ovina 5 µg/mL, LH ovina 2 µg/mL, IGF-1 100 ng/mL, EGF 100 ng/mL (TCM) y fluido folicular (FF) puro (100%) colectado de folículos preovulatorios. Los COC's fueron madurados en grupos de 10-14 por microgota bajo aceite mineral por 36 horas a 38°C, en estufa en una atmósfera con CO<sub>2</sub> (5%) y saturada de humedad. Después fueron desnudos de células del cúmulo por medio de pipeteado en una solución de tripsina al 0.2%. Posteriormente fueron incubados en una solución 125 nM de MitoTracker Deep Red 633 ® (Molecular Probes, Invitrogen, Buenos Aires, Argentina) durante 15 min a 37°C, lavados en medio DMEM (Dulbecco's minimum essential medium), fijados en solución de formalina buferada al 3.7% y guardados en microviales hasta su procesamiento por microscopia confocal. Para teñir ADN se usó solución 1 µM de Sytox Green ® (Molecular Probes, Invitrogen, Buenos Aires, Argentina) in DMEM. Los ovocitos fueron visualizados con un microscopio confocal laser (LSM 5 Pascal, Zeiss, Jenna; Ciquibic, UNC) a 20X y se recogieron una serie de 8-12 imágenes por ovocito. Los porcentajes de patrones nucleares y mitocondriales se compararon estadísticamente con el test de Chi cuadrado. Ambos medios TCM y FF permitieron la maduración nuclear de los ovocitos respecto al control no madurado. El FF estimuló significativamente la formación de ovocitos (de COC compactos) en MI y MII sobre el TCM (45,5% y 31,8% vs 34,0% y 12,8% respectivamente). Los estadios de maduración nuclear fueron asociados a distintos patrones de distribución mitocondrial: 52,6% (40/76) de los ovocitos con vesícula germinal mostraron densas agregados de mitocondrias en el área cortical; mientras que el 63,6% de ovocitos en MI (42/66) y el 76,7% (33/43) en MII mostraron patrones de mitocondrias diseminadas en forma polarizada (generalmente restringidas a una mitad o dos tercios del citoplasma) o no polarizada (homogéneamente distribuidas en las regiones cortical y subcortical). En conclusión, el FF preovulatorio de yegua, usado puro como medio de maduración in vitro para ovocitos equinos permitió inducir tasas de maduración nuclear aceptables e incluso superiores a la obtenida con TCM y hormonas. Durante la maduración in vitro los ovocitos equinos sufren cambios en la distribución citoplasmática de sus mitocondrias que tal vez estén asociados a su capacidad posterior de desarrollo. Este aspecto deberá ser estudiado más profundamente en el futuro.

**COMPARACIÓN DE DOS DILUYENTES Y DOS TEMPERATURAS DE ENVASADO DE SEMEN BOVINO**

A.L. Migliorisi<sup>1,2</sup>, M.L. Hernandez<sup>3</sup>, M.V. Gómez<sup>1</sup>, A.T. Soto<sup>1</sup>, R.L. de la Sota<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Catedra y Servicio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP.  
Calle 60 y 118. La Plata. B1900AVW. Buenos Aires. <sup>2</sup>E-mail: [lmiglio@fcv.unlp.edu.ar](mailto:lmiglio@fcv.unlp.edu.ar)  
<sup>3</sup>CIADO, Dr. Rivkin s/n. B8183. Darregueira, Buenos Aires.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilización de dos diluyentes y dos temperaturas de envasado en semen bovino congelado-descongelado con el fin de optimizar y simplificar el proceso de criopreservación bajo condiciones comerciales. Se utilizaron 4 toros del Centro Integral de Inseminación del Oeste (CIADO), Darregueira, Buenos Aires en un diseño factorial de 2x2. Se utilizaron dos diluyentes: a) diluyente tradicional (TRA); compuesto por 50%(v/v) de una solución A [leche descremada 90%(v/v), fructosa (1.9gr/l), yema de huevo 10%(v/v), penicilina sódica (0.9g/l) y sulfato de estreptomycin (2.1g/l)] y 50%(v/v) de una solución B [solución A 86%(v/v) y glicerol 14 %(v/v)] y b) diluyente comercial Andromed<sup>®</sup>, (AND, Minitube, Alemania); y dos temperaturas: a) 22°C (T22; ambiente) y, b) 4°C (T04). El semen fue extraído por medio de vagina artificial (VA). Previo a la dilución, los eyaculados fueron sometidos a una evaluación macroscópica (volumen [VOL], color [COL], pH, cuerpos extraños) y microscópica (concentración [CON], motilidad en masa [MOT], porcentaje con motilidad individual [MOI], vigor [VIG]), porcentaje de vivos [VIV, tinción con eosina], porcentaje de acrosomas intactos [ACR, tinción con Giemsa], porcentaje de espermatozoides normales, [NOR]). Solo se congeló semen de los eyaculados que superaron los siguientes parámetros: VOL, 4 ml; color blanco a amarillento; pH, 6.7-7.2; ausencia de cuerpos extraños; MOT, 3; MOI, 70%; VIG, 3; CON, 7.5 x 10<sup>5</sup> espermatozoides/mm<sup>3</sup>, VIV, 70%; NOR, 70%; ACR, 70%. Se dividió el eyaculado de cada uno de los toros en cuatro alícuotas iguales. Dos de ellas se diluyeron con AND, y las otras dos con TRA. Luego cada uno de los diluyentes se envasó a T22 o a T04. Una vez dividido el eyaculado, se procedió a tamponar cada una de la alícuotas y luego a diluir las muestras con el resto de sus respectivos diluyentes para obtener pajuelas con una concentración espermática de 30 millones. Para los tratamientos con T04, se procedió a ubicar los recipientes con el semen diluido en baño de agua a 4°C, para disminuir la temperatura y equilibrar durante 4 horas. Pasado ese lapso se procedió al envasado el semen en pajuelas de 0.5 ml con una envasadora automática MRS3<sup>®</sup> (IMV, Francia), dentro de una heladera comercial a 4°C. Finalizado el proceso, se congeló el semen con una curva estándar de congelación en una congeladora Digitcool<sup>®</sup> 5300 (IMV, Francia). Para los tratamientos con T22, luego de agregar el total del diluyente, se envaso el semen en pajuelas de 0.5 ml, utilizando la misma envasadora, a temperatura ambiente. Luego se colocaron las pajuelas en heladera a 4°C para equilibrar por 4 horas. Finalizado el proceso, se utilizó el mismo protocolo de congelación y la misma congeladora que para los tratamientos anteriores. En ambos casos, las pajuelas se almacenaron en nitrógeno líquido. Para la evaluación pos descongelado se tomó una pajuela de cada tratamiento y se evaluó MOI y VIG a la hora 0, y termo resistencia a las 2 y 12 horas. Los datos fueron analizados mediante ANOVA con el procedimiento GLM de y el VIG del semen diluido con AND fueron mayores a la del semen diluido con TRA (MOI 54% vs. 46±0.5%, P<0.001; VIG, 3.4 vs. 2.9±0.05, P<0.001). No hubo diferencias significativas en MOI y VIG del semen envasado a T22 o T04 (P>0.05), ni interacción de diluyente por temperatura (P>0.53). La MOI y el VIG disminuyeron en forma más rápida con el diluyente TRA que con el AND (interacción diluyente por tiempo; P<0.001). Por el contrario, no hubo interacción de temperatura por tiempo (P>0.75) o diluyente por temperatura por tiempo (P>0.97). En conclusión, el semen diluido con Andromed<sup>®</sup> y envasado a 22°C tuvo igual motilidad y vigor que el envasado a 4°C lo que permite simplificar el proceso de envasado sin disminuir la calidad seminal al descongelado. Además, con este diluyente también se obtuvo mejor calidad seminal al descongelado comparado con el diluyente tradicional con ambas temperaturas de de envasado.



## CLONACION, FERTILIZACION IN VITRO (FIV) Y ACTIVACION PARTENOGENETICA EN OVEJAS ADULTAS Y PREPUBERES

Pereyra-Bonnet F.<sup>1</sup>, Gibbons, A.<sup>2</sup>, Cueto, M.<sup>2</sup>, Naim, P.<sup>2</sup>, y Salamone, D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Animal. Facultad de Agronomía, UBA. <sup>2</sup>Laboratorio Reproducción Rumiantes Menores, INTA, EEA Bariloche, Río Negro, Argentina.

Correo: [fbonnet@agro.uba.ar](mailto:fbonnet@agro.uba.ar)

La producción in vitro de embriones obtenidos a partir de ovocitos de ovejas prepúberes posibilita acortar el intervalo generacional y acelerar la reproducción de animales con alto valor genético. En la primer parte de este trabajo comparamos la competencia ovocitaria de ovejas prepúberes y adultas por activación partenogenética y por FIV. Ovarios de matadero de ovejas prepúberes (6 <meses) y adultas fueron punzados y los complejos cúmulus ovocitos (COCs) recuperados fueron madurados por 24 hs. Las condiciones de maduración y cultivo en todos los casos fueron en medio TCM 199 con 10% Suero Fetal Bovino (SFB), 2mM glutamina, 2mg/ml FSH y 2% antibióticos (Gibco, 10499) en estufa a 39°C y 5% CO<sub>2</sub>. La FIV fue llevada a cabo según Brackett y Olliphant (1974) con una concentración de 15x10<sup>6</sup> espermatozoides por ml. La activación partenogenética se realizó en 5 uM de ionomocina por 4 minutos y en 6-DMAP 1.9 mM por 2.5 h. Los porcentajes de clivaje (d2), mórulas (d5) y blastocistos (d8) fueron analizados por X<sup>2</sup> y se muestran en la tabla 1. En ovejas prepúberes y adultas el desarrollo embrionario mostró diferencias significativas mediante activación partenogenética pero no mediante FIV. Luego de haber comprobado la competencia de los ovocitos de ovejas prepúberes, en la segunda parte del trabajo se utilizaron en ensayos de clonación. Para la clonación en ovejas prepúberes los COCs fueron denudados con hialorunidasa (3mg/ml TL-Hepes) y vortex por 3 minutos. Los ovocitos fueron teñidos con Hoechst 33342 (5ug/ml) y observados bajo luz UV para retirar por micromanipulación el núcleo en metafase II. Las células donantes (fibroblastos fetales) fueron transferidas al espacio perivitelino de los ovocitos enucleados y fusionadas mediante un pulso eléctrico (100V, 30us). A las 2 hs, la activación fue inducida como se describió previamente. La transferencia embrionaria de los embriones clonados se llevó a cabo en estadio de mórulas (n=19) en hembras receptoras previamente sincronizadas con esponjas de medroxiprogesterona y eCG. Las mórulas clonadas fueron implantadas en forma semilaparoscópica en el primer tercio del cuerno ipsilateral del ovario con cuerpo lúteo. El desarrollo de los embriones clonados se muestra en la tabla 1. Aunque se obtuvo desarrollo embrionario in vitro, no se obtuvieron preñeces. Mayor número de transferencias nos permitirán concluir si es posible en nuestro sistema incluir ovocitos provenientes de ovejas prepúberes en programas de clonación.

**Tabla 1.** Competencia embrionaria de ovocitos provenientes de ovejas prepúberes y adultas mediante activación partenogenética (Partenos), FIV y clonación.

Tratamiento	Edad	Ovocitos N	Clivados (%)	Mórulas/ clivados (%)	Blastocistos/ clivados (%)	Blastocistos extruídos/ Blastocistos(%)
Partenos	Prepúberes	151	110 (73) <sup>a</sup>	40 (36) <sup>a</sup>	4 (4) <sup>a</sup>	1 (25) <sup>a</sup>
	Adultas	18	10 (56) <sup>b</sup>	5 (50) <sup>b</sup>	2 (20) <sup>b</sup>	2 (100) <sup>b</sup>
FIV	Prepúberes	69	55 (78) <sup>a</sup>	35 (60) <sup>b</sup>	4 (7) <sup>a</sup>	2 (50) <sup>c</sup>
	Adultas	29	22 (76) <sup>a</sup>	10 (45) <sup>a</sup>	2 (9) <sup>a</sup>	1 (50) <sup>c</sup>
Clonación	Prepúberes	104	57 (55) <sup>b</sup>	43 (75) <sup>c</sup>	*	*

Columnas con distintos superíndices indican diferencias estadísticamente significativas (test X<sup>2</sup>; P<0.05).

\* Los embriones clonados fueron transferidos en el estadio de mórula (n=19).

## TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ESPERMATOZOIDES EN OVEJAS PREPUBERES

Pereyra-Bonnet F.<sup>1</sup>, Gibbons A.<sup>2</sup>, Cueto M.<sup>2</sup>, Naim P.<sup>2</sup>, Fernández-Martín F.<sup>1</sup>, Salamone D<sup>1</sup>.<sup>1</sup>Lab. de Biotecnología Animal. Facultad de Agronomía, UBA. <sup>2</sup>Lab. Reproducción Rumiantes Menores, INTA, EEA Bariloche, Río Negro, Argentina.Correo: [fpbonnet@agro.uba.ar](mailto:fpbonnet@agro.uba.ar)

Actualmente existen varios reportes en animales de granja que demuestran la capacidad del espermatozoide para actuar como vector de ADN exógeno al interior del ovocito durante la fertilización. Recientemente la transfección de espermatozoides seguida de la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) ha sido utilizada en ratones demostrando ser más eficiente que la microinyección de pronúcleos o la clonación, para la generación de embriones transgénicos. El objetivo de éste trabajo fue aplicar la técnica de transgénesis mediada por ICSI en ovocitos provenientes de ovejas prepúberes (6 <meses) evaluando su potencial en la generación de embriones ovinos transgénicos in vitro. Se utilizaron espermatozoides congelados/descongelados transfectados con la construcción pCX-EGFP que codifica para la proteína verde fluorescente (0.4 ug de pCX-EGFP por millón de espermatozoides coincubados durante 5 min a 0°C en citrato de sodio al 2.8%) (Tratamiento ICSI). A un grupo de espermatozoides se los trató previo a la transfección por 30 seg a 0°C con Tritón X-100 al 05.% en citrato de sodio al 2.8% (Tratamiento ICSI+Tritón). Los espermatozoides transfectados fueron colocados posteriormente en microgotas de 3 ul PVP al 10%, e inyectados mediante ICSI al interior de ovocitos maduros. Un grupo de ovocitos inyectados fue posteriormente activado químicamente CON 5 uM de ionomocina por 4 min y luego de 3 horas colocados en 6-DMAP 1.9 mM por 2.5 h (Tratamiento ICSI+Actv). Las condiciones de maduración y cultivo en todos los casos fueron en TCM 199 con 2mg/ml FSH, 10% SFB, 2mM glutamina y 2% antibiótico (Gibco, 10499), en estufa a 39°C, 5% CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. El desarrollo embrionario y la expresión de la proteína verde fluorescente (GFP) fueron evaluados diariamente y se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Cultivo in vitro y expresión de fluorescencia en embriones obtenidos por transgénesis mediada por ICSI a partir de ovocitos de ovejas prepúberes (*tg*. transgénicos).

Tratamiento	Ovocitos (n)	Clivados (%)	Mórulas (%)	Mórulas <i>tg</i> (%)	Blastocistos (%)	Blastocistos <i>tg</i> (%)
ICSI	50	27 (54) <sup>a</sup>	15 (30) <sup>a</sup>	14 (28) <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
ICSI +Tritón	58	32 (55) <sup>a</sup>	27 (47) <sup>b</sup>	14 (24) <sup>a</sup>	1 (2) <sup>a</sup>	1 (2) <sup>a</sup>
ICSI +Activación	53	44 (83) <sup>a</sup>	17 (32) <sup>a</sup>	10 (19) <sup>a</sup>	2 (4) <sup>a</sup>	1 (2) <sup>a</sup>

Diferentes superíndices por columna muestran diferencias estadísticamente significativas (Test  $\chi^2$ , P<0.05).

Para alcanzar el estadio de blastocistos fue necesario tratar a los espermatozoides con Tritón X-100 o asistir a los embriones mediante activación química. La expresión de GFP se inició más tempranamente en los embriones asistidos químicamente que en los no asistidos (2 y 8 células respectivamente), indicando que la activación acelera la expresión. Los resultados sugieren que es posible transfectar espermatozoides ovinos y utilizarlos mediante ICSI para generar embriones transgénicos en ovejas.

## TRANSGÉNESIS MEDIADA POR ICSI EN PORCINOS

Olivera R., Pereyra-Bonnet F., Salamone D.

Laboratorio de Biotecnología Animal, Facultad de Agronomía, Univ. de Buenos Aires.

La transgénesis es una poderosa herramienta biotecnológica que permite la producción de animales modificados genéticamente para aplicaciones biomédicas, veterinarias y pecuarias. Actualmente existe una técnica de transgénesis que aprovecha la capacidad intrínseca de los espermatozoides para adherir moléculas de ADN exógeno y transferirlas al ovocito durante la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la producción *in vitro* de embriones porcinos transgénicos mediante ICSI asistida con activación química, utilizando espermatozoides eyaculados y recuperados de epidídimo. Se aspiraron complejos cúmulos ovocitos (COCs) de ovarios procedentes de cerdas de faena y se maduraron en TCM 199 suplementado con 2mM glutamina, 0.3mM piruvato, 100uM cisteamina, 10% FBS, 10 ug/ml FSH y 2% de antibióticos (Gibco, 10499) a 39°C, 5% CO<sub>2</sub> y 100% de humedad. A las 44 h los COCs se denudaron con hialuronidasa (1mg/ml PBS) y vortex por 2 min. Los ovocitos con primer corpúsculo polar visible se inyectaron con espermatozoides congelados/descongelados, eyaculados o epididimarios, previamente coincubados con el plásmido pCX-EGFP (en citrato de Na al 2.8% a 0°C durante 5 min). Los embriones ICSI y un grupo control (no inyectados) fueron activados químicamente con ionóforo 5 µM durante 4 min, seguido de 3h en TCM 199 permitiendo la extrusión del segundo corpúsculo polar, y posteriormente en 1.9 mM de 6-DMAP por 3h. Los presuntos cigotos se cultivaron en el medio y condiciones de maduración original renovando el 50% del medio al día 5. Los porcentajes de clivaje (48hs), mórulas (d5), blastocistos (d6) y expresión de GFP (d3) se analizaron estadísticamente mediante la prueba Fisher (tabla 1). Se realizaron ensayos de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) con una sonda del plásmido pCX-EGFP a embriones ICSI detenidos en metafase e interfase.

**Tabla 1.** Desarrollo embrionario y fluorescencia (GFP) de embriones porcinos generados por transgénesis mediada por ICSI.

Tratamiento	Ovocitos n	Clivaje (%)	Embriones GFP (%)	Mórulas (%)	Mórulas GFP / mórulas (%)	Distintos superíndices en la misma columna difieren estadísticamente
ICSI Eyaculado	55	46 (84)a	33 (60)	7 (13)a	2 (29)	
ICSI Epidídimo	30	24 (80)a	12 (40)	0 (0)b	0 (0)	
Grupo Control	120	62 (52)b	-	3 (3)b	-	

ticamente (Fisher: P<0.05).

Los embriones inyectados con espermatozoides eyaculados mostraron mayor capacidad de desarrollo. Sin embargo, el porcentaje de expresión de GFP en embriones obtenidos con ambos tipos de espermatozoides no mostró diferencias significativas. El análisis de FISH mostró señales de hibridación sobre núcleos en interfase indicando posibles eventos de integración al genoma. Este trabajo demuestra que es posible obtener embriones porcinos transgénicos utilizando transgénesis mediada por ICSI con espermatozoides eyaculados o epididimarios.

## PRODUCCIÓN DE EMBRIONES BOVINOS PARTENOGENÉTICOS HAPLOIDES O DIPLOIDES POR INDUCCIÓN DE LA EXTRUSIÓN DEL PRIMERO Y/O SEGUNDO CORPÚSCULO POLAR

R. Bevacqua; D. Salamone  
Laboratorio de Biotecnología Animal; Facultad de Agronomía, UBA

El objetivo de este trabajo fue comparar el desarrollo embrionario de ovocitos bovinos activados partenogénicamente en forma haploide o diploide. Para inducir el desarrollo partenogénico haploide (PH), ovocitos en MII fueron activados químicamente permitiendo la extrusión del segundo corpúsculo polar (CP). Para inducir el desarrollo partenogénico diploide se emplearon dos estrategias: En una de ellas se inhibió la extrusión del segundo CP (grupo PDMII), y en la otra se inhibió la extrusión del primero y se permitió la liberación del segundo (grupo PDI). Para esto, complejos ovocitos-cúmulos (COC's) fueron colectados de ovarios obtenidos de matadero y madurados en microgotas de 100  $\mu$ l de TCM-199 suplementado con 10% de SFB, 2  $\mu$ g/ml de FSH, 0.3 mM de piruvato de sodio, 2 mM de glutamina, 100 mM de cisteamina y 2% antibiótico-antimicótico, durante 24 hs a 39 °C en atmósfera humidificada con 5% de CO<sub>2</sub> en aire. Los ovocitos de los grupos PDMII y PH fueron posteriormente desnudados mediante agitación mecánica durante 3 min en TL-HEPES con 1 mg/ml de hialuronidasa. Los COC's del grupo PDI, fueron desnudados a las 5 hs de maduración e incubados con 10  $\mu$ g/ml de Citocalasina B (CITB) hasta concluir las 24 hs. La inhibición de la extrusión del primer CP fue evaluada mediante observación bajo luz UV en microscopio de epifluorescencia tras tinción con 5  $\mu$ g/ml Hoechst 33342. En los grupos PH y PDI la activación fue inducida mediante tratamiento con 5  $\mu$ M ionomicina (Io) en TL-Hepes por 4 min, incubación en TCM-199 por 3 hs para permitir la extrusión del 2° CP, y posteriormente con 2 mM 6-DMAP por 3 hs. El grupo PDMII recibió el mismo tratamiento con 6-DMAP pero inmediatamente después de ser tratado con Io. Los embriones se co-cultivaron con células del cúmulo por 7 días. Se evaluó el N° de embriones clivados a las 48 hs, y el N° de mórulas y blastocistos a los 5 y 7 días respectivamente. Los resultados de desarrollo se analizaron mediante Chi cuadrado.

**Tabla 1.** Tasa de desarrollo embrionario correspondiente a activación haploide y diploide.

GRUPO	TRATAMIENTO	n	Clivaje (%)	Mórulas (%)	Blastocistos (%)
<b>PDMII</b>	Io-DMAP	269	139 (52)	42 (16) <sup>b</sup>	24 (9) <sup>b</sup>
<b>PH</b>	Io-(3hs)-DMAP	231	101 (44)	34 (15) <sup>b</sup>	4 (2) <sup>a</sup>
<b>PDI</b>	CITB- Io-(3hs)-DMAP	135	68 (50)	5 (4) <sup>a</sup>	3 (2) <sup>a</sup>

a,b porcentajes con diferencias significativas, Chi cuadrado (P<0.05)

Los tratamientos PH, PDMII y PDI no presentaron diferencias significativas en clivaje. Sin embargo, al evaluar el estadio de mórula, el grupo PDI presentó diferencias respecto a los grupos PDMII y PH. En el estadio de blastocisto, el grupo PH dejó de ser significativamente distinto al grupo PDI; y el desarrollo de ambos presentó diferencias significativas respecto a lo obtenido en el grupo PDMII. La obtención de blastocistos PDI resulta de interés debido a que estos embriones poseen contenido genético semejante a la donante de ovocitos, pudiendo ser derivados en células madres con mayor compatibilidad inmunológica.

## TRANSGÉNESIS EN FELINOS MEDIANTE INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI) UTILIZANDO OVARIOS FRESCOS Y REFRIGERADOS

J.M. Jarazo, F. Pereyra-Bonnet, D.F. Salamone

Laboratorio de Biotecnología Animal, Facultad de Agronomía, Univ. Buenos Aires

Un método eficiente de transgénesis en el gato doméstico sería beneficioso, dado que esta especie es un buen modelo para el estudio de enfermedades neuronales como el mal de Alzheimer. El objetivo de este ensayo fue determinar la capacidad de expresión de ADN exógeno en los embriones usando como vector a los espermatozoides y ovocitos provenientes de ovarios frescos y refrigerados. El plásmido utilizado para la transgénesis contiene el gen de la proteína verde fluorescente (green fluorescence protein, GFP) que sirvió como marcador de la actividad transcripcional. Se utilizaron ovarios de gatas obtenidos por ovariectomía en un centro de control de zoonosis. Los ovarios del grupo refrigerados fueron mantenidos a 5°C en solución 0,9% NaCl fisiológica con antibiótico al 2% durante 24 horas. Los del grupo de frescos fueron transportados en solución 0,9% NaCl y antibiótico a 30°C y procesados dentro de las 8 horas. Los ovocitos fueron extraídos por la técnica de cortes en la superficie del ovario y recolectados en PBS con SFB al 5% y antibiótico al 2%. La maduración se realizó en el medio TCM-199 suplementado con 5% de SFB, antibiótico al 2% y FSH 2µg/ml. Luego de un periodo de maduración de 24-28 horas los ovocitos se denudaron por 3 minutos de vortexeado en el medio TALP-Hepes con 3 mg/ml de hialuronidasa y se realizó la selección de los ovocitos maduros (aquellos que presentaban corpúsculo polar evidente). Los espermatozoides fueron extraídos del conducto deferente de testículos obtenidos de castraciones de gatos domésticos y congelados utilizando la solución y el protocolo de AndroMed® (Minitub, Germany) en pajuelas de 250 µl. Luego de descongelar las pajuelas durante 1 minuto a 37°C se realizó la coincubación de los espermatozoides con el plásmido pCX-GFP utilizando citrato de sodio 2,8% 0,5 µg plásmido por millón de espermatozoides durante 5 minutos a 0°C. Luego de la inyección del espermatozoide transgénico mediante la técnica de ICSI, a los ovocitos se los asistió en la activación con 5µm de ionomicina por 3,5 minutos dejando luego una ventana de tiempo de 3 horas para que se produzca la extrusión del segundo corpúsculo polar. Posteriormente se los colocó 3 horas en 6-dimetilaminopurina (6-DMAP), retornándolos al medio de cultivo inicial de maduración previo lavado en TALP-Hepes. Los embriones fueron evaluados con microscopia de fluorescencia con un filtro de 488 nm. La cantidad de ovocitos que clivaron, mórulas y blastocisto, así como la expresión de GFP en cada uno, fueron determinados el día 2, 5 y 9 post-inyección, respectivamente. Los resultados fueron evaluados mediante test de Fisher.

**Tabla 1.** Desarrollo de los embriones transgénicos frescos y refrigerados por 24 horas

	n	Clivados	Mórulas (%)	Mórulas § (%)	Blastocisto § (%)
<b>ICSI Frescos</b>	52	19	12 (63,2)	8 (42,1)	1 (5,2)
<b>ICSI Refrigerados</b>	18	10	7 (70)	3 (30)	0

§ Expresión del plásmido GFP. Porcentajes obtenidos a partir de clivados.

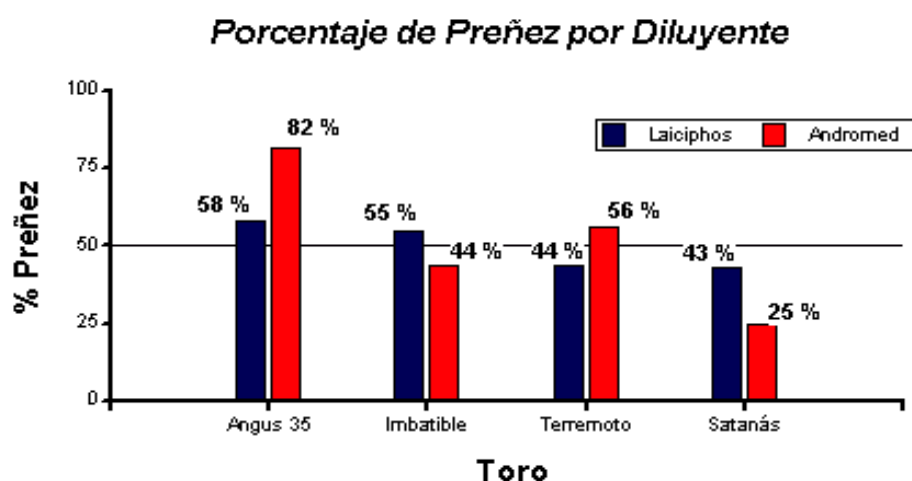
No se observó diferencia estadística significativa (frente a un  $p < 0.05$ ) en el desarrollo de embriones transgénicos provenientes de ovarios refrigerados y frescos, sin embargo se produjo un blastocisto transgénico solo de frescos. En ambos grupos hubo una alta proporción de embriones que expresan GFP, por eso podemos decir que es posible realizar transgénesis en gatos por inyección intracitoplasmática de un espermatozoide utilizado como vector.

## UTILIZACIÓN DE DILUYENTES COMERCIALES PARA SEMEN FRESCO EN PROGRAMAS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

M. Avilés<sup>1</sup>, G. Cuestas<sup>2</sup>, A. Brandán<sup>5</sup>, M. Piccardi<sup>4</sup>, G. Quiñones<sup>3</sup>, L. Boretti<sup>3</sup>, H. Tríbulo<sup>2, 4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Católica de Córdoba, <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba, <sup>3</sup>Universidad de Torino Italia, <sup>4</sup>Universidad Nacional de Córdoba, <sup>5</sup>Anglo Córdoba de Tierras

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el semen refrigerado, tratado con 2 diluyentes de diferentes concentraciones de glicerol, combinado con protocolos de sincronización de la ovulación para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Para este experimento se utilizaron 533 vaquillonas cruzas Índicas x Británicas de aproximadamente 15 meses de edad, estas se sincronizaron para ser inseminadas a tiempo fijo. El semen utilizado para la IATF provino de 4 toros Británicos. La colecta del material seminal se realizó por medio de un electro eyaculador (Lane Pulsator IV- Auto Adjust TM Electro-Ejaculador) en el mismo establecimiento por la mañana, previo a cada inseminación. La evaluación del semen colectado se realizó mediante microscopio óptico con contraste de fase (Nikon®), con el que se evaluó el porcentaje de espermatozoides vivos, motilidad individual (Clasificación Muy Buena = 80-100%, Buena = 60-79%, Regular = 40-59% y Mala = <40%) y vigor (escala 1-4), obteniendo los siguientes resultados: Toro Imbatible: Vivos: 70%, Motilidad Individual: 50%, Vigor: 4, Toro Angus 35: Vivos: 80%, Motilidad Individual: 60%, Vigor: 4, Toro Satanás: Vivos: 50%, Motilidad Individual: 30%, Vigor: 3, Toro Terremoto: Vivos: 60%, Motilidad Individual: 30%, Vigor: 3. Cada muestra de semen se dividió en dos fracciones, una fracción se extendió con un medio de dilución seminal semisintético libre de proteínas de origen animal, para la congelación de semen bovino, este diluyente trae una concentración fija de 6,3% de glicerol Andromed® (Minitub, Alemania), y la otra fracción con un diluyente con una base de leche liofilizada, a la que se le adicionó yema de huevo a una concentración del 20% y 3% de glicerol, Laiciphos® (IMV-Tecnología). El semen fue envasado en pajuelas identificadas. Se procedió a refrigerarlo en heladera a 5°C. durante 8 horas, hasta el momento de inseminar. El diagnóstico de preñez se realizó 30 días post IATF por medio de ultrasonografía. (Aloka 500), Los efectos toro, procesado y su interacción en la tasa de preñez se analizaron por regresión logística.



No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre diluyentes para el evento preñez ( $P = 0,30$ ), sin embargo se ha observado una razón de chance (odd Ratio) de 0,83 veces de preñez a favor del diluyente Laiciphos. Se debería aumentar el número de muestras para ver si esto se mantiene.



**TEMA B: BOVINOS**

---

**B1: SINCRONIZACION DE CELOS E INSEMINACION ARTIFICIAL**





## RESULTADOS DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN PARA IATF DE VACAS CON CRÍA AL PIE

Venturini, M. E.<sup>1,2,3</sup> Leonahrd, O.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Unión Agrícola de Avellaneda Coop. Ltda. <sup>3</sup>Actividad Privada

Se diseñó un experimento para evaluar las tasas de preñez en hembras bovinas sincronizadas para inseminación artificial tiempo fijo (IATF) con diferentes protocolos. El trabajo se realizó en un establecimiento ganadero del norte de Santa Fe, en el que se utilizaron un total de 150 vacas cruce cebú, con cría al pie, con un período post parto promedio de 75 días, y condición corporal (CC) de 2,5 a 3 (escala 1 a 5). En el Día 0, las vacas del grupo 1 (G1) recibieron una esponja impregnada con 250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (Chronogest, Intervet®) y 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Estradiol 10, Lab. Río de Janeiro®) por vía intramuscular (im). Las vacas del grupo 2 (G2) recibieron el mismo tratamiento, pero con la inyección de 10 mg de Acetato de Medroxiprogesterona en combinación con 3 mg de EB (Indugest 1, Intervet®). El grupo 3 (G3), fue tratado con un dispositivo de silicona impregnado con 1 gr de progesterona natural de liberación controlada (D.I.B., Syntex®) y 2 mg de EB (Estradiol 10, Lab. Río de Janeiro®) (im). En el Día 8 se retiraron los dispositivos y se aplicó una dosis de 500 µg de cloprostenol (Ciclase, Syntex®) (im) y a las 24 h (Día 9) se aplicó 1 mg de EB (im). Treinta y dos horas más tarde se IATF la totalidad de las vacas con semen congelado de un único eyaculado. Los diagnósticos de preñez fueron realizados por ultrasonografía transrectal (100 Falco Vet., Pie Medical, con transductor 8 MHz), 30 días después de la inseminación artificial. Se compararon las tasas de preñez mediante la prueba de Chi cuadrado, a través de la confección de Tablas de Contingencia, sin observarse diferencias entre grupos ( $p = 0,72$ ; Tabla 1).

**Tabla 1:** Preñeces logradas por IATF con tres protocolos diferentes de sincronización de celos

Grupo	Porcentajes	Totales
1	56,0	28/50
2	48,0	24/50
3	52,0	26/50

## UTILIZACIÓN DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES USADOS POR SEGUNDA VEZ EN VACAS PRIMÍPARAS DESTETADAS TEMPORARIAMENTE

Venturini, M. E.<sup>1,2,3</sup> Leonahrd, O.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Unión Agrícola de Avellaneda Coop. Ltda. <sup>3</sup>Actividad Privada

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto sobre el porcentaje de preñez de la utilización de dispositivos intravaginales utilizados dos veces en vacas primíparas a las que se les destetaron temporariamente los terneros. Debido a la complejidad fisiológica de esta categoría (crecimiento – lactancia – reproducción), los valores promedio de preñez no superan el 50 %. Por ello se evaluaron dos maniobras ideadas para elevar dichos guarismos. Se utilizaron 150 vacas primíparas con terneros de más de 80 días de vida y condición corporal (cc) 2.5 (escala del 1 al 5), distribuidas al azar en dos grupos con diferentes tratamientos. Grupo 1 (n = 75): día (D)1: destete temporario con tablilla nasal. D11: liberación de los terneros a lactancia. Grupo 2 (n = 75): D1: aplicación de un dispositivo DIB (Syntex Argentina®) usado y destete temporario con tablilla nasal. D8: retiro del dispositivo y encierre de los terneros por 72 h. D11: liberación de los terneros a lactancia. La totalidad de las vacas se liberaron a servicio natural con el 4 % de toros, a partir del D 8, durante 90 días. Los diagnósticos de preñez fueron realizados a los 60 días de finalizado el servicio por ultrasonografía transrectal (100 Falco Vet., Pie Medical, con transductor 8 MHz). Se compararon las tasas de preñez mediante la prueba de Chi cuadrado, a través de la confección de Tablas de Contingencia, observándose diferencias estadísticamente significativas entre grupos (p = 0,049; Tabla 1).

**Tabla 1:** Preñeces logradas por servicio natural de 90 días.

Grupo	Porcentajes	Totales
1: DT	62,7	47/75
2: DT + DIB	46,7	35/75

Los resultados obtenidos por el Grupo 2, justifican ampliamente su implementación. Se observó que un alto porcentaje de las preñeces del Grupo 2 correspondieron al primer ciclo post tratamiento; a diferencia del Grupo 1, en el que los tiempos de gestación fueron mas heterogéneos.

## RESINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS ANGUS: USO DE 0,5 mg DE BENZOATO DE ESTRADIOL EN EL MOMENTO DE COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGIAL CON PROGESTERONA

Madero<sup>1</sup>, S.; De Dominis<sup>1</sup>, O.; Cantallops<sup>1</sup>, F.; Catalano<sup>2</sup>, R. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad privada. Prov. Buenos Aires. <sup>2</sup>Área de Reproducción. Fac. Cs. Vet. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El uso de 1 mg o 0,7 mg de Benzoato de Estradiol (BE), usados en combinación con dispositivos intravaginales con progesterona (DISP) para sincronizar el retorno, han afectado los porcentajes de preñez a la IATF. En consecuencia, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de administrar 0,5 mg de BE al momento de colocar un DISP en vaquillonas (Vq) que fueron previamente sincronizadas con un DISP e IATF, sobre los porcentajes de preñez a la IATF, retorno y final, y de retorno. Se utilizaron 112 Vq Angus negras (58) y coloradas (54) con 15 meses de edad y una condición corporal de 3,5 a 4 (escala 1 a 5). El Día 0 se colocó un DISP (DIB, 1 g, Syntex S.A.) más 2 mg de BE, im (Estradiol 10, Río de Janeiro); el Día 8 se retiró el DISP y se inyectó 0,5 mg de Cipionato de Estradiol y 150 µg de D (+) Cloprostenol, im (Arsaprot, ARSA) y el Día 10 se realizó IATF (50 - 53 h post DISP). Se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, provenientes de dos toros (A y B) de probada fertilidad. Trece días post IATF (Día 23) las Vq se distribuyeron aleatoriamente dentro de raza y toro para recibir un DISP de segundo uso + 0,5 mg de BE (BE05) o solo el DISP (Control). El día 30 se retiró el DISP y al otro día comenzó la detección de celos e inseminación por 4 días, utilizando semen congelado/descongelado proveniente de 2 toros, que habían demostrado en trabajos previos similar comportamiento reproductivo. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía (Transductor transrectal 4-7 MHz; SonoVet 2000, Ekhoson S.A.) a los 61 días post IATF para determinar preñez de la IATF y del retorno. Se evaluó el efecto de la raza, del toro (A y B), del tratamiento (BE05 y Control) y de las interacciones dobles sobre los porcentajes de preñez a la IATF, retorno y final, y de retorno (vaquillonas que retornaron / vacías a la IATF). Se utilizó el PROC CATMOD del SAS (nivel de confianza del 95%,  $\alpha=0,05$ ). Tres animales (2,7%) perdieron el DISP nuevo y no fueron considerados en el análisis de los resultados. Uno de ellos se preñó en la IATF. No se observaron efectos significativos sobre la preñez a la IATF del toro (A: 71,4%; B: 58,5%;  $P>0,05$ ), de la raza (AAN: 65,5%; AAC: 64,8%;  $P>0,05$ ), del tratamiento ( $P>0,05$ ; Tabla 1) y de las interacciones dobles ( $P>0,05$ ). El porcentaje de vaquillonas que retornaron en celo y la preñez del retorno y final no fueron afectadas por ninguna de las variables estudiadas (Tabla 1,  $P>0,05$ ).

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez y retorno de vaquillonas de 15 meses que fueron IATF y resincronizadas con dispositivos intravaginales con progesterona recibiendo o no 0,5 mg de BE al momento de colocar los dispositivos

Tratamientos	Preñez IATF	Retorno	Preñez Retorno	Preñez final
<b>BE05</b>	69,6 (39/56)	29,4 (5/17)	40,0 (2/5)	73,2 (41/56)
<b>Control</b>	60,4 (32/53)	52,4 (11/21)	36,4 (4/11)	67,9 (36/53)
<b>BE05+Control</b>	65,1 (71/109)	41,0 (16/39)	37,5 (6/16)	70,6 (77/109)

Se concluye que la administración de 0,5 mg de BE no perjudica el porcentaje de preñez a la IATF; no obstante, no mejora el porcentaje de retorno, ni la preñez final por lo que no sería de utilidad su aplicación.

## USO DEL BENZOATO DE ESTRADIOL AL MOMENTO DE RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA O 24 HORAS DESPUES EN VACAS Y VAQUILLONAS PARA CRÍA

Venturini<sup>1,2</sup>, M.; Cledou<sup>3</sup>, G. y Callejas<sup>4</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad privada. Unión Agrícola de Avellaneda Coop. Ltda. <sup>2</sup>UNC. <sup>3</sup>Biogénesis – Bagó. <sup>4</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

La administración de benzoato de estradiol (BE) al retirar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) evita un encierre posterior de los animales comparado con el protocolo tradicional que utiliza el BE a las 24 h post DISP. En este caso, algunos investigadores han propuesto que la IATF debe realizarse a las 36 h post DISP. El objetivo del trabajo fue evaluar un protocolo de sincronización de celos administrando el BE al retiro del DISP e IATF a las 36 h post DISP, comparándolo con el protocolo tradicional. Se trabajó en dos años (I y II), utilizando 705 vientres cruzas Brangus y Braford ¼ a 3/8 (Vacas con cría + vacas secas: 357; vaquillonas de 24 meses: 348). La vacas con cría tenían un post parto de 80 a 100 días y una condición corporal de todos los vientres de 4 a 4.5 (escala 1 a 5). El porcentaje de vacas secas en relación al total de vacas fue del 39,3% y 50,0% para los años I y II, respectivamente; encontrándose las mismas distribuidas homogéneamente en los dos tratamientos. El D0, se colocó un DISP (TRIU-B Cronipres 3 usos, 1 g de P4, Biogénesis - Bagó) más 2 mg de BE, im (Bioestrogen, Biogénesis – Bagó). El D8 se retiró el DISP, se administró 150 µg de D-Cloprostenol (Ensaprost D-C, Biogénesis – Bagó) y los animales se distribuyeron en forma aleatoria dentro de cada categoría a recibir 1 mg de BE en dicho momento (Grupo BE0) o 24 h posteriores (Grupo BE24). El servicio se realizó por IATF a las 36 h (BE0) o 56 h (BE24) de retirado los DISP. A las vacas con cría se les practicó un destete temporario entre el retiro del DISP y la IATF. En el servicio se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, proveniente de un toro de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación transrectal a los 70 días post la IATF. Se evaluó el efecto del año (I y II), tratamiento (BE0 y BE24), categoría (vacas y vaquillonas) y de las interacciones dobles sobre el porcentaje de preñez. Se utilizó el PROC CATMOD del SAS (nivel de confianza: 95%,  $\alpha=0,05$ ). No se observaron efecto del año y categoría; si se observó un efecto del tratamiento y de la interacción categoría x año ( $P<0,05$ ) (Tabla 1).

*Tabla 1. Porcentaje de preñez en vacas y vaquillonas que recibieron un tratamiento de control del ciclo estral basado en progesterona en dos años de trabajo, según tratamiento*

Años	Categoría	Tratamientos	Preñez (%)	
I	Vacas	BE0	50,0 (25/50)	51,4 (55/107) <sup>a</sup>
		BE24	52,6 (30/57)	
	Vaquillonas	BE0	36,4 (24/66)	36,7 (36/98) <sup>b</sup>
		BE24	37,5 (12/32)	
II	Vacas	BE0	40,8 (51/125)	47,6 (119/250)
		BE24	54,4 (68/125)	
	Vaquillonas	BE0	44,0 (55/125)	52,4 (131/250)
		BE24	60,8 (76/125)	
I+II	Vacas + vaquillonas	BE0	42,3 (155/366) <sup>a</sup>	
		BE24	54,9 (186/339) <sup>b</sup>	

\* Interacción año x categoría:  $P<0,05$ . Valores con superíndices diferentes difieren:  $P<0,05$

Se concluye que la administración de BE al momento del retiro de un DISP con la realización de una IATF a las 36 h de retirado el mismo perjudican el porcentaje de preñez comparado con el tratamiento tradicional (BE a la hora 24 de retirado el DISP e IATF a la hora 56).

## RESINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS ANGUS: USO DE 0,7 mg DE BENZOATO DE ESTRADIOL EN EL MOMENTO DE COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA

Madero<sup>1</sup>, S.; De Dominis<sup>1</sup>, O.; Cantallops<sup>1</sup>, F.; Uslenghi<sup>2</sup>, G. y Callejas<sup>3</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad privada. Prov. Buenos Aires. <sup>2</sup>Colaborador alumno <sup>3</sup>Área de Reproducción. Fac. Cs. Vet. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de administrar 0,7 mg de benzoato de estradiol (BE) al momento de colocar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) en vaquillonas (Vq) que fueron previamente sincronizadas con un DISP e IATF, sobre los porcentajes de preñez a la IATF, retorno y final y de retorno. Se utilizaron 101 Vq Angus negras (44) y coloradas (57) con 15 meses de edad y una condición corporal de 3,5 a 4 (escala 1 a 5). El Día 0, se colocó un DISP (DIB, 1 g., Syntex S.A.) más 2 mg de BE, im (Estradiol 10, Río de Janeiro). El Día 7, se retiró el DISP y se inyectó 1 mg de Cipionato de Estradiol y 150 µg de D (+) Cloprostenol, im (Arsaprot, ARSA). El Día 9 se realizó IATF (50 - 53 h post DISP). Se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, provenientes de dos toros (A y B) de probada fertilidad. Catorce días post IATF (Día 23) las Vq se distribuyeron aleatoriamente dentro de raza y toro a recibir un DISP de segundo uso + 0,7 mg de BE (BE07) o solo el DISP (Control). El Día 30 se retiró el DIB y al otro día comenzó la detección de celos e inseminación por 3 días, utilizando semen congelado/descongelado proveniente de un toro (C), de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía (Transductor transrectal 4-7 MHz; SonoVet 2000, Ekhoson S.A.) a los 33 días post IATF a las Vq que no retornaron en celo y 40 días después a las que si retornaron para determinar preñez de la IATF y retorno, respectivamente. Se evaluó el efecto de la raza, del toro (A y B), del tratamiento (BE07 y Control) y de las interacciones dobles. Se utilizó el PROC CATMOD del SAS (nivel de confianza del 95%,  $\alpha=0,05$ ). Se observó una tendencia de interacción tratamiento x toro en los porcentajes de preñez a la IATF ( $P=0,09$ ) y final ( $P=0,06$ ); por lo que se presentan los resultados según el toro utilizado en la IATF (Tabla 1). Las Vq Angus negras se preñaron (IATF + retorno) en menor proporción que las coloradas ( $P<0,05$ ; 59,1% vs 77,2%), no difiriendo en las demás variables analizadas. Tampoco se observaron efectos significativos de raza x toro y raza x tratamiento ( $P>0,05$ ).

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez y de retorno en Vq de 15 meses IATF y resincronizadas con o sin la administración de BE al momento de colocar un DIB de segundo uso, según el toro utilizado en la IATF.

<b>Toro A (%)</b>				
<b>Tratamientos</b>	<b>Preñez IATF</b>	<b>Retorno</b>	<b>Preñez Retorno</b>	<b>Preñez Final</b>
<b>BE07</b>	48,0 (12/25) <sup>a</sup>	46,2 (6/13) <sup>a</sup>	50,0 (3/6) <sup>a</sup>	60,0 (15/25) <sup>a</sup>
<b>Control</b>	48,0 (12/25) <sup>a</sup>	61,5 (8/13) <sup>a</sup>	50,0 (4/8) <sup>a</sup>	64,0 (16/25) <sup>a</sup>
<b>Toro B (%)</b>				
<b>Tratamientos</b>	<b>Preñez IATF</b>	<b>Retorno</b>	<b>Preñez Retorno</b>	<b>Preñez Final</b>
<b>BE07</b>	36,0 (9/25) <sup>a</sup>	62,5 (10/16) <sup>a</sup>	70,0 (7/10) <sup>a</sup>	64,0 (16/25) <sup>a</sup>
<b>Control</b>	65,4 (17/26) <sup>b</sup>	88,9 (8/9) <sup>a</sup>	75,0 (6/8) <sup>a</sup>	88,5 (23/25) <sup>b</sup>

\*Valores con superíndices diferentes dentro de cada toro, difieren  $P<0,05$

En conclusión, el uso de 0,7 mg de BE en la resincronización de Vq Angus de 15 meses utilizando un DISP de segundo uso tiende a interaccionar con el toro utilizado; así en el toro B disminuye el porcentaje de preñez a la IATF y final (IATF+retorno); por lo que no sería conveniente su utilización a la dosis estudiada.

## EFECTO DE DOS DOSIS DE CIPIONATO DE ESTRADIOL ADMINISTRADAS AL FINALIZAR UN TRATAMIENTO CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF

Madero<sup>1</sup>, S.; De Dominis<sup>1</sup>, O.; Cantallops<sup>1</sup>, F.; Uslenghi<sup>2</sup>, G. y Callejas<sup>3</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad privada. Prov. Buenos Aires. <sup>2</sup>Colaborador Alumno. <sup>3</sup>Área de Reproducción. Fac. Cs. Vet. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El Cipionato de Estradiol (CPE) ha sido utilizado en reemplazo de la inyección de benzoato de estradiol a las 24 h de retirado un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) en lugar de la inyección de benzoato de estradiol a las 24 h posteriores, sin afectar los porcentajes de preñez [Callejas y otros (2005). Resúmenes IRAC. Pag. 391]. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de administrar dos dosis de CPE al retirar un DISP y 2 intervalos para realizar la IATF post DISP, sobre el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizar una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Se utilizaron 326 vaquillonas con 18 meses de edad, Angus negro (AAN) y colorado (AAC), con una condición corporal promedio ( $\pm$ de) de  $3,7 \pm 0,3$  (escala 1 – 5). El día 0, se les colocó a todas las vaquillonas un DISP (DIB, 0,5g, Syntex S.A.) más la inyección, im, de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Estradiol 10, Río de Janeiro). El día 8, se retiró el DISP, se administró, im, 150  $\mu$ g de D (+) Cloprostenol (Arsaprost, ARSA S.A) y en forma aleatoria se inyectó 0,5 mg de CPE (Grupo CPE05) o 1 mg de CPE (Grupo CPE1). El Día 10 las vaquillonas fueron IATF a las 48-52 h o 53-58 h posteriores al retiro de los dispositivos. Se utilizaron 2 toros (A y B) de probada fertilidad, cuyos parámetros de laboratorio de 2 pajuelas evaluadas fueron para el Toro A: Motilidad Progresiva (MP) a las horas 0 y 2, 40% y 40%, Vigor: 3 en ambas lecturas, morfología: 88% normales, número espermatozoides con MP (NEMP): 6.520.000; Toro B: MP: 50% y 45% a las horas 0 y 2; Vigor: 3 en ambas lecturas, morfología: 87%, NEMP: 14.800.000). Los toros estuvieron distribuidos aleatoriamente dentro de cada raza, tratamientos y rango horario de IATF. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación transrectal a los 63 días de realizada la IATF. Se evaluó el efecto de la raza (AAN y AAC), tratamiento (CPE05 o CPE1), Toro (A y B), Hora de IATF (48-52 y 53-58) y las interacciones dobles sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizó el PROC CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). No se observaron efectos significativos de la raza (AAC: 49,1%; AAN: 57,1%), del tratamiento (Tabla 1), del toro (A: 54,6%, B: 48,5%), de la hora de IATF (Tabla 1) o de sus interacciones dobles ( $P>0,05$ ).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en Vaquillonas Angus que recibieron un dispositivo intravaginal con progesterona combinado con dos dosis de Cipionato de Estradiol para sincronizar la ovulación y que fueron IATF en dos rangos horarios post dispositivo

Hora IATF	Tratamientos	Preñez (%)
48-52	CPE05	57,3 (47/82)
	CPE1	51,3 (39/76)
53-58	CPE05	45,6 (36/79)
	CPE1	51,7 (46/89)
48-58	CPE05	51,6 (83/161)
	CPE1	51,5 (85/165)

Se concluye que la administración de 0,5 mg o 1 mg de CPE en el momento de retirar un dispositivo intravaginal con progesterona son igualmente efectivas para preñar vaquillonas luego de realizar una IATF entre las 48 y 58 horas posteriores a su administración.

## EFECTO DE LA eCG ADMINISTRADA AL FINAL DE UN TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS PARA CARNE

De Dominicis<sup>1</sup>, O.; Madero<sup>1</sup>, S.; Cantallops<sup>1</sup>, F. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad privada. Prov. Buenos Aires. <sup>2</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. Fac. Cs. Vet. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

La eCG es una hormona que administrada a la hembra bovina estimula el desarrollo de los folículos ováricos. Se ha utilizado en vacas con cría, sobre todo cuando tienen una condición corporal comprometida en combinación con dispositivos intravaginales con progesterona con la finalidad de mejorar los porcentajes de preñez que se obtienen luego de realizar una IATF. Existe poca información sobre el uso de esta hormona en vaquillonas; por lo que se plantea como objetivo del presente trabajo evaluar el uso de la eCG en vaquillonas Angus sincronizadas con un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) e inseminadas a tiempo fijo (IATF). Se realizaron dos ensayos (E1: 122 vaquillonas de 15 meses, condición corporal:  $3,0 \pm 0,1$ ; E2: 122 vaquillonas de 27 meses, Condición corporal:  $3,0 \pm 0,1$ ), en un mismo Establecimiento comercial. La alimentación se basó en pastura natural mejorada en base a promociones de rye grass. El día 0 por la tarde, todos los animales recibieron un DISP de segundo uso (DIB, 1 g P4, Syntex S.A) más 2 mg de Benzoato de Estradiol (Estradiol 10, Río de Janeiro), im. El Día 8, por la mañana, se retiró el DISP y los animales fueron distribuidos aleatoriamente dentro de cada Ensayo a dos grupos: **1) Grupo eCG (n, E1: 58; E2: 61):** E1, 200 UI de eCG (Novormon, Syntex S.A); E2: 400 UI de eCG. **2) Grupo Control (n, E1: 64; E2: 61):** No recibieron eCG. En el mismo momento, todos los animales recibieron 150 µg de D (+) Cloprostenol, im (Arsaprot, ARSA) y 0,5 mg de Cipionato de Estradiol, im (ECP estradiol, Köning). El día 10, se realizó IATF (52-54 h de retirado los dispositivos), utilizando semen congelado/ descongelado en pajuelas de 0,5 mm, provenientes de dos toros (uno por cada ensayo) de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía (Sonovet 2000, Ekhoson S.A.) a los 32 días de efectuada la IATF, utilizando un transductor transrectal de 4 a 7 MHz. Se evaluó dentro de cada ensayo, el porcentaje de preñez a la IATF, utilizando el PROC CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). El porcentaje de pérdida de los dispositivos fue del 1,6% (2/122) y 4,1% (5/122) para los E1 y E2, respectivamente. Estos animales no fueron considerados en el análisis de la información. Los mismos se preñaron en un 100% y 80,0% para el E1 y E2, respectivamente. El porcentaje de preñez no fue afectado por la eCG ( $P>005$ ; Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas de 15 y 27 meses que se sincronizaron con progesterona con o sin administración de eCG al final del tratamiento

Ensayos	Categorías	Tratamientos	Preñez (%)
E1	Vaquillonas 15 meses	200 UI eCG	62,1 (36/58)
		Control	62,9 (39/62)
E2	Vaquillonas 27 meses	400 UI eCG	52,6 (30/57)
		Control	53,3 (32/60)

Se concluye que el uso de 200 UI o 400 UI de eCG en vaquillonas de 15 o 27 meses de edad, respectivamente, con una condición corporal promedio ( $\pm$ DE) de  $3,0 \pm 0,1$ , no mejora los porcentajes de preñez que se obtienen luego de controlar el ciclo estral con un dispositivo intravaginal de segundo uso con progesterona, administrar ECP al retirar el dispositivo e implementar una IATF.



## USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VAQUILLONAS DE 15 MESES CON SERVICIO NATURAL

Striebeck<sup>1</sup>, G.; Cledou<sup>2</sup>, G. y Callejas<sup>3</sup>, S.

<sup>1</sup>Actividad Privada. <sup>2</sup>Biogénesis-Bagó. <sup>3</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. *Email:* [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Se utilizaron 150 vaquillonas Angus y Hereford, con una de edad de 11 a 13 meses y una condición corporal uniforme de 4 (escala 1 a 5) con el objetivo de evaluar el efecto de un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) sobre el porcentaje de preñez en los primeros días de un servicio natural. Además se evaluó el porcentaje de toros utilizados en las vaquillonas que recibieron el tratamiento hormonal. Las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente a 3 grupos que recibieron los siguientes tratamientos: **1) Grupo DISP 4% (n: 50):** El día 0 se colocó un DISP (TRIUB Cronipres M15, 0,558 de P4, Biogénesis-Bagó) más 2 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen, Biogénesis-Bagó); el día 7 se retiró el DISP e ingresaron los toros al servicio (4%). **2) Grupo DISP 8% (n: 50):** Idem al grupo anterior con la excepción que el porcentaje de toros fue del 8%. **3) Grupo Control (n: 50):** No recibieron tratamiento hormonal y el porcentaje de toros fue del 4 %. Los toros (2 años de edad) fueron de la raza X INTA, con dos raspajes negativos a Tricomoniasis y Campilobacteriosis, fueron asignados en forma aleatoria a los diferentes grupos. La alimentación de los animales se basó en pasturas de alfalfa, cebadilla y pasto ovillo. El día 17, se juntaron todas las vaquillonas con dos toros. El día 28, se retiraron los dos toros e ingresaron 6 toros de 1 año. El día 69 finalizó el servicio. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía a los 36 días de comenzado el servicio (evaluando todo embrión igual o mayor a 28 días) y por palpación transrectal a los 34 días de finalizado el servicio. En la Tabla 1 se presentan los resultados de preñez según tratamiento y duración del servicio.

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas que recibieron o no un dispositivo intravaginal con progesterona al momento de comenzar un servicio natural con un 4% (DISP 4% y Control) u 8% (DISP 8%) de toros

Tratamientos	Porcentaje de preñez (n)	
	8 días de servicio*	68 días de servicio
<b>Grupo DISP 4%</b>	66,0 <sup>a</sup> (33/50)	94,0 (47/50)
<b>Grupo DISP 8%</b>	68,0 <sup>a</sup> (34/50)	94,0 (47/50)
<b>Grupo Control</b>	38,0 <sup>b</sup> (19/50)	94,0 (47/50)

\*Valores con letras diferentes difieren:  $P < 0,05$

Se concluye que el uso de un dispositivo con 0,558 g de progesterona colocado durante 7 días en vaquillonas de cría, con 11 a 13 meses, permite obtener un mayor porcentaje de preñez en los primeros días de un servicio natural. Además, se puede reducir de un 8% a un 4% el porcentaje de toros utilizado en el grupo de vaquillonas tratadas hormonalmente sin afectar la eficiencia reproductiva.

## EFFECTO DE LA PERMANENCIA (7 U 8 DÍAS) DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 0,558 g DE PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF, RETORNO y FINAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO

Callejas<sup>1</sup>, S.; Ochionero<sup>2</sup>, P.; Gonzalez Chaves<sup>1,3</sup>, S. y Cledou<sup>4</sup>, G.

<sup>1</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. <sup>2</sup>Actividad Privada. <sup>3</sup>Becario CIC. <sup>4</sup>Biogénesis-Bagó. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

La utilización de dispositivos intravaginales con dosis menores de progesterona (0,558 g) ha mostrado ser igualmente eficiente (porcentaje de preñez a la IATF) que aquel que utiliza 1 g. Los dispositivos que tienen 1 g de progesterona pueden permanecer colocados en vagina por 7 – 8 días sin afectarse la respuesta reproductiva; es objetivo del presente trabajo evaluar si dispositivos con 0,558 g de progesterona pueden permanecer en vagina por 7 u 8 días sin afectar el porcentaje de preñez luego de realizar una IATF. Se utilizaron 53 vaquillonas Holando Argentino, cíclicas, 20 – 27 meses de edad y una condición corporal de  $3,9 \pm 0,2$ . Se distribuyeron aleatoriamente a dos grupos que recibieron los siguientes tratamientos: **1) Grupo M24 7d:** El día 0 se colocó en vagina un dispositivo con 0,558 g de progesterona (TRIU-B Cronipres M24, Biogénesis Bagó) y se administro im 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Bioestrógen, Biogénesis Bagó), el día 7 se retiró el dispositivo y se administró 150 µg de D-Cloprostenol (Enzaprost D-C, Biogénesis Bagó), el día 8 se inyectó 1 mg de BE y el día 9 se realizó una IATF (50-52 h de retirado los dispositivos). **2) Grupo M24 8d:** Idem Grupo M24 7d, con la excepción que el dispositivo permaneció colocado durante 8 días. Para la IATF se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, proveniente de un toro de probada fertilidad. Diecisiete a 25 días posteriores a la IATF se realizó detección de celo e inseminación artificial de las vaquillonas que retornaron en celo, utilizando la regla am/pm. El diagnóstico de gestación de la IATF se realizó por medio de ultrasonografía a los 28 días de realizada la IATF y del retorno a los 60 días post inseminación por medio de palpación transrectal. Se evaluó el efecto del tratamiento sobre los porcentajes de preñez a la IATF, al retorno y final (IATF + retorno) y porcentaje de retorno (vaquillonas en celo / vaquillonas vacías a la IATF), utilizando el PROC CATMOD del SAS. Se fijó un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). No se observó efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de preñez a la IATF, al retorno y final, ni sobre el porcentaje de vaquillonas que retornaron al celo ( $P>0,05$ ) (Tabla 1)

**Tabla1.** Porcentajes de preñez a la IATF, al retorno y final y de retorno de vaquillonas que fueron sincronizadas con un dispositivo intravaginal con 0,558 g de progesterona que permaneció colocado en vagina por 7 u 8 días.

Tratamientos	Preñez IATF (%)	Retorno (%)	Preñez retorno (%)	Preñez final (%)
M24 7 d	63,0 (17/27)	70,0 (7/10)	57,1 (4/7)	77,8 (21/27)
M24 8 d	73,1 (19/26)	85,7 (6/7)	50,0 (3/6)	84,6 (22/26)

En conclusión, el dispositivo intravaginal con 0,558 g de progesterona puede permanecer colocado en vagina por 7 u 8 días, en vaquillonas Holando Argentino, sin afectar la eficiencia reproductiva.

**EFFECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL MOMENTO DE COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 0,5 g DE PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS PARA CRÍA**

González Chaves<sup>1,2,4</sup>, S.; Chayer<sup>3</sup>, R. y Callejas<sup>4</sup>, S.

<sup>1</sup>Ayte. alumno Fisiología de la Reproducción. <sup>2</sup>Becario CIC. <sup>3</sup>Actividad Privada. Balcarce. <sup>4</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. Fac. Cs. Vet. UNICEN. Tandil. Bs. As.

E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Se utilizaron 201 vaquillonas de 15 meses (Caretas: 58; Hereford y Polled Hereford: 143), con el objetivo de evaluar el efecto de administrar 75 µg de D (+) Cloprostenol al momento de colocar y retirar un dispositivo intravaginal con 0,5 g de progesterona (DISP), de la raza y del GDR (3 y 4) sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente, teniendo en cuenta el GDR, a dos grupos: **1) Grupo Control (n = 100):** En el Día 0 se colocó un DISP (0,5 g., DIB, Syntex S.A.), más 2 mg de BE, im (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). El Día 7, se retiró el DISP y se inyectó 150 µg de D (+) Cloprostenol (Cyclase, Syntex S.A.) y 24 h. posteriores, 1 mg de BE. **2) Grupo 1/2PGF (n = 101):** Idem al Grupo Control, con la salvedad que la dosis del Cloprostenol fue dividida en dos inyecciones (75 µg al colocar el DISP y 75 µg al retirarlo). La IATF se realizó a las 54-56 h de retirado el DISP, utilizando semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, provenientes de un toro de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación transrectal a los 52 días de la IATF. Para analizar los resultados se estudio el efecto del tratamiento (Control vs. ½ PGF), del GDR (3 vs. 4), de la raza (Caretas vs. Hereford + Polled Hereford) y de las interacciones entre estas variables sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizó el PROC CATMOD del SAS, fijándose un nivel de confianza del 95 % ( $\alpha=0.05$ ). Se observó un efecto significativo del tratamiento ( $P<0,05$ ) sobre el porcentaje de preñez a la IATF, no así de la raza, GDR o de las interacciones dobles ( $P>0,05$ , Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas según fueron sincronizadas con un dispositivo intravaginal con 0,5 g de progesterona administrando 75 µg de D (+) Cloprostenol al colocar y retirar el dispositivo (1/2PGF) o 150 µg al retirarlo (Control), raza y GDR.

Variables		Preñez
Raza	Caretas	46,6 (27/58)
	Hereford + Polled Hereford	51,7 (74/143)
GDR	3	51,8 (71/137)
	4	46,9 (30/64)
Tratamientos	½ PGF	45,5 <sup>a</sup> (46/101)
	Control	55,0 <sup>b</sup> (55/100)

<sup>a,b</sup>Valores con letras diferentes difieren:  $P<0,05$

Se concluye que dividir la dosis de D (+) Cloprostenol (150 µg) administrando 75 µg al colocar y 75 µg al retirar un dispositivo intravaginal con 0,5 g de progesterona perjudica el porcentaje de preñez. Por el contrario, dicho porcentaje no se ve afectado por el GDR (3 o 4) y la raza estudiada (Caretas y Polled Hereford + Hereford).

## EFFECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS BRAFORD

Callejas<sup>1</sup>, S.; Tous<sup>2</sup>, F.; Benitez<sup>2</sup>, J.P. y Cledou<sup>3</sup>, G.

<sup>1</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. <sup>2</sup>Actividad Privada. Mercedes, Corrientes

<sup>3</sup>Biogénesis-Bagó. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Con el objetivo de evaluar la administración de media dosis de un análogo sintético de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  al momento de colocar y retirar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) y de la estructura ovárica predominante al momento de colocar el DISP se utilizaron 268 vaquillonas Braford 3/8 que tenían 18 meses de edad y un rango de condición corporal de 3 a 4 (escala 1 a 5). Las vaquillonas se seleccionaron de un grupo mayor, quedando aquellas que tuvieron un cuerpo lúteo (CL) o un folículo > a 8 mm de diámetro (Aloka 500, Transductor transrectal 5 MHz). Se distribuyeron aleatoriamente a dos grupos que recibieron los siguientes tratamientos: **1) Grupo Control (n=134)**: El Día 0, se colocó un DISP (TRIUB Cronipres monodosis, 0,558 g de progesterona, Biogénesis-Bagó) más la inyección de 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Bioestrogen, Biogénesis-Bagó). El Día 7 se retiró el DISP y se administró 150  $\mu$ g de D-Cloprostenol (Enzaprost D-C, Biogénesis Bagó. S.A.). El día 8 se inyectó 1 mg de BE y el día 9 se realizó la IATF (52-54 h post retiro del DISP). **2) Grupo ½PGF (n=134)**: Idem Grupo Control con la salvedad que el D-Cloprostenol se administró en 2 inyecciones de 75  $\mu$ g cada una, inyectadas al momento de colocar y retirar el DISP. Para la IATF se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 mm, provenientes de un toro de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por medio de ecografía a los 40 días posteriores a la IATF. Se evaluó el efecto del tratamiento, estructura ovárica presente al momento de colocar el DISP (CL o folículos) y de su interacción sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizó el Proc CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). No se observaron efectos de los tratamientos, de la estructura ovárica o de su interacción sobre el porcentaje de preñez a la IATF ( $P>0,05$ , Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas según tratamiento y estructura ovárica al momento de colocar el dispositivo intravaginal con 0,558 g de progesterona.

Tratamientos	Estructura ovárica	Preñez
PGF	Cuerpo lúteo	60,9 (56/92)
	Folículo > 8 mm	54,8 (23/42)
Control	Cuerpo lúteo	51,2 (42/82)
	Folículo > 8 mm	46,2 (24/52)
		59,0 (79/134)
		49,3 (66/134)

En conclusión, la administración de media dosis de D-Cloprostenol al momento de colocar y retirar un dispositivo con 0,558 g de progesterona no afecta el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizar una IATF comparado con la administración de la dosis completa de dicho agente luteolítico al retirar el mismo. El porcentaje de preñez fue independiente de la estructura ovárica predominante al momento de colocar el DISP (CL o Folículos > 8 mm).

**EFFECTO DE ADMINISTRAR MEDIA DOSIS DE UN AGENTE LUTEOLÍTICO AL MOMENTO DE COLOCAR Y RETIRAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON 1 g DE PROGESTERONA Y DE LA DURACIÓN DEL TRATAMIENTO SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF EN VAQUILLONAS ANGUS**

González Chaves<sup>1,2,4</sup>, S.; Chayer<sup>3</sup>, R.; Catalano<sup>4</sup>, R.; Cabodevila<sup>4</sup>, J. y Callejas<sup>4</sup>, S.

<sup>1</sup>Ayte. alumno Fisiología de la Reproducción. <sup>2</sup>Becario CIC. <sup>3</sup>Act. Privada. Balcarce. <sup>4</sup>FISFARVET. Fac. Cs. Vet. UNICEN. Tandil. Bs. As. E-mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Se realizaron 2 replicas un ensayo (A y B), utilizándose 288 vaquillonas, Angus, de 15 meses de edad, con el objetivo de evaluar el efecto de administrar 75 µg de D (+) Cloprostenol (Ciclase, Syntex S.A.) al colocar y retirar un dispositivo intravaginal con 1 g de progesterona (DISP), el tiempo de permanencia del DISP (7 u 8 días) y el GDR (3 y 4) sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente dentro de cada ensayo y teniendo en cuenta el GDR a dos grupos: **1) Grupo Control (A: 56, B: 85):** En el Día 0 se colocó un DISP (1 g., DIB, Syntex S.A.), más 2 mg de BE, im (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). Posteriormente las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente a dos subgrupos, según el DISP permaneciera colocado 7 (A = n: 30; B = n: 42) u 8 días (A = n: 26; B = n: 43). Al retiro del DISP se administró 150 µg de D (+) Cloprostenol y 24 h. posteriores, 1 mg de BE. **2) Grupo 1/2PGF (A: 62, B: 85):** Idem al Grupo Control [(7 días: A = n: 33; B = n: 42) (8 días: A = 29; B = n: 43)], con la salvedad que la dosis del Cloprostenol fue dividida en dos inyecciones (75 µg al colocar el DISP y 75 µg al retirarlo). La IATF se realizó 50-54 h post DISP, utilizando semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml provenientes de un toro de probada fertilidad para las dos repeticiones y el mismo inseminador. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía (transductor transrectal de 7-9 MHz; Sono Vet 900, Eckhoson S.A.) a los 31 días (Repetición A) y 40 días (Repetición B) post IATF. Se estudió el efecto tratamiento (Control vs. 1/2PGF), tiempo de permanencia del DISP (7 vs. 8 días), GDR (3 vs. 4), Ensayo (A vs. B) y de las interacciones dobles. Se utilizó el PRC CATMOD del SAS, fijándose un nivel de confianza del 95 % ( $\alpha=0,05$ ). Ninguna vaquillona perdió el DISP. Se observó un efecto significativo de la Repetición ( $P<0,01$ ), no así del tratamiento, tiempo de permanencia del DISP (7 días: 39,5%; 8 días: 46,8%), del GDR (3: 38,5% 4: 47,6%) o de sus interacciones ( $P>0,05$ , Tabla 1).

**Tabla 1** Porcentaje de preñez en vaquillonas que recibieron 75 µg de Cloprostenol al colocar y retirar un DISP (1/2 PGF) o 150 µg al retirarlo (Control), según ensayo realizado.

Repetición	Tratamientos	Preñez
A	½ PGF	29,0 (18/62)
	Control	33,9 (19/56)
B	½ PGF	52,9 (45/85)
	Control	49,4 (42/85)
A+B	½ PGF	42,9 (63/147)
	Control	43,3 (61/141)

*a,b*Valores son superíndices diferentes difieren:  $P<0,01$

Se concluye que en vaquillonas Angus con 15 meses de edad, que reciben un tratamiento hormonal para controlar el ciclo estral, se obtienen similares porcentajes de preñez luego de realizar una IATF, administrando 75 µg de D (+) Cloprostenol al colocar y retirar un DISP (1 g) o la dosis total (150 µg) al retirar el mismo; dejando colocados los dispositivos por 7 u 8 días y utilizando animales con GDR 3 y 4.

## CONTROL DEL CICLO ESTRAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO: COMPARACIÓN ENTRE EL PROTOCOLO OVSYNCH Y DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA

Callejas, S.; Calá, V.; Catalano, R.; Ersinger, C.; Cabodevila, J. y Teruel, M.  
 Área de Reproducción. FISFARVET. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA.  
 Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Con el objetivo de evaluar el efecto de dos protocolos de control del ciclo estral sobre los cambios ováricos generados, se utilizaron 28 vaquillonas Holando Argentino de 24–27 meses de edad y una condición corporal  $6,8 \pm 0,4$  (media $\pm$ DE, escala 1 a 9)]. Los animales, se distribuyeron aleatoriamente a 2 grupos: **1) Grupo Ovsynch** (n=15): Día 0, 8  $\mu$ g de buserelina (Receptal®, Intervet), im; día 7, 750  $\mu$ g de Tiaprost (Iliren®, Intervet), sc y 48 h más tarde (día 9), 8  $\mu$ g de buserelina, im. **2) Grupo P4** (n=13): Día 0, dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) (CIDR®, Pfizer) más 2 mg de benzoato de estradiol, im (Estradiol 10®, Río de Janeiro, BE); día 8, retiro DISP y 750  $\mu$ g de Tiaprost, im; día 9, 1 mg de BE im. Se tomaron muestras de sangre por punción de la vena yugular en los días 0 y 10 para medir progesterona en plasma y se realizaron ecografías ováricas en los días 0, 7 y 9 utilizando un transductor transrectal multifrecuencia 7-9 MHz (SonoVet 900; Medison Co., Ltd.). Se evaluó: Al día 0, concentración de P4 en plasma (ng/ml) y porcentaje de animales con cuerpo lúteo funcional (CL) considerando como tales a aquellos que presentaron CL a la ecografía y  $P4 \geq 1$  ng/ml; al día 7, diámetro del folículo de mayor tamaño (FM); al día 9, porcentaje de animales con folículo dominante (FD) ( $\geq 8,5$  mm) y diámetro del mismo; por último, la tasa de crecimiento del FM entre los días 7 y 9 (mm/día), calculada como la diferencia entre ambos días. Para el análisis se utilizó el PROC CATMOD (variables discretas) y PROC GLM (variables continuas), pertenecientes al SAS. El 96,5% de las vaquillonas tuvieron un nivel de progesterona menor a 1 ng/ml en el día 10 ( $P > 0,05$ ). En la Tabla 1 se presentan los resultados con la significancia estadística.

**Tabla 1.** Características ováricas de vaquillonas Holando Argentino tratadas con dos protocolos de control del ciclo estral.

Variables	Ovsynch (n: 15)	P4 (n: 13)	P
P4 plasmática día 0 (media $\pm$ DE, ng/ml)	2,4 $\pm$ 2,8	1,8 $\pm$ 1,7	>0,05
CL funcional día 0 (%)	66,6	61,5	>0,05
Diámetro FM al día 7 (media $\pm$ DE, mm)	12,5 $\pm$ 2,0	9,7 $\pm$ 2,3	<0,01
Vaquillonas con FD al día 9 (%)	73,3	100	>0,05
Diámetro del FD al día 9 (media $\pm$ DE, mm)	14,6 $\pm$ 2	13,2 $\pm$ 2,6	>0,05
Tasa de crecimiento FM entre días 7 y 9 (media $\pm$ DE, mm/día)*	1,2 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 0,9	>0,05

\* Al día 9, 4 animales del Grupo Ovsynch habían ovulado el folículo de mayor tamaño presente al día 7, por lo que no se pudo estimar su tasa de crecimiento.

En conclusión, los dos protocolos evaluados (Ovsynch y P4) generan cambios ováricos similares con la excepción que las vaquillonas del grupo Ovsynch tienen un mayor diámetro del folículo de mayor tamaño al día 7 (momento en que se administra el agente luteolítico).



**CONTROL FARMACOLÓGICO DEL CICLO ESTRAL EN VACAS HOLANDO ARGENTINO EN PRODUCCIÓN UTILIZANDO UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA COMBINADO CON BENZOATO DE ESTRADIOL O GnRH**

Callejas<sup>1</sup>, S.; Ochionero<sup>2</sup>, P.; Cledou<sup>3</sup>, G. y Gonzalez Chavez<sup>1,4</sup>, S.

<sup>1</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. <sup>2</sup>Actividad Privada. <sup>3</sup>Biogénesis-Bagó. <sup>4</sup>Becario CIC. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de administrar GnRH en lugar de benzoato de estradiol (BE) para sincronizar la ovulación en vacas tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Como objetivo secundario, evaluar la respuesta reproductiva de vacas que tienen o no un cuerpo lúteo (CL) al momento de colocar los DISP. Sesenta y cuatro vacas Holando Argentino [Condición corporal:  $2,8 \pm 0,3$  (escala 1 a 5)]; número de partos:  $1,8 \pm 1,4$ ; post parto:  $72,4 \pm 27,5$  días; producción:  $24,4 \pm 5,3$  litros/día; fueron distribuidas aleatoriamente a dos grupos: **1) DISP BE:** El d0, DISP usado por 8 días (TRIUB Cronipres 3 usos, 1 g P4, Biogénesis–Bagó) más 2 mg de BE, intramuscular (im) (Bioestrogen, Biogénesis – Bagó). El d8, se retiró el DISP y se administró 150 mcg de D-Cloprostenol (Enzaprost D-C, Biogénesis–Bagó); el d9 se administró, im, 1 mg de BE y el d10 se realizó IATF. **2) DISP GnRH:** Idem DISP BE, administrando 8 µg de Buserelina (Gonaxal, Biogénesis–Bagó) a las 48 horas post DISP en lugar del mg de BE. La IATF se realizó a las 56 h (Grupo DISP BE) y 60 h (Grupo DISP GnRH) post DISP, utilizando semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, pertenecientes a un solo toro de probada fertilidad. Se realizó una ecografía ovárica (transductor 7-9 MHz, Sonovet 900, Ekhoson S.A.) en el día 0, para determinar la presencia o no de un CL. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía (transductor transrectal de 4-6 MHz), a los 49 días post IATF. Se utilizó el subprograma CATMOD (SAS) para analizar los resultados (nivel de confianza: 95%,  $\alpha=0,05$ ). Cinco animales perdieron el DISP (7,8%; DISP BE: 3 vacas, DISP GnRH: 2 vacas) y fueron excluidas del análisis. Estas vacas se preñaron en un 20%. El porcentaje de preñez tendió a ser menor en el Grupo DISP GnRH ( $P=0,07$ ); no observándose efectos de la presencia o no de un CL al momento de colocar los DISP o de su interacción con el tratamiento hormonal (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vacas HA que recibieron un DISP combinado con BE o GnRH para sincronizar la ovulación post tratamiento según si tuvieron o no un cuerpo lúteo al inicio de la sincronización.

Tratamientos	Cuerpo lúteo al día 0	Preñez IATF (%)	
DISP BE	Presencia	53,8 (7/13)	46,4
	Ausencia	40,0 (6/15)	(13/28)
DISP GnRH	Presencia	30,0 (6/20)	25,8
	Ausencia	18,2 (2/11)	(8/31)
BE + GnRH	Presencia	39,4 (13/33)	35,6
	Ausencia	30,8 (8/26)	(21/59)

La sustitución de BE por GnRH para sincronizar la ovulación en vacas HA tratadas con un DISP de segundo uso tiende a disminuir el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizada una IATF. No obstante, dada la posibilidad de cometer un error tipo I por un lado y la necesidad de confirmar este resultado sobre un mayor número de animales tratados, hacen que los resultados deban ser confirmados en un futuro experimento. La presencia de un cuerpo lúteo al inicio del tratamiento de sincronización de celos no afecta el dicho porcentaje.

## USO DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE PROGESTERONA PARA CONTROLAR EL CICLO ESTRAL EN VAQUILLONAS HOLANDO ARGENTINO INSEMINADAS A TIEMPO FIJO

Callejas<sup>1</sup>, S.; Ochionero<sup>2</sup>, P.; Gonzalez Chavez<sup>3</sup>, S. y Cledou<sup>4</sup>, G.

<sup>1</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. <sup>2</sup>Actividad Privada. <sup>3</sup>Becario CIC. <sup>4</sup>Biogénesis-Bagó. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El uso de dispositivos intravaginales con progesterona (DISP) permite controlar el momento en que ocurre la ovulación y, en consecuencia, se puede realizar una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). En general, el uso de DISP con 1 g de progesterona ha mostrado ser eficiente en cuanto a porcentajes de preñez obtenidos; existiendo en el mercado DISP con dosis menores (ej: 0,558 g.) El objetivo del trabajo fue comparar dos dosis de Progesterona (0,558 g y 1 g) sobre el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizar una IATF. Se realizaron dos ensayos, en los cuales el DISP permaneció colocado en vagina durante 7 (E1) u 8 (E2) días. Se utilizaron 103 vaquillonas Holando Argentino (E1: 44, E2: 59) con una edad de 18 a 24 meses y una condición corporal de 3-4 (escala 1 a 5). Las vaquillonas, dentro de cada ensayo, fueron distribuidas aleatoriamente a dos grupos: **1) Grupo DISP 0,558 g:** El día 0 se colocó un DISP con 0,558 g de progesterona (TRIU-B Cronipres M24, Biogénesis Bagó) y se administró, im, 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Bioestrógen, Biogénesis Bagó); el día 7 (E1) u 8 (E2) se retiraron los DISP y se administró 150 µg de D-Cloprostenol (Enzaprost D-C, Biogénesis Bagó); el día 8 (E1) o 9 (E2) se inyectó 1 mg de BE y el día 9 (E1) o 10 (E2) se realizó una IATF (50-52 h post DISP). **2) Grupo DISP 1 g:** Idem al Grupo 0,558 g, con la utilización de un DISP con 1 g de progesterona (TRIU-B Cronipres 3 usos, nuevo, Biogénesis Bagó). La IATF se realizó con semen congelado / descongelado en pajuelas de 0,5 ml, provenientes de 2 toros (una para cada ensayo) de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por ultrasonografía a los 28 d (E2) y 29 d (E1) de realizada la IATF. Se evaluó el efecto del tratamiento (dosis de progesterona) sobre el porcentaje de preñez a la IATF, utilizando el PROC CATMOD del SAS. Se fijó un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). El porcentaje de preñez no fue afectado por la dosis de progesterona utilizada ( $P>0,05$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas Holando Argentino que fueron sincronizadas con un dispositivo intravaginal con diferentes dosis de progesterona e IATF.

Ensayos	Dosis de progesterona	Preñez (%)
E1	0,558 g	66,7 (16/24)
	1 g	50,0 (10/20)
E2	0,558 g	58,6 (17/29)
	1 g	60,0 (18/30)

En conclusión, las dosis de 0,558 g ó 1 g de progesterona utilizadas en un dispositivo intravaginal para controlar el ciclo estral son igualmente efectivas para preñar vaquillonas Holando Argentino luego de realizar una IATF.



## USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VACAS DE CRÍA CON SERVICIO NATURAL

Callejas<sup>1</sup>, S.; Alvarez Castillo<sup>2</sup>, S.; Zarzaso<sup>2</sup>, M. y Cledou<sup>3</sup>, G.

<sup>1</sup>Área de Reproducción. FISFARVET. FCV. UNCPBA. <sup>2</sup>Actividad Privada. <sup>3</sup>Biogénesis-Bagó. Email: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de utilizar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) sobre el porcentaje de preñez en los primeros días de un servicio natural. Se realizaron dos ensayos, utilizando 244 vacas de primera parición con cría (post parto  $\geq$  35 días), Polled Hereford (E1: 136, E2: 108), cuyo primer servicio fue a los 15 meses de edad, con una condición corporal promedio ( $\pm$ de) de  $2,7 \pm 0,3$  y  $2,8 \pm 0,3$  para E1 y E2, respectivamente (escala 1-5). Las vacas se distribuyeron aleatoriamente a dos grupos dentro de cada ensayo: **1) Grupo DISP:** El día 0, colocación del DISP (TRIUB Cronipres 3 usos®, 1 g P4, Biogénesis – Bagó) más 2 mg de Benzoato de Estradiol, im (Bioestrogen®, Biogénesis – Bagó); el día 8, retiro del DISP. **2) Grupo Control:** no recibieron tratamiento hormonal. El servicio se realizó en forma natural, ingresando los toros (E1: 5,2% y E2: 5,6%) el día 1. Se realizaron ecografías (Transductor transrectal 6-8 MHz, FalcoVet, Esaote Pie Medical) de los ovarios el día 0, para determinar la presencia de un cuerpo lúteo (CL), y para diagnóstico de gestación en los días 46 (E1) y 52 (E2). Se determinó la presencia de un embrión mayor o igual a 28 días, evaluando un periodo de servicio de 17 y 23 días, para los ensayos 1 y 2, respectivamente. Se evaluó el efecto del Ensayo, Tratamiento y su interacción sobre el porcentaje de preñez, utilizando la Prueba Exacta de Fisher o el Proc CATMOD, según el número de animales por celda (SAS) (nivel de confianza: 95%;  $\alpha=0,05$ ). El porcentaje de vacas con CL al día 0 no difirió entre tratamientos (1,6%). El porcentaje de preñez fue mayor en las vacas que recibieron el DISP, tanto en el E1 ( $P=0,04$ ) como en el E2 ( $P=0,0001$ )(Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vacas con cría, en los primeros días de un servicio natural, según recibieron o no un dispositivo intravaginal con progesterona\*

Ensayos	Tratamientos	Preñez (%)
E1	DISP	25,0 (18/72)
	Control	10,9 (7/64)
E2	DISP	46,2 (24/56)
	Control	10,7 (6/56)
E1 + E2	DISP	33,9 (42/124)
	Control	10,8 (13/120)

\*Efecto tratamiento: E1 ( $P=0,04$ ), E2 ( $P=0,0001$ ).

En conclusión, el uso de un dispositivo intravaginal con 1 g de progesterona en vacas con cría, con un bajo porcentaje de cuerpos lúteos, permite aumentar el porcentaje de preñez en los primeros días de un servicio natural.

## EFECTO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL COMENZAR UN TRATAMIENTO CON PROGESTERONA Y DEL USO DE BE O GnRH EN VAQUILLONAS SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF

Vater<sup>1</sup>, A.; Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>, S.; Otero Ilia<sup>1</sup>, M.; Cabodevila<sup>2</sup>, J. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo ia total. Benito Juárez. Bs. As. <sup>2</sup>Área de Reproducción, Fac. Cs. Vet., UNCPBA. Tandil. Bs. As. Argentina. E mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes estructuras ováricas predominantes (EO) al momento de colocar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) y del uso de benzoato de estradiol (BE) o GnRH para sincronizar la ovulación sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizaron 267 vaquillonas de 15 meses Angus negras (AN: 199) y coloradas (AC: 68), con una condición corporal promedio ( $\pm$ DE) de  $5,3 \pm 0,5$  (escala 1 a 9). El día 0, se realizó ecografía ovárica (Transductor 5 MHz, Chison VET550) para determinar EO [cuerpo lúteo (CL), un folículo  $\geq 10$  mm de diámetro ( $F \geq 10$ ) o menor ( $F < 10$ )] y colocar un DISP (DIB, 1 g, Syntex S.A.) más 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). El día 7 (hora 0) se retiró el DISP y se administró 150  $\mu$ g de Cloprostenol (Cptenol, Lab E. Capaul), distribuyéndose las vaquillonas para recibir BE a la hora 24 (Grupo BE24) o GnRH a la hora 48 (Grupo GnRH48) o 52 (Grupo GnRH52). El servicio se realizó por IATF (IATF 1) a la hora 48 (Grupo GnRH48) o 52 (Grupos BE24 y GnRH52). Se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml, provenientes de un toro de probada fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía a los 30 días de realizada la IATF1. A las vaquillonas vacías, se les realizó una ecografía ovárica registrando las EO antes descritas y se realizó un tratamiento de sincronización de la ovulación e IATF 2 según lo descrito para el Grupo GnRH48, utilizando DISP de segundo uso. Se evaluó el efecto de la raza (AN y AC, en IATF 1 y 2), de las EO (en IATF 1 y 2), de la hormona utilizada para sincronizar la ovulación (en IATF1) y de las interacciones correspondientes sobre el porcentaje de preñez. Se utilizó el Proc. CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). El 1,3% de las vaquillonas perdieron el DISP de segundo uso, no considerándose las mismas para el análisis de los resultados (IATF 2). La raza (IATF 1 = AN: 42,7%; AC: 33,8%; IATF 2 = AN: 50,0; AC: 47,5%  $P > 0,05$ ), la EO (IATF 1 y 2), el tratamiento (IATF 1) o su interacción no afectaron significativamente el porcentaje de preñez ( $P > 0,05$ ; Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas Angus tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona según estructura ovárica y hormona usada para sincronizar la ovulación

Estructura Ovario	Tratamientos	IATF 1	IATF 2
CL	BE 24	30,9 (17/55)	
	GnRH 48	40,9 (18/44)	39,6 (53/134)
	GnRH 52	51,4 (18/35)	46,5 (60/129)
$F \geq 10$ mm	BE 24	45,5 (15/33)	
	GnRH 48	34,6 (9/26)	39,5 (32/81)
	GnRH 52	36,4 (8/22)	60,0 (9/15)
$F < 10$ mm	BE 24	43,5 (10/23)	
	GnRH 48	41,7 (5/12)	44,2 (23/52)
	GnRH 52	47,1 (8/17)	63,6 (7/11)

En conclusión, en vaquillonas de 15 meses tratadas con un DISP, la EO predominante al momento de colocar el DISP y el tratamiento utilizado para sincronizar la ovulación (GnRH o BE), dentro del esquema utilizado, no afectan el porcentaje de preñez.

## USO DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA EN VACAS CON SERVICIO NATURAL

Vater<sup>1</sup>, A.; Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>, S. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo ia total. Benito Juarez. Buenos Aires. Argentina. <sup>2</sup>Área de Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Campus Universitario. Tandil. Buenos Aires. Argentina. E mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Con el objetivo de evaluar el uso de dispositivos intravaginales con progesterona en el inicio de un servicio natural sobre el porcentaje de preñez, se utilizaron 105 vacas con cría Angus colorado (n=22) y Hereford (n=83), con un post parto promedio ( $\pm$ DE) de  $59,0 \pm 10,8$  días y una condición corporal de  $4,9 \pm 0,7$  (escala 1 a 9). Las vacas fueron distribuidas aleatoriamente a 3 grupos que recibieron los siguientes tratamientos: **1) DISP 2 usos (n=35)**: El día 0 se colocó en vagina un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) de segundo uso (DIB, Syntex S.A.) más una inyección de 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). El día 7 se retiró el DISP y se administró 150  $\mu$ g de Clorprostenol sódico (CPTENOL, Lab. Prof. E. Capaul). **2) DISP 3 usos (n=35)**: Idem tratamiento anterior utilizando un DISP de tercer uso. **3) Control (n=35)**: Los animales recibieron un DISP de 4 usos, inyectando solución fisiológica en lugar de BE y de agente luteolítico. El día 8 comenzó el servicio, utilizando un 4% de toros con alta capacidad de servicio y libre de enfermedades venéreas. En el día 0, los ovarios fueron revisados mediante ultrasonografía (Chison, 500VET, Transductor transrectal de 5 MHz), determinando la estructura ovárica predominante (cuerpo lúteo o folículo). El diagnóstico de gestación se realizó mediante ecografía, determinando la presencia de un embrión con una edad mayor a 30 días. Se calculó la preñez acumulada a los 7, 29 y 57 días de servicio. Se evaluó el efecto del tratamiento sobre el porcentaje de preñez en los diferentes períodos evaluados, utilizando el Proc CATMOD del SAS. Se fijó un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). El 9,5% de las vacas tuvieron un cuerpo lúteo al momento de colocar los dispositivos, indicando que la mayoría se encontraba en anestro. Se observó una tendencia ( $P=0,08$ ) del tratamiento en los primeros 7 días de servicio, consecuencia de la mejora observada en el porcentaje de preñez del grupo que recibió el DISP de segundo uso comparada con el Grupo Control ( $P=0,03$ ). En el resto de los períodos evaluados, las diferencias no fueron significativas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vacas con cría que recibieron diferentes tratamientos sobre la base de dispositivos intravaginales con progesterona previo al inicio de un servicio natural, teniendo en cuenta diferentes duraciones del mismo.

Tratamientos	n	Preñez (%)		
		0-7 días	0-29 días	0-57 días
<b>DISP 2 usos</b>	35	22,9 <sup>c</sup>	45,7	65,7
<b>DISP 3 usos</b>	35	11,4	31,4	65,7
<b>Control</b>	35	2,9 <sup>d</sup>	40,0	62,9

<sup>c,d</sup>Valores con superíndices diferente tienden a diferir:  $P=0,08$

En conclusión el uso de un dispositivo intravaginal con progesterona usado por segunda vez (nuevo: 1 g) tiende a mejorar el porcentaje de preñez que se obtiene en los primeros 7 días de servicio. Este efecto no se logra al utilizar un dispositivo intravaginal por tercera vez.

**EFFECTO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL MOMENTO DE COLOCAR  
DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON PROGESTERONA NUEVOS O USADOS SOBRE EL  
PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF**

Vater<sup>1</sup>, A.; Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>, S.; Otero Illia, M.1; Cabodevila<sup>2</sup>, J. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo IA total. Benito Juárez. Bs. As. <sup>2</sup>Área de Reproducción, Fac. Cs. Vet., UNCPBA. Tandil. Bs. As. Argentina. E mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes estructuras ováricas predominantes (EO) al momento de colocar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) nuevo o de segundo uso sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizaron 302 vaquillonas con 15 meses de edad, Angus negro (AN, n=248) y colorado (AC, n=54), con una condición corporal promedio ( $\pm$ DE) de  $5,2\pm 0,4$  (escala 1 a 9). El día 0, las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente a recibir un DISP nuevo (DIB, 1 g, Syntex S.A.) (**Grupo DISPN**) o de segundo uso (DIB, Syntex S.A.) (**Grupo DISPU**), más la administración intramuscular de 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). Además, se realizó una ecografía ovárica (Chison VET500, transductor 5 MHz) para determinar la EO predominante (CL, Folículo  $\geq$  10 mm y Folículo  $<$  10 mm). El día 7, se retiró el DISP y se inyectó 150  $\mu$ g de Cloprostenol (Cptenol, Lab E. Capaul). El día 8 se administró 1 mg de BE y el día 9 (54 h post retiro DISP) se realizó la IATF1. El diagnóstico de gestación se realizó por ecografía a los 33 días de realizada la IATF1. A los animales vacíos se les realizó una ecografía ovárica para determinar la EO y se comenzó con un nuevo tratamiento de sincronización de celos utilizando un DISP de segundo uso, según lo descrito previamente. El diagnóstico de gestación se realizó a los 33 días posteriores a la IATF2. En las IATF, se utilizó semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml provenientes de un toro de probada fertilidad. En la IATF1, se evaluó el efecto de la raza, del tratamiento (DISPN o DISPU), de la EO o de las interacciones correspondientes sobre el porcentaje de preñez; en el caso de la IATF2, sólo se tuvo en cuenta el efecto de la raza, de la EO y de su interacción. Se utilizó el subprograma CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). Tres vaquillonas perdieron el dispositivo en la primera sincronización (0,9%) y 2 en la segunda (1,9%). Estos animales no fueron considerados en el análisis de los resultados. El 72,6% y el 75,5% de las vaquillonas presentaron un cuerpo lúteo al momento de iniciar la primera y segunda sincronización, respectivamente. No se observaron efectos de raza (IATF1: AN = 46,7%; AC = 45,3%,  $P>0,05$ ; IATF2: AN = 56,2%; AC = 62,1%), del tratamiento (IATF1: DISPN = 46,0%; DISPU = 46,9%;  $P>0,05$ ), de la EO (Tabla 1) o de las interacciones respectivas ( $P>0,05$ ).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas sincronizadas con un dispositivo intravaginal con progesterona según la estructura ovárica predominante al momento de colocarlo

<b>Estructura ovárica</b>	<b>IATF1</b>	<b>IATF2</b>
<b>Cuerpo lúteo</b>	44,7 (97/217)	57,5 (69/120)
<b>Folículo <math>\geq</math> 10 mm</b>	48,4 (30/62)	51,6 (16/31)
<b>Folículo <math>&lt;</math> 10 mm</b>	60,0 (12/20)	75,0 (6/8)

En conclusión el uso de un dispositivo nuevo (1 g de progesterona) o de segundo uso, como la estructura ovárica predominante al momento de colocar el dispositivo, no afectan el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizar una IATF en vaquillonas de 15 meses con un porcentaje de cuerpos lúteos al comenzar el tratamiento superior al 70%.

## EFFECTO DE LA ESTRUCTURA OVÁRICA PREDOMINANTE AL COLOCAR UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA Y DEL SEMEN USADO SOBRE EL PORCENTAJE DE PREÑEZ A LA IATF

Vater<sup>1</sup>, A.; Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>, S.; Otero Illia<sup>1</sup>; Cabodevila<sup>2</sup>, J. y Callejas<sup>2</sup>, S.

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo ia total. Benito Juarez. Bs. As. <sup>2</sup>Área de Reproducción, Fac. Cs. Vet., UNCPBA. Tandil. Bs. As. Argentina. E mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes estructuras ováricas predominantes (EO) al colocar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) y del semen utilizado sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizaron 303 vaquillonas Angus negro (AN, n = 248) y colorado (AC, n = 55) de 15 meses y con una condición corporal promedio ( $\pm$  DE) de  $5,2 \pm 0,4$  (escala 1 a 9). El Día 0, se colocó un DISP (DIB, 1 g, Syntex S.A.) más 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.). El día 7 se retiró el DISP y se administró 150  $\mu$ g de Cloprostenol (Cptenol, Lab E. Capaul). El Día 8, se aplicó 1 mg de BE. El día 9, las vaquillonas fueron distribuidas al azar a 3 tratamientos a ser IATF (52 h post DISP) con semen de 2 toros: Toro A refrigerado (R) o congelado/descongelado (C) y Toro B (C). El Día 0, se realizó una ecografía (transductor 5 MHz, Chison VET500) para determinar la EO predominante (CL, Folículo  $\geq$  10 mm ó Folículo < 10 mm). El diagnóstico de gestación se realizó a los 29 días post IATF. Se evaluó el efecto raza, EO, semen utilizado y sus interacciones sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Se utilizó el Proc CATMOD del SAS (nivel de confianza: 95%;  $\alpha=0,05$ ). Tres vaquillonas perdieron el DISP y no fueron consideradas en el análisis de los datos. El 71,3% de las vaquillonas tuvieron un CL al día 0. No se observaron efectos de raza (AN: 46,7%; AC: 44,4%), semen, EO o sus interacciones sobre el porcentaje de preñez a la IATF ( $P>0,05$ , Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vaquillonas sincronizadas con un DISP según la estructura ovárica predominante al colocar el dispositivo y el semen utilizado.

Estructura ovárica	Semen*				Preñez
	Toro	NEMP	MP y V h0	MP y V h2	
Cuerpo lúteo (A)	A, R	57.400.00	80%, 5	70%, 4	53,8 (35/65)
	A, C	40.400.00	40%, 3	30%, 3	38,2 (26/68)
	B, C	8.750.000	50%, 3	35%, 3	42,0 (34/81)
Folículo $\geq$ 10 mm (B)	A, R				68,8 (11/16)
	A, C				50,0 (11/22)
	B, C				33,3 (9/27)
Folículo < 10 mm (C)	A, F				70,0 (7/10)
	A, C				75,0 (3/4)
	B, C				42,9 (3/7)
A+B+C	A, R				58,2 (53/91)
	A, C				42,6 (40/94)
	B, C				40,0 (46/115)

\*C: congelado/descongelado, R: Refrigerado, Tiempo extracción-IATF: 3 h; NEMP: Número de espermatozoides con motilidad progresiva. MP: Motilidad progresiva; V: vigor; h: hora.

Se concluye que, dentro del esquema utilizado, la estructura ovárica predominante al momento de comenzar un tratamiento de sincronización de celos sobre la base de un dispositivo intravaginal con progesterona y el tipo de semen no afecta la preñez que se obtiene luego de realizar una IATF.

**EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS CON CRÍA INSEMINADAS A TIEMPO FIJO y  
RESINCRONIZADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA O EL  
PROTOCOLO COWSYNCH®**

Vater<sup>1</sup>, A.; Ciancaglini<sup>2</sup>, L Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>, S.; Cabodevila<sup>3</sup>, J. y Callejas<sup>3</sup>, S.

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo ia total. Benito Juárez. Buenos Aires. Argentina. <sup>2</sup>Tesinista. Facultad Cs. Vet. UNCPBA. <sup>3</sup>Área de Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Campus Universitario.

Tandil. Buenos Aires. Argentina.

E mail: [callejas@vet.unicen.edu.ar](mailto:callejas@vet.unicen.edu.ar)

Con el objetivo de evaluar dos metodologías de resincronización de la ovulación para implementar una segunda Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF2), se utilizaron 143 vacas Angus negras, con cría (rango post parto: 40 a 81 días) y una condición corporal promedio ( $\pm$  DE) de 6,0 $\pm$ 0,7 (escala 1 a 9, 1: muy flaca; 9: obesa). El día 0, se les colocó un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP)(1 g, DIB, Syntex S.A.) más 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE, Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.); el día 7 se retiró el DISP y se administró 150  $\mu$ g de D (+) Cloprostenol (Ciclase, Syntex S.A.); el día 8 se inyectó 1 mg de BE. El día 9, se realizó una IATF1 (54-56 h post retiro DISP). El día 37 (28 días post IATF), los animales se distribuyeron aleatoriamente para recibir DISP de segundo uso (**Grupo DISP**) o 10  $\mu$ g de Buserelina (Receptal, Intervet) (**Grupo CowSynch®**). El día 44 (7 días posteriores al inicio del tratamiento de resincronización) se realizó una ecografía para determinar vacas preñadas de la IATF1 (Transductor transrectal de 5 MHz; Chison VET500). Las vacas vacías recibieron 150  $\mu$ g de D (+) Cloprostenol y 48 h posteriores se realizó una IATF2 más la inyección de 10  $\mu$ g de Buserelina. El día 58 ingresaron toros al rodeo (3% sobre el total de vacas vacías a la IATF1) durante 32 días. El día 98 (53 días post IATF2) se realizó una ecografía para determinar preñez de la IATF2 y mortalidad embrionaria y/o fetal de la IATF1. El día 120 (30 días de finalizado el servicio) se realizó una ecografía para diagnóstico de gestación del servicio natural. Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de preñez a la IATF1, a la IATF2, del servicio natural y final. Se utilizó el Proc CATMOD del SAS, fijando un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ). Ninguna de las variables evaluadas fue afectada por los tratamientos ( $P>0,05$ ; Tabla 1). No se observaron pérdidas embrionarias y/o fetales en los animales preñados en la IATF1.

**Tabla 1.** Porcentaje de preñez en vacas con cría resincronizadas con un dispositivo intravaginal con progesterona de segundo uso o con el protocolo CowSynch

Tratamientos	Preñez (%)			
	IATF1	IATF2	Servicio Natural	IATF1 + IATF 2 + Servicio Natural
<b>DISP</b>	53,9 (41/76)	51,4 (18/35)	70,6 (12/17)	93,4 (71/76)
<b>CowSynch®</b>	47,8 (32/67)	42,9 (15/35)	85,0 (17/20)	95,5 (64/67)
	P=0,46	P=0,47	P=0,30	P=0,59
<b>DISP+CowSynch®</b>	51,0 (73/143)	47,1 (33/70)	78,4 (29/37)	94,4 (135/143)

Se concluye que los dos métodos de resincronización evaluados (utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona de segundo uso o el protocolo CowSynch®) no modifican la eficiencia reproductiva del rodeo tratado.



## EVALUACION DEL USO DE DOS ESTERÉS DE ESTRADIOL SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD A LA IATF EN VACAS SECAS, TRATADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL CON PROGESTERONA.

Cesaroni, G, Butler, H.M, Durand, M.J.  
 M.V Sincrovac: Juncal 2092 3° Capital CP 1116 Argentina,  
 E mail : [info@sincrovac.com.ar](mailto:info@sincrovac.com.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar si la sal de cipionato de estradiol (ECP) incrementa la tasa de preñez a la IATF, respecto a la que se obtiene cuando se utiliza la de benzoato de estradiol (BE), en vacas para carne sin cría al pié. Cuatrocientas cincuenta y siete vacas sin cría pertenecientes a 3 establecimientos agropecuarios de la Prov. de Córdoba y La Pampa, ginecológicamente aptas y con un estado corporal de > 2,5 (escala 0 a 5) fueron tratadas durante 8 días con un dispositivo intravaginal (DIB o TRIUB), nuevo o usado, impregnado con progesterona natural. (Cuadro 1). Al inicio del tratamiento se aplicaron 2 mg de benzoato de estradiol (BE) a todas las hembras. Al momento del retiro (0hs) las hembras fueron asignadas al azar a dos tratamientos: T1: Se aplicó 1mg de BE (Syntex o Biogénesis) y Cloprostenol D (+) 500 µl (Ciclase ® Syntex). T2: Se aplicó 0,5 mg de Cipionato de estradiol ECP (Koning) y Cloprostenol D (+) 500 µl (Ciclase ® Syntex). La IATF fue realizada a las 48 horas de retirado el dispositivo por el mismo operador en cada trabajo, utilizando semen de un mismo toro. (Angus o Bonsmara Cuadro 1). El diagnóstico de gestación fue realizado por ultrasonografía (Aloka SSD 500, 5 Mhz) a los 40 días post IATF. Las tasas de preñez fueron comparadas por medio de la prueba de Chi cuadrado (Tabla 1). Este análisis se realizó trabajo por trabajo (comparando BE vs ECP), no se tomaron como réplicas. Se consideró significativa una diferencia superior al 5%, se trabajó con un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0,05$ ).

**Cuadro 1:** Dispositivos y semen utilizados en cada trabajo.

Semen	DIB NUEVO (1mg)	DIB NUEVO (0,5 mg)	TRIUB NUEVO (1mg)	TRIUB TERCER USO (Con camisas)
Bonsmara	Trabajo 1			
Bonsmara			Trabajo 2	
Bonsmara				Trabajo 3
Angus			Trabajo 4	
Angus				Trabajo 5
Angus		Trabajo 6		

**Tabla 1:** Tasa de preñez a la IATF según la sal de estradiol utilizada.

	Tasa de Preñez con BE	Tasa de Preñez con ECP	P
Trabajo 1	57,0% (24/42)	69,3% (30/43)	0,22
Trabajo 2	45,0% (18/40)	56,4% (22/39)	0,31
Trabajo 3	56,7% (21/37)	69,2% (27/39)	0,26
Trabajo 4	38,8% (14/36)	51,0% (19/37)	0,28
Trabajo 5	37,8% (14/37)	69,5% (16/23)	0,017
Trabajo 6	59,0% (25/42)	69,0% (29/42)	0,36

La aplicación de cipionato de estradiol al final de un tratamiento inductor de ovulación para implementar en programas de IATF, abre una excelente perspectiva de trabajo para mejorar la tasa de fertilidad. Es necesario realizar trabajos tendientes a corroborar lo observado aquí y aplicados en otras categorías de hembras.

## EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE eCG EN PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS EN LACTANCIA.

L. Mian, G.M. Brogliatti.

Actividad Privada Venado Tuerto- [mianl@arnet.com.ar](mailto:mianl@arnet.com.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de eCG en los protocolos de IATF en vacas en lactancia. Para ello se realizó un experimento para evaluar dos tipos de sincronización de la ovulación con dispositivos intravaginales DIB (1g de Progesterona; Syntex S.A., Argentina) en vacas lecheras inseminadas a tiempo fijo (IATF). El trabajo se realizó en un tambo comercial de 200 vacas en ordeño, los animales eran de raza Holstein y Holstein x Jersey. Dicho establecimiento posee servicios estacionados, con dos temporadas de servicio (otoño y primavera). Las vacas utilizadas se encontraban en promedio con  $132,2 \pm 88,9$  días posparto (rango de 43 a 351 días), produciendo en promedio  $21,83 \pm 5,1$  litros de leche por día (rango de 12 a 34 litros). En el día del inicio de tratamiento las vacas fueron sometidas a un examen ginecológico y se descartaron las vacas que se encontraban sin estructuras ováricas palpables, con pocos días posparto (<35 días) o con condición corporal  $\leq 2$  (escala 1 al 5). En el Día 0 los animales recibieron un DIB y 2 mg. de Benzoato de Estradiol (EB, Syntex., Argentina) intramuscular (im). En el Día 8, se retiraron los DIB, se aplicó 150 ug. de D(+) cloprostenol im (Ciclase, Syntex) y las vacas fueron divididas para recibir 400 UI im de eCG (Novormón 5000, Syntex, Argentina; GRUPO C/eCG) o no recibir eCG (GRUPO S/eCG). Todas las vacas recibieron 1mg de EB en el día 9 y fueron IATF a las 54 h de retirado el DIB. Se utilizó semen congelado de dos toros en todas las IATF de los dos grupos. Las características de días en leche ( $137,33 \pm 90,84$  vs  $121,61 \pm 77,97$ ), condición corporal ( $2,69 \pm 0,32$  vs  $2,72 \pm 0,28$ ) y litros de leche diario al momento de iniciar el trabajo ( $22,15 \pm 5,73$  vs  $21,53 \pm 4,34$ ) no fueron diferentes entre las vacas del GRUPO S/eCG y las del Grupo C/eCG, respectivamente). Los diagnósticos de preñez fueron realizados por ecografía (Aloka 500 con transductor lineal de 5 Mhz.) a los 35 días de la IATF. Los datos fueron analizados mediante regresión logística con el software Infostat. Los factores días en leche, condición corporal y producción de leche no afectaron los índices de preñez. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Efecto de la aplicación de eCG en protocolos de IATF en vacas en lactancia

Tratamiento	Preñadas	Vacías	Totales	% de preñez
<b>c/eCG</b>	21	25	46	45,60 <sup>a</sup>
<b>s/eCG</b>	8	27	35	22,80 <sup>b</sup>
<b>Total</b>	29	52	81	35,80

Superíndices diferentes en las columnas indican diferencia ( $P < 0,05$ )

El porcentaje de preñez fue mayor ( $P < 0,05$ ) en los animales que fueron tratados con eCG al momento de retirado el dispositivo. Estos resultados sugieren que la adición de 400 UI de eCG al tratamiento con dispositivos DIB y EB podría mejorar la tasa de preñez en vacas lecheras en lactancia. Este trabajo preliminar debería ampliarse con un mayor número de animales.



## EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA CIRCULANTE AO INÍCIO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO SOBRE A TAXA DE PREENHEZ À IATF EM NOVILHAS

D.M. de Azeredo, D.C. Rocha, A. Beskow, B.P.L. Petrucci, R. Costa Mattos  
e R. Macedo Gregory

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. Contato: Av. Bento Gonçalves, 9090 - CEP 91540-000, Porto Alegre-RS.  
ricardo.gregory@ufrgs.br

O presente trabalho objetivou verificar o efeito da concentração de progesterona presente na circulação no momento do início de um protocolo de sincronização da ovulação para um programa de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), sobre a taxa de prenhez em novilhas de corte. Foram utilizadas 44 novilhas Hereford, com 24-26 meses de idade, peso corporal mínimo de 320kg e escore de condição corporal (CC) médio de 3,45 (1-5), manejadas sobre pastagem de azevém e trevo branco, de uma propriedade localizada no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, Brasil. Coletaram-se amostras de sangue de todas as novilhas para dosagem de progesterona através da técnica de radioimunoensaio (RIA). Trinta minutos após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 5000 rpm durante 5 minutos, sendo recolhida a fração de soro e armazenadas à - 20°C, sendo estas a seguir encaminhadas ao laboratório para a realização das dosagens de progesterona. Neste mesmo dia, as novilhas receberam uma esponja intravaginal impregnada com 250mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP, Reprolab®, UFRGS) e uma aplicação de 2ml de benzoato de estradiol (BE, Reprolab®, UFRGS) intramuscular (i.m.). Sete dias após, os implantes foram retirados e aplicou-se uma dose de 2ml de prostaglandina (PGF, Sincrocio®, Ouro Fino) i.m.. Vinte e quatro horas após a remoção dos implantes, as novilhas receberam 1ml de BE i.m. e, entre as 52-56 horas da retirada das esponjas foram submetidas à IATF, utilizando-se doses de sêmen previamente avaliado quanto à capacidade fertilizante. Depois de realizadas as dosagens hormonais, as novilhas foram agrupadas conforme os resultados em novilhas com baixa concentração de progesterona circulante, ou seja, concentração abaixo de 1ng/ml (n = 19), e novilhas com alta concentração de progesterona circulante, cuja dosagem do hormônio era igual ou superior a 1ng/ml (n = 25). Passados 30 dias das inseminações foi realizado o diagnóstico de gestação por ultra-som. As taxas de prenhez obtidas entre os dois grupos foram comparadas através do método estatístico do Qui-quadrado, ao nível de 5% de significância (P<0,05). Não se observaram diferenças estatísticas entre as taxas de prenhez de ambos os grupos, que foram de 52,6% (10/19) para o grupo baixa concentração de progesterona e de 60% (15/25) para o grupo de alta concentração de progesterona circulante ao início do protocolo de sincronização. Os resultados permitem concluir que não há um efeito da concentração de progesterona circulante no momento em que se inicia um protocolo de sincronização para IATF, sobre a taxa de prenhez de novilhas de corte.

**EFEITO DA REDUÇÃO NA DOSE DE BENZOATO DE ESTRADIOL AO FINAL DE UM PROTOCOLO PARA IATF EM NOVILHAS DE CORTE**

D.C. Rocha, D.M. de Azeredo, A. Beskow, B.P.L. Petrucci, R. Costa Mattos  
e R. Macedo Gregory

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. Contato: Av. Bento Gonçalves, 9090 - CEP 91540-000, Porto Alegre-RS.  
ricardo.gregory@ufrgs.br

O presente trabalho objetivou verificar o efeito da utilização de uma dose reduzida de benzoato de estradiol (BE) ao final de um protocolo de sincronização da ovulação, para a inseminação artificial a tempo fixo (IATF), sobre a taxa de prenhez de novilhas de corte manejadas sobre pastagem de trevo branco. Foram utilizadas 191 novilhas Hereford, com 24-26 meses de idade, peso corporal mínimo de 320kg e escore de condição corporal (CC) médio de 3,45 (1-5), em uma propriedade localizada no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, Brasil. No Dia 0, todas as novilhas receberam uma esponja intravaginal impregnada com 250mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP, Reprolab®, UFRGS) e uma aplicação de 2ml de BE (Reprolab®, UFRGS) intramuscular (i.m.). Sete dias após, retiraram-se os implantes e aplicou-se uma dose de 2ml de prostaglandina (PGF, Sincrocio®, Ouro Fino) i.m.. Vinte e quatro horas após a remoção dos implantes, as novilhas foram divididas em dois grupos sendo que no primeiro grupo (n = 90), denominado ½ BE, as novilhas receberam 0,5ml de BE, e no segundo (n = 101), grupo 1 BE, as novilhas receberam 1ml de BE i.m., consistindo este último, como dose padrão utilizada em protocolos à base de MAP e BE. Entre as 52-56 horas da retirada das esponjas todas as novilhas foram submetidas à IATF, com sêmen previamente avaliado quanto à capacidade fertilizante. Passados 30 dias das inseminações foi realizado o diagnóstico de gestação por ultra-som. As taxas de prenhez obtidas foram comparadas entre si através do método estatístico do Qui-quadrado, ao nível de 5% de significância (P<0,05). Não se observaram diferenças entre as taxas de prenhez de ambos os grupos, que foram de 53,3% (48/90) para o grupo ½ BE e de 46,5% (47/101) para o grupo 1 BE. Os resultados permitem concluir que não há prejuízos em reduzir-se pela metade a dose de BE aplicada ao final do protocolo para IATF em novilhas de corte mantidas sobre pastagem de trevo, possibilitando com menor custo, obter-se taxas de prenhez satisfatórias.

## DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS A PRÁTICA DE DESMAME PRECOZE PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

R.L. Souza Neto, M.M. Dias, F.A. Velho, D.X. Thedy, D. Mendes, A. Barrera e J.B.S.Borges  
 Unidade de Reprodução de Bovinos  
 Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil

O objetivo deste experimento foi comparar as taxas de prenhez de vacas com cria ao pé após o desmame precoce dos terneiros associado ou não à sincronização de estros para IATF. Foram utilizadas 155 vacas Angus x Nelore, das quais 55% encontrava-se em aciclia, de acordo com o exame ultrasonográfico dos ovários no início do experimento. O intervalo parto-desmame precoce variou entre 90 e 120 dias e as vacas foram divididas em 2 grupos: **DPIA** (n= 55): vacas inseminadas a partir do 10º dia após o desmame precoce com observação de estro pelo período de 30 dias; **DPIATF** (n= 100) vacas tratadas com um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de Progesterona (CIDR-B, Pfizer, Brasil), por 8 dias, associado à aplicação de 2mg de Benzoato de estradiol (Estrogin, Farmavet, Brasil), im, no momento do desmame precoce, injeção de 75mcg de D (+) Cloprostenol (Veteglan, Calier, Brasil), im, na retirada do CIDR e 1mg de Benzoato de estradiol, im, 24 horas após. A inseminação artificial foi realizada entre 52 a 56 horas após a retirada do CIDR. O período de exposição aos touros foi de 60 dias para o grupo **DPIATF** e 30 dias para o grupo **DPIA**. Os diagnósticos de gestação foram realizados por ultrasonografia 30 dias após a IA e 45 dias depois da retirada dos touros por palpação retal. O escore de condição corporal (escala de 1-5) foi avaliado no início do experimento e ao final do entoure. As taxas de prenhez foram comparadas por qui-quadrado.

**Tabela 1-** Desempenho reprodutivo de vacas de corte submetidas ao desmame precoce inseminadas com a detecção de estros ou a tempo fixo.

	<b>DPIA</b> (n= 55)	<b>DPIATF</b> (n= 100)
Escore de condição corporal inicial	2,5±0,3	2,5±0,3
Escore de condição corporal final	3,8±0,3	3,9±0,3
Taxa de prenhez 1º dia serviço (%)	0/55 (0) <sup>a</sup>	48/100 (48) <sup>b</sup>
Taxa de prenhez 30 dias (%)	31/55 (56) <sup>a</sup>	48/100 (48) <sup>a</sup>
Taxa de prenhez final (%)	41/53 (77) <sup>a</sup>	78/100 (78) <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Percentuais seguidos de superíndices diferentes apresentam significância (P<0,05)

A taxa de prenhez das vacas que foram inseminadas a tempo fixo (**DPIATF**) não diferiu (P>0,05) da alcançada pelas fêmeas inseminadas de acordo com a detecção de estros (**DPIA**) aos 30 dias. No entanto, o uso da IATF reduziu o manejo e a mão-de-obra com a detecção de estros, permitindo a concepção de 48% das fêmeas no primeiro dia de serviço. Ao final do período reprodutivo, as taxas de prenhez também não diferiram estatisticamente entre os grupos. A prática do desmame precoce em rebanhos com baixos escores de condição corporal e altos índices de aciclia no início do período reprodutivo pode ser recomendada para melhor o desempenho reprodutivo de vacas com cria ao pé.

## EFFECTOS DE LA SINCRONIZACIÓN CON PROGESTERONA SOBRE LA PERFORMANCE REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS DE ALTA PRODUCCIÓN

Diego Ibarra<sup>1,2</sup>, Leonardo Prieto<sup>3</sup>, Jorge Pimienta<sup>3</sup>, Andrés Coronel<sup>3</sup>, Nicolás Costa<sup>3</sup>, Mario Alvarez<sup>4</sup> y Sergio Kmaid<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa Posgrado, <sup>3</sup>Estudiantes, Facultad de Veterinaria, UdelaR, URUGUAY., <sup>2</sup> CONAPROLE, <sup>4</sup>Asesor Privado <sup>5</sup>Universal Lab.  
dibarra@adinet.com.uy

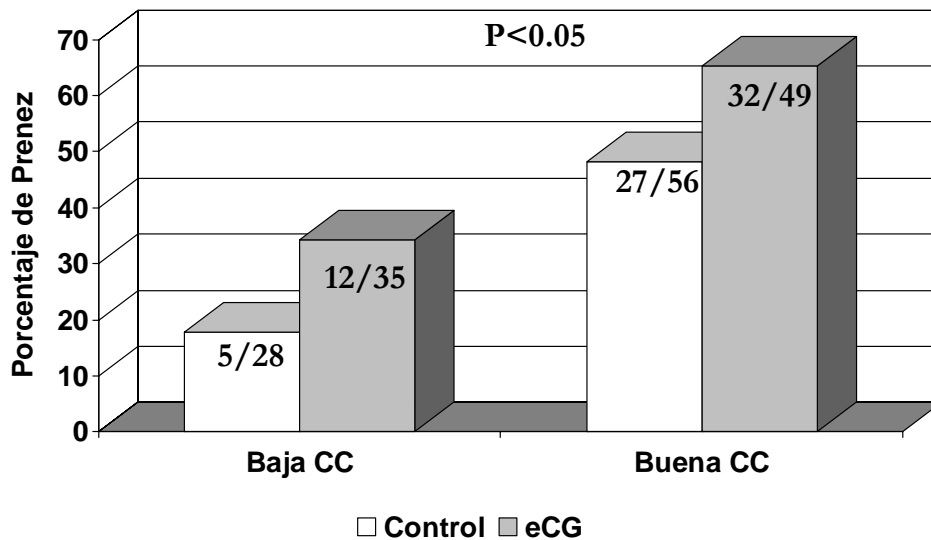
La eficiencia reproductiva de los rodeos lecheros en el Uruguay está fuertemente afectada por el reinicio de la ciclicidad, especialmente con niveles altos de producción de leche. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar un tratamiento de sincronización e IA a celo visto basado en progesterona sobre la performance reproductiva y productiva en vacas lecheras de alta producción. Se trabajó sobre 264 vacas Holstein primíparas y multíparas pertenecientes a un tambo comercial, con  $87.1 \pm 31.6$  DEL, CC:  $2.51 \pm 0.28$  y  $24.0 \pm 5.3$  (media  $\pm$  DE) lt día<sup>-1</sup> las que fueron asignadas en un diseño de bloques homogéneos según CC y estado reproductivo. Al inicio del experimento se determinó el estado reproductivo mediante ultrasonografía. 225 vacas (Grupo T) fueron tratadas durante 8 días con CIDR (1.39 g de progesterona, CIDR, Universal Lab, Uruguay) y 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina) im al insertarlo. Al retirar el CIDR recibieron 800 µg de delprotenate (Glandinex, Universal Lab, Uruguay). A las 24 hs del retiro del dispositivo recibieron 1 mg de BE. La IA se realizó a partir de este momento 12 hs luego de realizada la detección, realizándose la detección de celo durante las 24 hs en los primeros 4 días. Luego de este servicio los animales se repasaron mediante IA con detección de celo 2 veces por día. 39 vacas fueron asignadas al grupo control (Grupo C) a las cuales se les detectaba celo 2 veces por día y eran inseminadas en sus servicios naturales. Los resultados fueron analizados mediante análisis de regresión logística, considerando el efecto de CC, nivel de producción, lactancia y estado reproductivo. La retención a 1º servicio no fue diferente entre grupos (Grupo T: 39.6% 89/136; Grupo C: 33.3 % 13/39, P>0.05). Si bien la preñez final no fue diferente (P>0.05), las vacas sincronizadas se preñaron antes, medida como % de vacas preñadas a 100 d posparto (29.9% 68/227 vs 7.9% 3/38, P <0.05) o como IPC (136.6 vs 172.2 días; P <0.01). El IPC estuvo influenciado por el nivel de producción al inicio del experimento siendo mayor en las vacas con menos de 20 lts de leche día<sup>-1</sup> (P<0.05). Los animales sincronizados tuvieron un menor largo de lactancia (312.7 vs 342.3 días, P<0.05) pero además tendieron a una mayor producción individual (19.3 vs 18.9, P<0.1). Estos resultados confirman que este tratamiento de sincronización mejora los indicadores reproductivos y con ello acorta el largo de la lactancia, permitiendo una mayor producción diaria de leche a lo largo de la misma

\*: Financiación: FPTA 155 BID-INIA-CONAPROLE y Universal Lab

**ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA EN UN PROTOCOLO DE INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN VACAS DE CRIA**

L. Zapata<sup>1</sup>, R. Picco<sup>2</sup>, J. Franco<sup>2</sup>, P. Spada<sup>2</sup>, J. Bartolome<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam; <sup>2</sup>Actividad Privada

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración de gonadotropina coriónica equina en un protocolo de inseminación a tiempo fijo (IATF) en vacas con diferente condición corporal. Se utilizó un rodeo de cría en la región Noroeste de la provincia de La Pampa, con servicio estacionado en 75 días durante los meses de Noviembre, Diciembre y mitad de Enero. Un total de 168 vacas con cría al pie (30 a 75 días postparto) fueron distribuidas al azar en dos grupos experimentales. El Grupo eCG (n= 84) recibió un dispositivo de progesterona (DIB, Syntex) y 2 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex) el Día 0, retiro del dispositivo, una dosis luteolítica de prostaglandina (Ciclasa, Syntex) y 500 UI de eCG (Novormon, Syntex) el Día 7, 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex) el Día 8 e IATF 36 horas mas tarde. EL grupo Control (n=84) recibió el mismo tratamiento sin recibir eCG el Día 7. La condición corporal (CC) fue evaluada de 0 a 5 y las vacas clasificadas con baja (<2.5) y buena CC (>2.5). Los toros ingresaron al servicio 15 días post inseminación y permanecieron por 60 días . Los resultados de preñez fueron evaluados por palpación rectal a los 45 días de la IATF. El efecto del grupo sobre el porcentaje de preñez fue evaluado por regresión logística ajustando por condición corporal utilizando PROC LOGISTIC del sistema SAS. En el Gráfico se describen los porcentajes de preñez para los grupos experimentales y la condición corporal.



**Porcentaje de preñez total= 45%**

En las condiciones del presente experimento utilizando un protocolo de IATF se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en vacas con buena condición corporal que en vacas con baja condición corporal y la administración de eCG incremento el porcentaje de preñez tanto en vacas con baja como en buena condición corporal.

## LA INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO UTILIZANDO PROGESTERONA Y BE + eCG Y GNRH MEJORA LA PERFORMANCE REPRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS EN ANESTRO

D. Ibarra<sup>1,2</sup>, A. Menchaca<sup>3,4</sup>, A. Arrambide<sup>5</sup>, L. Casas<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa Posgrado, <sup>3</sup>Dpto de Fisiología, <sup>5</sup>Estudiantes, Facultad de Veterinaria, UdelaR, URUGUAY;

<sup>2</sup>CONAPROLE; <sup>4</sup>Asesor Privado Syntex SA.

dibarra@adinet.com.uy

La eficiencia reproductiva de los rodeos lecheros en Uruguay está fuertemente afectada por el reinicio de la ciclicidad, con una incidencia importante de anestros posparto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar un tratamiento de sincronización para IATF en vacas lecheras en anestro utilizando progesterona y estradiol asociado a eCG y GnRH. Se trabajó sobre 255 vacas Holando primíparas y multíparas pertenecientes a 5 tambos comerciales que luego de 21 días en servicio no habían presentado estro, con  $71,7 \pm 45,0$  días en lactancia (DEL),  $2,5 \pm 0,30$  de condición corporal (CC, escala 1 a 5) y  $18,8 \pm 4,3$  lt de producción diaria (media  $\pm$  DE). Al inicio del experimento se determinó el estado ovárico mediante una ultrasonografía (5,0 MHz, Aloka, Japón) confirmándose un 76.0% de anestro. Las vacas fueron asignadas a dos grupos experimentales en un diseño de bloques homogéneos por CC y estado ovárico. Un grupo (Grupo IATF, n= 208) fue tratado durante 8 días con DIB (1 g de progesterona, Syntex, Argentina) y 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina) im al insertar el dispositivo. Al retirar el DIB recibieron 400 UI de eCG (im, Novormon, Syntex, Argentina) y 150  $\mu$ g de D-cloprostenoil (Ciclase, Syntex, Argentina). A las 48 hs del retiro del dispositivo se administró un análogo de GnRH (50  $\mu$ g de lecirelina, Gonasyn, Syntex, Argentina) y la IATF se realizó a las 52-56 hs. Luego de este servicio los animales ingresaron al servicio tradicional con detección de celo dos veces por día e inseminación AM-PM. Otro grupo de vacas no recibió tratamiento (Grupo Control, n= 47) y se mantuvieron con el manejo tradicional durante todo el periodo de servicios. Los resultados fueron analizados mediante regresión logística, considerando el efecto de CC y estado reproductivo. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Performance reproductiva en vacas lecheras incorporadas a un programa de IATF con progesterona y BE + eCG y GnRH comparado con un servicio tradicional de detección de celo e IA.

	Retención 1er Serv. (%)	Vacas servidas 80 DEL (%)	Tasa de Preñez (%)
<b>Grupo IATF</b>	81/194 (41,8%)	138/208 (66,4%)	111/225 (49,3%)
<b>Grupo Control</b>	22/40 (54,6%)	19/47 (40,9%)	9/29 (30,3%)
<b>Razón Riesgo CC</b>	1,39	0,853	2,52
<b>Razón Riesgo Estado reproductivo</b>	2,05	1,10	1,62
<b>P&lt;</b>	NS	0,001	0,1

Estos resultados sugieren que la sincronización e IATF utilizando progesterona, BE, eCG y GnRH puede ser una alternativa para mejorar la performance reproductiva en vacas en anestro.

Financiación: FPTA 155 BID-INIA-CONAPROLE.

**EFFECTO DEL MOMENTO DE LA APLICACION DE PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$  Y DE LA DOSIS DE PROGESTERONA CONTENIDA EN UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VAQUILLONAS CRUZA *Bos indicus* INSEMINADAS A TIEMPO FIJO**

G.A. Bó<sup>1</sup>, I. Reano<sup>1</sup>, P. Chesta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
J.L. de Cabrera 110, X5000GVD, Córdoba, Argentina.  
[gabrielbo@iracbiogen.com.ar](mailto:gabrielbo@iracbiogen.com.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de una media dosis de PGF $_{2\alpha}$  en el momento de inserción y remoción de un dispositivo intravaginal con P4 con la aplicación de una dosis única y completa en el momento de remoción del dispositivo. Por otro lado se comparó el uso de Cue Mate (Bioniche AH, Canadá) utilizando 1 o 2 camisas con 0,78 g de P4 cada una. Se utilizaron 300 vaquillonas cruce cebú de entre 20 y 26 meses de edad y con una CC de entre 2,5 y 3,5 (Escala 1-5). En el Día 0, todas las vaquillonas fueron examinadas por ultrasonografía transrectal y fueron utilizadas sólo las que presentaron un cuerpo lúteo y cuernos uterinos de un diámetro mayor a 2 cm. Las vaquillonas fueron asignadas a 1 de 4 grupos de tratamientos en un diseño 2x2 factorial. En el Día 0, todas las vaquillonas recibieron 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Biotay, Argentina) i.m y fueron divididas para recibir un Cue Mate con 2 camisas con 0,78g de P4 cada una (total de P4=1,56g) o un Cue Mate con una camisa de 0,78g y una camisa sin P4 (total de P4=0,78g) Las vaquillonas de cada grupo fueron a su vez subdivididas para recibir 75  $\mu$ g de D(+) cloprostenol (Bioprost, Biotay, Argentina) en el momento de insertado el Cue Mate y nuevamente en el momento del retiro (Día 8) o una dosis simple de 150  $\mu$ g de D(+) cloprostenol en el Día 8. Todas las vaquillonas recibieron 1 mg de EB en el Día 9 y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Los datos de preñez fueron analizados por regresión logística para evaluar efecto tratamiento, CC, semen e inseminador. No hubo efecto semen (P=0,35) o inseminador (P=0,48). No hubo efecto del número de camisas utilizadas (P=0,15) o del momento de aplicada la PGF (P=0,83). Sin embargo la preñez fue menor cuando se utilizó un Cue Mate con una sola camisa y PGF en el Día 0 y 8 del tratamiento (P<0,05; Tabla 1)

**Tabla 1.** Tasas de preñez en vaquillonas cruce cebú tratadas con Cue Mate con 1 ó 2 camisas impregnadas con P4 e inseminadas a tiempo fijo.

Dispositivo Cue-Mate	PGF	Tasa de Preñez
1 Camisa	Día 8	50,0 % (34/68) ab
1 Camisa	Día 0 & 8	39,2 % (29/74) a
2 Camisa	Día 8	50,7 % (36/71) ab
2 Camisa	Días 0 & 8	56,3 % (40/71) b
<b>Efecto Principal</b>		
1 Camisa		45,0 % (64/142) a
2 Camisa		53,5 % (76/142) a
	Día 8	51,0 % (71/139) a
	Días 0 & 8	47,6 % (69/145) a

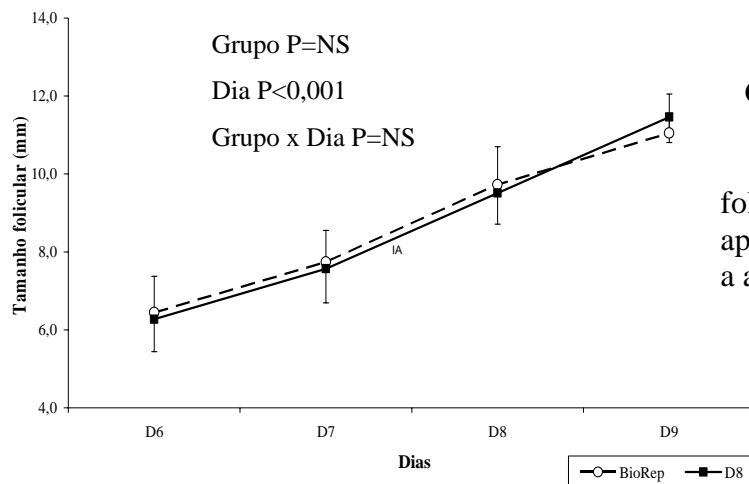
<sup>ab</sup> Tasas de preñez difieren (P<0,05).

Concluimos que el uso de Cue Mate con una dosis de 0,78 g de P4 combinado con media dosis de PGF en los días 0 y 8 disminuye los porcentajes de preñez en vaquillonas cruce cebú inseminadas a tiempo fijo.

## RESPOSTA DO FOLÍCULO DOMINANTE A APLICAÇÃO PRÉVIA DE eCG E DESMAME TEMPORÁRIO COM DISTINTOS TEMPOS DE EXPOSIÇÃO AO PROGESTÁGENO

L.F. Borges, R. Ferreira, M. Barreta, G. Zamberlam, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves  
Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal (BioRep),  
Universidade Federal de Santa Maria/RS/Brasil. e-mail: bayard@biorep.ufsm.br

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento do folículo dominante e a resposta ovulatória após a aplicação de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e desmame temporário, com distintos tempos de exposição ao progestágeno. A finalidade foi proporcionar um crescimento do folículo dominante tornando-o responsivo ao GnRH. Foram utilizadas 14 vacas hereford, amamentando em condição corporal 3 (escala 1-5). As vacas receberam 5mg de benzoato de estradiol (BE) intramuscular (I.M.) e um pessário vaginal contendo 250mg de MAP (acetato de medroxiprogesterona; dia 0). No dia 6, os animais receberam 125µg de Cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ourofino, Brasil) na submucosa vulvar, 400UI de eCG (Prógon®, Diprost, Uruguai) I.M. e um desmame temporário por 96 horas. Neste momento os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos: nos animais do Grupo BioRep (n=7), retirou-se o pessário vaginal no dia 7, já nos animais do Grupo D8 (n=7) retirou-se o pessário vaginal no dia 8. No dia 9 aplicou-se em todos os animais 100µg de gonadorelina (GnRH, Profertil®, Tortuga, Brasil) I.M. e foram inseminados em tempo fixo 16h após. Após a aplicação de eCG foi realizado um monitoramento do crescimento folicular por ultra-sonografia transrectal (Pie-Medical Scanner 200®, sonda linear de 8MHz) a cada 24h desde o dia 6 até o dia 9. Objetivando a taxa de ovulação foram realizados dois exames, nas 24h e 36h após a aplicação de GnRH. Os folículos foram desenhados, identificando o folículo dominante e facilitando as avaliações nos dias consecutivos. O diâmetro folicular foi comparado utilizando um modelo de análise para dados repetidos (PROC MIXED; SAS®) sendo os efeitos principais grupo e dia, assim como a interação grupo x dia. A diferença do diâmetro folicular entre os grupos em determinado dia foi comparada pelo “estimate statement”, também no SAS®. No dia 9 o folículo dominante do Grupo BioRep mediu  $11,1 \pm 0,99$ mm e o do Grupo D8  $11,5 \pm 0,65$ mm. Não houve diferença estatística entre os grupos, tampouco diferiu a interação grupo x dia, somente foi significativo o aumento no tamanho folicular entre os dias ( $P < 0,001$ ; gráfico 1). A taxa de ovulação foi de 100% nos grupos estudados.



**Gráfico 1:**

Tamanho folicular do folículo dominante desde a aplicação do eCG (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9).

Mantendo a exposição ao MAP por 7 ou 8 dias o crescimento do folículo dominante não é alterado, atingindo tamanho folicular responsivo ao GnRH, em vacas de corte amamentando que receberam previamente eCG e desmame temporário.



## COMPARACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN E INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN CON EXCESO DE DÍAS VACÍOS

M. Duchens<sup>1</sup>, P. Meléndez<sup>2</sup>, L. Moraga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile;

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainesville, Florida, EEUU.

[mduchens@uchile.cl](mailto:mduchens@uchile.cl)

En vacas lecheras, la alta producción y el manejo intensivo se asocian a un deterioro en la fertilidad. Se dificulta la detección de celo y se prolonga el intervalo parto-preñez. Como alternativa se utilizan diferentes programas para sincronizar el celo y/o la ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Generalmente su uso es inmediatamente finalizado el periodo de espera voluntario, pero también pueden ser una alternativa en vacas con anestro prolongado o que se encuentran vacías al diagnóstico de gestación. El presente estudio tuvo como objetivo determinar y comparar la tasa de concepción entre dos protocolos de sincronización de la ovulación e IATF en vacas lecheras con un exceso de días vacíos. El estudio se realizó en una lechería de la Región de Valparaíso, Chile, con aproximadamente 700 vacas en ordeño y una producción de 10735 lt por lactancia (madurez equivalente). A vacas con un exceso de días vacíos (mediana 166 días) se les aplicó un implante intravaginal de 1,38 g de progesterona (Eazi breed, Pfizer) que se retiró 7 días más tarde, momento en que se les aplicó 25 mg de dinoprost trometamina (5 mL Lutalyse, Pfizer). Las vacas se asignaron a dos tratamientos: Un grupo (EB-ECP; n=177) recibió al momento del implante y 24 horas después del retiro, 1 mg de cipionato de estradiol (0,5 mL ECP, Pfizer) y se inseminaron 30 horas después. En el segundo grupo (EB-GnRH; n=137) recibieron al momento del implante y 48 horas después del retiro 0,02 mg de buserelina (5 mL Conceptal, Intervet) y se inseminaron 12 horas después. Se determinó la gestación a través de ultrasonografía transrectal 30 a 36 días después de la inseminación. La tasa de concepción con ambos protocolos se comparó a través de regresión logística multivariable, utilizando el programa estadístico SAS. Se consideraron los efectos de número de la lactancia, producción de leche acumulada a los 100 días y días en leche al inicio del tratamiento. En vacas primíparas, corrigiendo por producción de leche y días en leche al inicio del tratamiento, la tasa de concepción del grupo EB-ECP (34%) no fue diferente ( $p=0,9$ ) a la del grupo EB-GnRH (35,7%). En vacas múltiparas, la tasa de concepción en el grupo EB-GnRH (35,8%) fue significativamente superior ( $p<0,01$ ) a la del grupo EB-ECP (19,2%). Esto significa, que corrigiendo por producción de leche y días en leche al inicio del tratamiento, el riesgo de preñez para el grupo EB-ECP fue de 0,43 veces el riesgo de preñez para el grupo EB-GnRH. En vacas de primera lactancia ambos tratamientos fueron igualmente efectivos, lo que puede atribuirse a un menor stress productivo (3021 lt en los primeros 100 días) y consecuentemente una mejor fertilidad general (34,4% de concepción para ambos tratamientos). En cambio vacas de segunda o más lactancias sufren mayor stress debido a su mayor producción de leche (3855 lt en los primeros 100 días) sumado a una menor condición corporal, mayor incidencia de enfermedades del postparto, mastitis, cojeras y otras. En esta población, de menor fertilidad general (26,2 % de concepción para ambos tratamientos) y mayor stress productivo, el tratamiento con EB-GnRH fue más efectivo que el tratamiento EB-ECP.

## TASA DE PREÑEZ CON DIFERENTES DOSIS DE GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS *Bos indicus* EN EL PERÍODO POST PARTO.

J.M. Quezada<sup>1</sup>, J.J. Ortiz,<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Actividad privada TECNOGENÉTICA, Reproducción Bovina.

<sup>2</sup> Catedrático F.C.V. Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz, Bolivia

El objetivo del presente experimento fue evaluar la tasa de preñez en Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) con 3 diferentes dosis de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en vacas Nelore con ternero al pie. Se utilizaron vacas, con 37 – 57 días post parto, con una condición corporal entre 2.0 a 2.7 en la escala del 1-5, mantenidas a pasto en la provincia Guarayos del departamento de Santa Cruz, Bolivia, en noviembre del 2005. En el día 0, se realizó la palpación rectal y se seleccionaron 162 vacas con ovario con folículo palpable >8 mm. Todas las vacas recibieron un dispositivo intravaginal de progesterona (DIB®, 1,0g de P<sub>4</sub>, Syntex) asociado a la administración de 2 mg. de Benzoato de Estradiol (BE, Benzoato de Estradiol®, Syntex I.M.). En el día 8, los terneros fueron separados hasta la IATF, el DIB fue removido y se administró un análogo de la prostaglandina F 2 $\alpha$  (D (+) Cloprostenol, Cicloprost®, Pharmavet I.M.). A partir de este momento las vacas fueron divididas al azar en 4 grupos: 56 vacas no recibieron eCG (Grupo Control), 50 vacas (Grupo 200) recibieron 200 U.I. de eCG I.M. (Novormon®, Syntex), 32 vacas (Grupo 300) recibieron 300 U.I. de eCG I.M. y 24 vacas (Grupo 400) recibieron 400 U.I. de eCG I.M. El día 9 todas recibieron 1 mg. de BE y el día 10 fueron inseminadas a tiempo fijo entre las 52 y 56 horas de retirado el dispositivo. Los resultados se encuentran resumidos en el siguiente cuadro.

**Cuadro 1.** Tasa de preñez en vacas Nelore inseminadas a tiempo fijo con diferentes dosis de eCG.

GRUPO	PREÑADAS/INSEMINADAS	% DE PREÑEZ
GRUPO CONTROL.	26/56	46,4 <sup>a</sup>
GRUPO 200 U.I.	34/50	68,0 <sup>b</sup>
GRUPO 300 U.I.	14/32	43,7 <sup>a</sup>
GRUPO 400 U.I.	16/24	66,6 <sup>b</sup>
<i>TOTAL</i>	<b>90/162</b>	55,5

a,b P < 0,05

Se concluye que, en vacas Nelore con ternero al pie, la dosis de 200 UI de eCG es igual de efectiva que la de 400 UI de eCG y ambas son superiores al grupo control y a la dosis de 300 UI de eCG, No obstante, teniendo en cuenta que los resultados obtenidos son contradictorios, esta información preliminar debe ser corroborada en futuros experimentos que involucren un mayor número de animales.

## CIPIONATO DE ESTRADIOL vs. BENZOATO DE ESTRADIOL EN LA SINCRONIZACION DE CELO EN VACAS Y VAQUILLAS ANELORADAS

L.F. Isnado<sup>1</sup>, L.M. Quezada<sup>3</sup>, J.J. Ortiz,<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de la F.C.V., Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz, Bolivia. <sup>2</sup>F.C.V., Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz, Bolivia.

<sup>3</sup>Actividad privada “Tecnogenética” Reproducción Bovina

El objetivo del trabajo fue determinar si aplicando cipionato de estradiol (ECP, Syntex, Argentina) en el día del retiro de un dispositivo intravaginal con progesterona (P<sub>4</sub>), se pueden obtener tasas de preñez similares a las obtenidas aplicando benzoato de estradiol (BE, Syntex, Argentina) a las 24 horas post retiro del dispositivo. El experimento se realizó entre los meses de febrero y marzo del 2006 en la estancia San Martín ubicada en las cercanías de Pozo del Tigre (provincia Chiquitos, Santa Cruz, Bolivia). El trabajo se efectuó en 100 vientres cebú (brahman/nelore), 50 vacas con ternero al pie, con una condición corporal de 3 (rango: 2.8 a 3.3) en la escala del 1-5 y con una media de 56,2 días (rango: 50 a 80 días) post parto y 50 vaquillas con una condición corporal de 3, con 2 años de edad y un peso vivo promedio de 350 Kg (rango: 320 a 375 kg). Cabe aclarar que estas 2 categorías de animales recibieron el mismo manejo. Los animales fueron divididos en 4 grupos completamente al azar, el grupo 1: 25 vacas con BE, el grupo 2: 25 vacas con ECP, el grupo 3: 25 vaquillas con BE, el grupo 4: 25 vaquillas con ECP. Los cuatro grupos recibieron el mismo tratamiento desde el día 0 al día 8; en el día 0, se les administró un CIDR de segundo uso (Pfizer, Animal Health, New Zealand) + 2 mg de BE (Syntex, Argentina), en el día 8 se realizó el retiro del dispositivo y se inyectó 150 µg de D (+) Cloprostenol (Cicloprost®, Pharmavet, Argentina). En este momento, los grupos 2 y 4 recibieron 0,5 mg de ECP (Syntex, Argentina), mientras que los grupos 1 y 3 recibieron 1 mg de BE en el día 9. La IATF se realizó el día 10 entre las 52 y 56 horas de retirado el dispositivo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante comparación de proporciones y son los siguientes:

**Cuadro 1.** Tasa de preñez en vacas y vaquillas cebu con BE vs ECP

GRUPO	IA	PREÑEZ	%
1 (Vaca BE)	25	12	48.00 <sup>a</sup>
2 (Vaca ECP)	25	10	40.00 <sup>a</sup>
3 (Vaquilla BE)	25	9	36.00 <sup>a</sup>
4 (Vaquilla ECP)	25	10	40.00 <sup>a</sup>

P > 0,05

Se concluye que utilizando ECP al momento de retirar el dispositivo con progesterona, se obtiene porcentajes de preñez equivalentes a los logrados cuando se inyecta el BE a las 24 horas después en IATF, logrando así reducir un día de manejo.

**EFFECTO DE LA UTILIZACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL O DE GnRH Y DE LA APLICACION ANTICIPADA DE PGF EN VAQUILLONAS BRANGUS TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF**

L. Cutaia<sup>1,2</sup>, M. Ramos<sup>1</sup>, F. Castilla<sup>3</sup>, G.A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>2</sup>Syntex SA  
J.L. de Cabrera 110, X5000GVD, Córdoba, Argentina.

[lcutaia@iracbiogen.com.ar](mailto:lcutaia@iracbiogen.com.ar)

Se diseñó un Experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la utilización de benzoato de estradiol (EB) o de GnRH como inductor de ovulación sobre los porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus inseminadas a tiempo fijo. Un objetivo secundario fue evaluar el efecto de la aplicación de una dosis de 250ug de Cloprostenol en el momento de iniciado el protocolo de sincronización de celos. Se utilizaron 313 vaquillonas Brangus cíclicas de entre 18 y 24 meses de edad con una CC de  $3\pm 0,5$  (Escala 1 a 5). El experimento se realizó en un establecimiento de la localidad de Las Lajitas, Salta, Argentina. Todos los animales recibieron en el Día 0 del tratamiento un dispositivo intravaginal con progesterona (P4) de segundo uso (DIB 1g P4, Syntex Argentina) junto con 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex). En ese momento las vaquillonas fueron asignadas a uno de cuatro grupos de tratamiento en un diseño 2x2 factorial. Las vaquillonas del Grupo PGF Día 8 no recibieron ningún tratamiento adicional en ese día y una dosis de 500 µg de Cloprostenol (Ciclase DL, Syntex) en el Día 8, momento en el que se retiraron los DIB. Las del Grupo PGF Día 0 y 8 recibieron una dosis de 250 µg de Cloprostenol junto con el DIB y una segunda dosis igual a la anterior en el momento de retirado el DIB (Día 8). A su vez cada grupo fue subdividido en dos para recibir una dosis de 50 µg de Lecirelina (Gonasyn, Syntex) a las 48 de retirados los DIB o una dosis de 1 mg de EB (Syntex) a las 24 h de retirados los dispositivos. Todas las vaquillonas fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Se realizó ultrasonografía transrectal (Chison VET 500, 5 Mhz.) a los 35 días pos IATF para el diagnóstico de preñez. Las proporciones fueron comparadas por Chi cuadrado. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez en vaquillonas tratadas con PGF Día 0 o PGF Día 0 y 8 ( $P>0,1$ ; Tabla 1). Tampoco se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez de las vaquillonas tratadas con EB o GnRH como inductor de ovulación ( $P>0,1$ ; Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus IATF tratadas con PGF en diferentes momentos del tratamiento y con EB o GnRH como inductor de la ovulación.

	Total	Preñadas	%
<b>PGF Día 0 y 8</b>	158	72	45,6%
<b>PGF Día 8</b>	155	76	49,0%
<b>EB</b>	152	72	47,4%
<b>GnRH</b>	161	76	47,2%

( $P>0,05$ )

Concluimos que la adición de una dosis de 250ug de Cloprostenol en el momento de iniciado el protocolo de sincronización no modifica los resultados de preñez. Por otro lado, la utilización de GnRH como inductor de la ovulación no mejora los resultados de preñez en vaquillonas Brangus IATF. Teniendo en cuenta que la información aquí presentada se contrapone con otra generada previamente (Cutaia et al., 2006), resulta necesario profundizar la investigación es este tema.

## EFECTO DE LA UTILIZACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL O DE GnRH Y DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF EN VACAS HOLANDO EN LACTANCIA

A. Vater<sup>1</sup>, A. Rodríguez Aguilar<sup>1</sup>; A. Cifuentes<sup>4</sup>, L. Cutaia<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Asesores Privados. Grupo IA Total. Benito Juarez. Bs. As.. <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>3</sup>Syntex SA <sup>4</sup> Asesor Privado  
Av Constitución 371. Benito Juarez, Bs AS. [adrianvater@arnet.com.ar](mailto:adrianvater@arnet.com.ar)

Se diseñó un Experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la utilización de benzoato de estradiol (EB) o de GnRH como inductores de la ovulación sobre los porcentajes de preñez en vacas Holando inseminadas a tiempo fijo. Un objetivo secundario fue evaluar el efecto de la utilización de dispositivos intravaginales con diferentes dosis de P4. El experimento se realizó en un establecimiento de la localidad de Tandil. Se utilizaron 188 vacas con una CC promedio de  $2,06 \pm 0,19$  (Escala 1-5). Las vacas promediaban  $2,28 \pm 1,37$  lactancias y  $100,2 \pm 48,4$  días en leche. Todos los animales recibieron en el Día 0 del tratamiento un dispositivo intravaginal con progesterona (P4) con una dosis de 1g (DIB 1g P4, Syntex Argentina) o 0,5 g (DIB 0,5g P4, Syntex) junto con 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex). Los dispositivos fueron retirados 8 días más tarde y recibieron 500 µg de Cloprostenol (Ciclase DL, Syntex) en ese mismo día. En ese momento las vacas fueron asignadas a uno de dos grupos de tratamiento para recibir 1 mg de EB 24 h mas tarde (Grupo EB) o 50 µg de Lecirelina (Gonasyn, Syntex; Grupo GnRH) a las 48 h de retirado el DIB. Todas las vacas fueron IATF entre las 58 y 62 h de retirados los dispositivos. Se realizó ultrasonografía transrectal (Chison500 Vet, transductor 5 mhz) a los 35 días pos IATF para el diagnóstico de preñez. Los porcentajes de preñez fueron comparados por regresión logística, teniendo en cuenta factores como progestageno utilizado, inductor de ovulación. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez en vacas tratadas con DIB 1g o DIB 0,5g ( $P > 0,1$ ; Tabla 1). Tampoco se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez de las vacas tratadas con EB o GnRH como inductores de la ovulación ( $P > 0,1$ ; Tabla 1) ni una interacción entre grupos, es por esto que en la Tabla 1 se indican los resultados por efectos principales.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vacas Holando IATF tratadas con DIB 1 o 0,5 g y con EB o GnRH como inductores de la ovulación.

	TOTAL	Preñadas	%
<b>EB</b>	97	38	39,2%
<b>GnRH</b>	91	40	44,0%
<b>DIB 0,5</b>	99	38	38,4%
<b>DIB 1,0 g</b>	89	40	44,9%

( $P > 0,1$ )

Concluimos que mediante la utilización de DIB con una dosis de 1 o 0,5 g de P4 se obtienen similares porcentajes de preñez en vacas Holando en lactancia IATF. Por otro lado, la utilización de GnRH como inductor de la ovulación no afecta los porcentajes de preñez en vacas de esta categoría IATF.

## EFEITO DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO PROGESTÁGENO COM APLICAÇÃO PRÉVIA DE eCG E DESMAME TEMPORÁRIO EM VACAS PÓS-PARTO

L.F. Borges, R. Ferreira, L. Siqueira, J. W. Borsthann, J. Santos, B. Gasperin, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves

Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal (BioRep),  
Universidade Federal de Santa Maria/RS/Brasil.  
e-mail: bayard@biorep.ufsm.br

O objetivo deste trabalho foi avaliar o tempo de exposição ao progestágeno após a aplicação prévia de eCG e desmame temporário em vacas de corte 60-80 dias pós-parto, sobre as taxas de prenhez. A proposta do trabalho consiste em aumentar o tempo de exposição ao progestágeno, eliminando desta forma a detecção de cio e utilizando a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Foram utilizadas 213 vacas Hereford e Braford amamentando com condição corporal 3 (escala 1-5). As vacas receberam 5mg de benzoato de estradiol (BE) intramuscular (I.M.) e um pessário vaginal contendo 250mg de MAP (acetato de medroxiprogesterona; Dia 0). No Dia 6, os animais receberam 125µg de Cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ourofino, Brasil) na submucosa vulvar, 400UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG; Prógon®, Diprost, Uruguai) I.M. e realizou-se o desmame temporário por 96 horas. Neste momento os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos: nos animais do Grupo BioRep (n=106) foi retirado o pessário vaginal no dia 7, as fêmeas foram observadas duas vezes por dia para detecção de cio por 48h e inseminadas 12h após sua manifestação. Os animais que não manifestaram cio nesse período, receberam uma injeção de 100µg de gonadorelina (GnRH, Profertil®, Tortuga, Brasil; dia 9) I.M. sendo inseminadas em tempo fixo (IATF) 16h após. Nos animais do Grupo IATF (n=107) somente retirou-se o pessário vaginal no dia 8; 24h após (Dia 9) os animais receberam uma injeção de 100µg de gonadorelina I.M. e foram inseminados em tempo fixo 16h após. O diagnóstico de gestação foi realizado com ultra-som Pie-Medical Scanner 200® (sonda linear transretal de 6MHz) aos 35 dias após IATF. Os dados foram analisados por qui-quadrado utilizando o programa PROC CATMOD do SAS®. Não houve diferença estatística nas taxas de prenhez entre os grupos estudados (tabela 1). O Grupo BioRep obteve uma distribuição de cio durante as 12h, 24h, 36h e 48h de 8,70%, 7,25%, 15,94% e 18,84% respectivamente, totalizando 50,72%.

**Tabela 1** – Taxas de prenhez em vacas hereford e braford 60-80 dias pós-parto, sincronizadas com distintos tempos de exposição ao acetato de medróxi-progesterona.

	BioRep	IATF
Prenhes / Tratadas	61/106	56/107
Porcentagem de prenhez (%)	57,6	52,3

As porcentagens não diferem estatisticamente (P>0,01)

É possível eliminar o período de detecção de cio, mantendo por 8 dias o pessário contendo MAP e obter aceitáveis índices de prenhez em vacas de corte amamentando que receberam previamente eCG e desmame temporário.

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG Y DE LA APLICACION ANTICIPADA DE PGF EN VAQUILLONAS BRANGUS TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ A LA IATF**

L. Cutaia<sup>1,2</sup>, M. Ramos<sup>1</sup>, F. Castilla<sup>3</sup>, G.A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>2</sup>Syntex SA

<sup>3</sup>Actividad Privada. E-mail: [lcutaia@iracbiogen.com.ar](mailto:lcutaia@iracbiogen.com.ar)

Se diseñó un Experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la administración de una dosis de 400 UI de eCG sobre los porcentajes de preñez obtenidos en vaquillonas Brangus inseminadas a tiempo fijo. Un objetivo secundario fue evaluar el efecto de la aplicación de una dosis de 250ug de Cloprostenol en el momento de iniciado el protocolo de sincronización de celos. Se utilizaron 366 vaquillonas Brangus cíclicas de entre 18 y 24 meses de edad y con una CC de 3,0±0,5 (Escala de 1 a 5). El experimento se realizó en un establecimiento de la localidad de Las Lajitas, Salta, Argentina. Todos los animales recibieron en el Día 0 del tratamiento un dispositivo intravaginal con progesterona (P4) de segundo uso (DIB 1g P4, Syntex Argentina) junto con 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex). En ese momento las vaquillonas fueron asignadas a uno de cuatro grupos de tratamiento en un diseño 2x2 factorial. Las vaquillonas del Grupo PGF Día 8 no recibieron ningún tratamiento adicional en ese día y una dosis de 500 ug de Cloprostenol (Ciclase DL, Syntex) en el Día 8, momento en el que retiraron los DIB. Las del Grupo PGF Día 0 y 8 recibieron una dosis de 250ug de Cloprostenol junto con el DIB y una segunda dosis igual a la anterior en el momento de retirado el DIB (Día 8). A su vez cada grupo fue subdividido en dos para recibir una dosis de 400 UI de eCG (Novormon, Syntex) o no en el momento de retirado el DIB. Todas las vaquillonas recibieron 1 mg de EB (EB, Biotay, Argentina) en el Día 9 y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. Se realizó ultrasonografía transrectal (Chison VET 500, 5 Mhz.) a los 35 días pos IATF para el diagnóstico de preñez. Las proporciones fueron comparadas por Chi cuadrado. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez en vaquillonas tratadas con PGF Día 0 o PGF Día 0 y 8 ( $P>0,1$ ; Tabla 1). Tampoco se encontraron diferencias entre los porcentajes de preñez de las vaquillonas tratadas con una dosis de 400 UI de eCG o no, en el momento de retirados los dispositivos ( $P>0,1$ ; Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus IATF tratadas con PGF en diferentes momentos del tratamiento y con la adición de 400 UI en el Día 8.

	Total	Preñadas	%
<b>PGF Día 0 y 8</b>	187	66	35,3%
<b>PGF Día 8</b>	179	73	40,8%
<b>eCG</b>	181	75	41,4%
<b>Control</b>	185	64	34,6%

( $P>0,05$ )

Concluimos que la adición de una dosis de 250ug de Cloprostenol en el momento de iniciado el protocolo de sincronización no modifica los resultados de preñez. La adición de 400 UI de eCG en el momento de retirado el DIB no aumenta los porcentajes de preñez en vaquillonas cíclicas tratadas con DIB e IATF. Teniendo en cuenta que la información aquí presentada se contrapone con otra generada previamente (Cutaia et al., 2006), resulta necesario profundizar la investigación en este tema.

## TASA DE PREÑEZ CON LA ADMINISTRACION DE GnRH 48 HS LUEGO DE UN TRATAMIENTO CON ESTRADIOL, PROGESTERONA y eCG EN VAQUILLONAS DE DOS AÑOS

A. Menchaca<sup>1,2</sup>, Guzmán Lopez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal de Uruguay; <sup>2</sup>Syntex Uruguay SA; <sup>3</sup>Actividad Privada, Tacuarembó, Uruguay. [alejomen@adinet.com.uy](mailto:alejomen@adinet.com.uy)

En un trabajo previo, el uso de una dosis de GnRH 48 hs luego de un tratamiento con benzoato de estradiol al colocar el dispositivo intravaginal con progesterona y eCG al retirarlo, incrementó de manera significativa la tasa de preñez con IATF en vaquillonas de 14 meses (*Menchaca et al., Reprod Dom Rum VI, 2006:514*). En el presente trabajo evaluamos este tratamiento en vaquillonas de 24 a 28 meses. Se trabajó sobre 364 vacas nulíparas cruce Braford con Hereford o Aberdeen en la estancia La Rosada, Tacuarembó, Uruguay. Las vaquillonas fueron manejadas sobre campo natural con una condición corporal individual  $\geq 3,5$  y una media ( $\pm$ DE) de  $4,0 \pm 0,3$  (escala 1 a 8) y un peso corporal individual  $\geq 260$  kg con una media de  $302,0 \pm 32,8$  kg. Al iniciar el tratamiento se determinó la actividad ovárica mediante ultrasonografía (5,0 MHz, Aloka 500, Japón) presentando cuerpo lúteo sólo el 19,8% de las hembras. El tratamiento consistió en el uso de un dispositivo intravaginal (DIB, 1g de progesterona, Syntex, Argentina) por 7 días junto a una dosis im de 2mg de BE (Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina). Al retirar el DIB se administró 175 $\mu$ g de D(+)-cloprostenol (Ciclase, Syntex, Argentina) y 300 UI de eCG (Novormon, Syntex, Argentina). Las hembras recibieron 1mg de BE a las 24 hs (Grupo BE, n= 186) o una dosis de GnRH (50 $\mu$ g de lecirelina, Gonasyn, Syntex, Argentina) a las 48 hs (Grupo GnRH, n= 178) y la IATF se realizó a las 52-56 hs del retiro del dispositivo. El rodeo se dividió en dos lotes para trabajar durante dos días consecutivos aplicando ambos tratamientos cada día. El diagnóstico de gestación se realizó por ultrasonografía (5,0 MHz, Damiński, Polonia) a los 30 días de la IATF. La tasa de preñez se comparó por regresión logística incluyendo el factor tratamiento, actividad ovárica y día de IATF. Hubo un efecto significativo del tratamiento y la actividad ovárica ( $P < 0,05$ ) y los resultados se muestran en la Tabla 1. No hubo un efecto significativo en el día de IATF ( $P > 0,1$ ) y los datos se analizaron en conjunto.

**Tabla 1.** Tasa de preñez obtenida con un tratamiento para IATF con BE+P4+eCG asociado a BE a las 24 hs (Grupo BE) o GnRH a las 48 hs (Grupo GnRH) de retirado el DIB en vacas nulíparas de 2 años con distinta actividad ovárica.

	CL	Fol $\geq 8$ mm	Fol $< 8$ mm	Total
<b>BE</b>	18/44 (40,9%)	34/129 (26,4%)	2/13 (15,4%)	<b>54/186 (29,0%)</b>
<b>GnRH</b>	17/28 (60,7%)	54/134 (40,3%)	3/16 (18,8%)	<b>74/178 (41,6%)</b>
<b>P&lt;</b>	<b>0,1</b>	<b>0,05</b>	<b>ns</b>	<b>0,01</b>

La sustitución del BE a las 24 hs por el GnRH a las 48 hs permitió un incremento superior a 10 puntos en la tasa de preñez. El efecto fue más marcado en vaquillonas en anestro con folículos  $\geq 8$  mm que en aquellas con folículos pequeños, y mostró una tendencia en hembras cíclicas. Los resultados coinciden con trabajos previos en vaquillonas de 14 meses en anestro prepuberal, y en conjunto sugieren la sustitución del BE por GnRH principalmente en vaquillonas en anestro con folículos  $\geq 8$ mm.



## EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN PROTOCOLO DE IATF UTILIZANDO CIPIONATO DE ESTRADIOL EN VAQUILLAS Y VACAS CON CRÍA CRUZA CEBÚ.

H. Feliciangeli <sup>1,2</sup>, M. Rodríguez <sup>1,2</sup>, M. Caniza <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ganadera Franco Paraguaya S.A. <sup>2</sup>BIOVET SRL.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando cipionato de estradiol (ECP) en el momento del retiro del dispositivo versus benzoato de estradiol. En esta experiencia de campo se evaluó 3 lotes de vacas con cría con 60 días pos parto (n= 525) y una CC promedio de 2,9 (escala de 1 al 5); y un lote de vaquillas con CC promedio de 3. En el Día 0 del tratamiento, todas los animales recibieron un dispositivo de 1 g. de P4 (Terapress, Biogénesis) de primer uso y las vaquillas uno de cuarto uso con 3 anillos, más 2 ml (1 mg) de benzoato de estradiol (Bioestrogen, Biogénesis). En el Día 7 se retiraron los dispositivos y se aplicó 150 ug de D-cloprostenol (Enzaprost, Biogénesis) más 0,25 ml (0,5 mg) de ECP (Gonadin, Agroinsumos). La inseminación se realizó a las 52-56 horas del retiro del dispositivo. El diagnóstico de preñez se realizó a los 54 días post inseminación por ultrasonografía transrectal (Aloka SSD 500). El promedio de preñez para las vacas con cría fue de 37,6 % y para las vaquillas fue de 42 % (Tabla 1).

**TABLA 1.** Porcentaje de preñez en vacas con cría, vacas sin cría y vaquillonas de crúza cebú inseminadas a tiempo fijo en un tratamiento con cipionato de estradiol.

Lote	Total	Preñadas	Vacías	%
ECP 1	184	62	122	<b>33,7</b>
ECP 2	137	54	83	<b>39,4</b>
ECP 3	204	81	123	<b>39,7</b>
Vaquillas	88	37	51	<b>42,0</b>

Este es el resultado de la experiencia con cipionato de estradiol en un campo natural en la zona de Ñeembucu, Paraguay. A pesar de que los resultados están por debajo del promedio normal (50%), se considera que estas preñeces son valiosas por el valor genético de las futuras crías.

**PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS CRUZA CEBU SIN CRÍA AL PIE TRATADAS CON CIPIONATO DE ESTRADIOL VERSUS BENZOATO DE ESTRADIOL EN PROGRAMAS DE IATF.**

H. Feliciangeli <sup>1,2</sup>, M. Rodriguez <sup>1,2</sup>, M. Caniza <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ganadera Franco Paraguaya S.A. <sup>2</sup> BIOVET SRL.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de dos tratamientos de sincronización de la ovulación en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Para el estudio se utilizó el lote Benzoato de Estradiol (BE; n=149,CC=3), y el lote cipionato de estradiol (ECP; n=229, CC=2,7), todas sin cría al pie, cruce cebú, sobre pasturas naturales del bajo chaco Paraguayo. El tratamiento para ambos lotes consistió en la aplicación de un dispositivo de P4 (Terapress de 1 g. Biogénesis) más 2 mg de BE (Bioestrogen, Biogénesis) en el Día 0; retiro del dispositivo y aplicación de 2ml de D-cloprostenol (Enzaprost, Biogénesis) en el Día 7. El lote ECP al retiro del dispositivo (día 7) recibió 0,25 ml (0,5 mg) de cipionato de estradiol (Gonadin, Agroinsumos), mientras que el lote BE recibió 1ml de BE en el Día 8. Ambos lotes fueron inseminados entre las 52-56 horas de retirado el dispositivo. El diagnóstico de preñez se realizó a los 50 días pos IATF por ultrasonografía (ALOKA 500, 7,5Mhz). EL lote ECP obtuvo una preñez de 33.6% (77/229) y el lote BE de 36.2% (54/149) como se muestran en la tabla 1. Los resultados se analizaron estadísticamente por la Prueba Chi-Cuadrado, que demostró que no existe diferencia significativa entre los tratamientos (p=0,6).

**TABLA 1.** Porcentaje de preñez en vacas sin cría en distintos programas e IATF.

	Total	Preñadas	Vacias	%
<b>ECP</b>	229	77	152	33.6
<b>BE</b>	149	54	95	36.2

p=0,6

Podemos concluir que al no haber diferencia significativa en el porcentaje de preñez entre ambos tratamientos, es factible la utilización de ECP por la ventaja de evitar un encierro.

## UTILIZACIÓN DE DISPOSITIVOS PRO-CICLAR PREVIAMENTE UTILIZADOS EN PROTOCOLOS DE RESINCRONIZACIÓN A TIEMPO FIJO

P. Dietrich<sup>1</sup>, M. Canosa<sup>1</sup>, B. Cieslowski<sup>2</sup>, P. Chesta<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Actividad Privada; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto; <sup>3</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). E-mail: [pchesta@iracbiogen.com.ar](mailto:pchesta@iracbiogen.com.ar)

El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilización de dispositivos Pro Ciclar previamente utilizados, en programas de resincronización de los retornos para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Se utilizaron 81 vacas con cría, Aberdeen Angus, con una condición corporal promedio de 3 (rango: 2,75 a 3,5, escala de 1 a 5), todas se encontraban entre 60 y 100 días de paridas al momento de la IATF. En el Día -10 (Día 0 = IATF) las vacas fueron seleccionadas por ultrasonografía (Chison Vet 500, 5 Mhz) y las que resultaron aptas (vacas con cuerpo lúteo o folículos mayores a 8 mm) recibieron un dispositivo intravaginal Pro-Ciclar 0,75 g de P4 (Zoovet, Argentina) más 2 mg de Benzoato de Estradiol im (Benzoato de Estradiol, Zoovet, Argentina). En el Día - 2 se realizó la remoción del dispositivo y se les aplicó 150 µg de D (+) cloprostenol im (Ciclar, Zoovet, Argentina), 24 horas más tarde (Día -1) se les aplicó 1 mg de Benzoato de Estradiol im. Todas las vacas fueron inseminadas con semen de toros de fertilidad comprobada (> 70 % de espermatozoides normales, > 25 % de motilidad progresiva con vigor 3 a la hora 0 y > 15 % de motilidad progresiva con vigor 2 a las dos horas de incubación a 35° C) entre las 52 y 56 horas de retirados los dispositivos (Día 0). En el Día 16, los animales fueron divididos al azar para recibir un dispositivo intravaginal Pro-Ciclar nuevo (Grupo Nuevo) o un dispositivo Pro-Ciclar previamente utilizado (Grupo Usado). En el Día 21 se les aplicó a todos los animales 50 µg de Lecirelina im (GnRH, Gonasyn, Syntex, Argentina) y se removieron los dispositivos. En el Día 28 se les realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía transrectal. Los animales que resultaron vacíos recibieron 150 µg de D(+) cloprostenol y 1 mg de Benzoato de Estradiol 24 horas más tarde (Día 29). Todos estos animales fueron re inseminados en el Día 30 por la tarde (52 a 56 de aplicado el cloprostenol). Se realizó el diagnóstico final de gestación a los 45 días de la segunda IATF. Los datos fueron analizados por regresión logística. Los porcentajes de preñez son presentados en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Preñez en vacas Aberdeen Angus sujetas a IATF con un tratamiento basado en el uso de un dispositivo intravaginal con progesterona (Pro-Ciclar) nuevo o de segundo uso para resincronizar la ovulación.

	Grupo Nuevo	Grupo Usado
<i>N</i>	41	40
<i>Preñez primera IATF</i>	23/41 (56,1 %)	20/40 (50,0 %)
<i>Preñez segunda IATF</i>	8/17* (47,1 %)	5/19* (26,3 %)
<i>Preñez Final</i>	31/41 (75,6 %)	25/40 (62,5 %)

P>0,1 \*no se realizó el diagnóstico de gestación en 2 vacas.

Si bien no se observaron diferencias significativas en los porcentajes de preñez entre los animales tratados con los dispositivos nuevos o usados, dado el bajo porcentaje de preñez obtenido en este último grupo al realizar la segunda IATF, es necesario aumentar el número de animales tratados para concluir sobre el tema.

## EFFECTO DEL USO DE UN PROTOCOLO OVSYNCH VS DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON P4 Y ESTRADIOL SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VACAS INSEMINADAS A TIEMPO FIJO

P. Chesta<sup>1</sup>, L. Cutaia<sup>1</sup>, R. Ramirez<sup>2</sup>, G. A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). <sup>2</sup>Actividad privada.

[pchesta@iracbiogen.com.ar](mailto:pchesta@iracbiogen.com.ar)

El objetivo de este trabajo fue comparar las tasas de preñez obtenidas en inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando dispositivos con P4 más estradiol o protocolos Ovsynch. Se utilizaron 448 vacas con cría, Braford, con una condición corporal promedio de 2,5 (escala de 1 a 5), todas se encontraban con más de 90 días de paridas al momento de la IATF y a todas se les realizó destete precoz la semana previa a iniciar los tratamientos. Las vacas fueron divididas al azar en dos grupos de tratamiento, 1) *Grupo P4 (n=223)*: en el Día 0 se les aplicó un dispositivo intravaginal DIB 0,5 g (Syntex, Argentina) más 2 mg de benzoato de estradiol im (EB, Estradiol Multidosis, Over, Argentina), en el Día 8 se retiraron los dispositivos y se aplicó 150 µg de D(+) cloprostenol im (PGF, Prostal, Over, Argentina). En el Día 9 todas las vacas recibieron 1 mg de EB y se realizó la IATF entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos. 2) *Grupo Ovsynch (n=225)*: en el Día 0 pm se les aplicó 1,05 mg de acetato de Buserelina im (GnRH, Gestar, Over, Argentina), a los 7 días (Día 7 pm) se les aplicó 150 µg de D(+) cloprostenol im. En el Día 9 pm (a las 48 h de la PGF) se les aplicó GnRH y fueron inseminadas entre 15 y 18 horas más tarde. La IATF en los dos grupos se realizó con semen de dos toros de fertilidad comprobada y fue realizada por tres operarios. El diagnóstico de gestación se realizó por ultrasonografía (Chison Vet 500, 5 Mhz) a los 35 días de la IATF. Los datos fueron analizados estadísticamente por regresión logística. No se observó diferencia en los toros utilizados (P=0,133), tampoco entre los operarios (P=0,422). Las tasas de preñez según los grupos de tratamiento fueron diferentes (P<0,001) y se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Tasas de preñez en vacas tratadas con protocolos de IATF ovsynch o con dispositivos con P4 más estradiol.

Grupo	Tasa de preñez (%)
<i>Grupo P4 + EB</i>	51,1 <sup>a</sup> (114/223)
<i>Grupo Ovsynch</i>	35,1 <sup>b</sup> (79/225)

(ab P<0,001)

Protocolos de IATF que combinan la utilización de progestágenos y estradiol, resultan en tasas preñez mas altas que los que se basan en la utilización de GnRH y prostaglandinas.

## EFFECTO DE LA REALIZACION DE UN ENLATADO POR 14 DIAS O DEL USO DE UN TRATAMIENTO HORMONAL PARA MEJORAR LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VACAS EN ANESTRO EN SERVICIO NATURAL

C. Rizzi<sup>1</sup>, I. Esquenon<sup>1</sup>, L. Cutaia<sup>2,3</sup> GA. Bo<sup>2</sup>

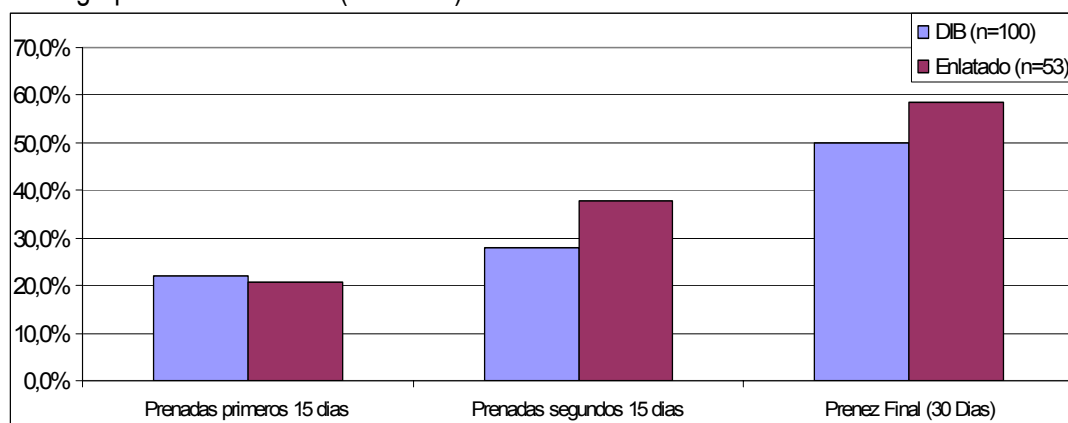
<sup>1</sup>Actividad Privada, <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba, <sup>3</sup>Syntex SA

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la implementación de un enlatado por 14 días de los terneros o el tratamiento con un dispositivo intravaginal con P4 usado y eCG sobre el porcentaje y la distribución de las preñeces en vacas cruce cebú en un servicio natural por 30 días. Se utilizaron 153 vacas cruce cebú con una CC  $4 \pm 1,4$  en promedio (Escala 1-9) y en anestro (ausencia de CL, Pie Medical Falco 100, 7,5 Mhz). Al momento del inicio del experimento los terneros tenían una edad de entre 38 y 53 días. En ese momento (Día -9) los animales fueron divididos en dos grupos de tratamiento (Grupo Lata, n=100) y (Grupo DIB, n=53). Las vacas del Grupo DIB recibieron un DIB (1g P4, Syntex Argentina) de segundo uso junto con 2 mg de EB (Syntex), los dispositivos fueron retirados 8 días mas tarde (Día -1) y las vacas recibieron 400 UI de eCG (Novormón, Syntex SA). En el Día 0 los terneros del Grupo Lata fueron enlatados por un periodo de 14 días. En ese mismo momento todos los animales entraron al mismo potrero con servicio natural por 60 días al 4% de toros. Todos los terneros fueron pesados en grupos de 4 a 5 al inicio del servicio y al final del mismo, resultando los pesos como se indica en la Tabla 1. Los pesos no fueron comparados estadísticamente ya que no se contaba la medición individual de cada uno.

**Tabla 1.** Peso promedio de terneros tratados con lata por 14 días vs. terneros no enlatados, al inicio y al final de un servicio por 60 días.

	Peso al Inicio del Tratamiento	Peso a los 60 días del inicio del tratamiento	Diferencia
<b>Grupo DIB</b>	70,56 kg	86,13 kg	15,57 kg
<b>Grupo Lata</b>	74,89 kg	77,69 kg	2,8 kg

Se realizó ultrasonografía transrectal a los 60 días de iniciado el servicio para determinar las preñeces logradas en los primeros y los segundos 15 días de servicio. No se encontraron diferencias en la cantidad de preñeces logradas ( $P < 0,3$ ; Chi Cuadrado) ni en la distribución de las mismas ( $P = 0,4$ , Test de Bartlett) entre ambos grupos de tratamiento (Gráfico 1).



**Gráfico 1.** Porcentaje de preñez en los primeros y segundos 15 días de iniciado el servicio en vacas en anestro tratadas con DIB usado vs. terneros enlatados por 14 días.

Concluimos que el uso de dispositivos intravaginales con P4 usados junto con EB y eCG en vacas en anestro en servicio natural pueden ser una alternativa viable a los tratamientos con enlatado por 14 días.

## EFECTO DEL TRATAMIENTO POR 7 O 14 DÍAS EN UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN VAQUILLONAS CRUZA CEBÚ POR BONSMARA.

G.A. Bó, I. Reano, P. Chesta  
 Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
 J.L. de Cabrera 110, X5000GVD, Córdoba, Argentina.  
[gabrielbo@iracbiogen.com.ar](mailto:gabrielbo@iracbiogen.com.ar)

Se utilizaron 345 vaquillonas Cruza Cebú x Bonsmara de 24 meses de edad y con una CC promedio de 3,0 (Escala 1-5). El día de inicio del tratamiento (Día 0) las vaquillonas fueron ecografiadas (Pie Medical Falco 100, 7,5 Mhz). El total de las vaquillonas presentaron un CL al día de inicio del tratamiento. En el Día 0 la mitad de las vaquillonas (Grupo 14 d) recibieron un Triu-B (1g de P4, Biogénesis-Bago, Argentina), siete días mas tarde (Día 7) recibieron una dosis de GnRH (8 µg Buserrelina, Receptal, Intervet) junto con 75µg de D+Cloprostenol (Enzaprost, Biogénesis-Bago). En ese mismo día el resto de las vaquillonas (Grupo 7d) recibió un Triu-B junto con 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Bioestrogen, Biogénesis-Bago) y la misma dosis de PGF. En el Día 14 se retiraron los Triu-B a todas las vaquillonas y recibieron una segunda dosis de PGF (75µg de D+Cloprostenol), en el Día 15 se inyectó 1 mg de EB y todas las vaquillonas fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirado el dispositivo. Se realizó diagnóstico de preñez a los 35 días de la IATF por medio de ultrasonografía. Las proporciones fueron comparadas por medio de regresión logística teniendo en cuenta variables como grupos de tratamiento, inseminador y semen. No se encontraron efectos por el semen utilizado ( $P=0,7$ ) ni inseminador ( $P=0,2$ ). Sin embargo se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en las vaquillonas del Grupo 7d, respecto a las vaquillonas del Grupo 14d ( $P=0,008$ ). Los resultados se indican en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vaquillonas cruza Bonsmara inseminadas a tiempo fijo y tratadas con dispositivos intravaginales Triu-B por 7 o 14 días.

	TOTAL	PREÑADAS	%
<b>14 Días</b>	183	83	45,36 <sup>a</sup>
<b>7 Días</b>	171	100	58,48 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Superíndices diferentes en la misma columna difieren ( $P=0,008$ )

Concluimos que el tratamiento con dispositivos intravaginales con progesterona por 14 días y GnRH en el Día 7, resulta en menores porcentajes de preñez respecto a un tratamiento convencional por 7 días en vaquillonas Cruza Cebú x Bonsmara cíclicas de 24 meses de edad.

## EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CIPIONATO DE ESTRADOL AL INICIO DE UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACION DE CELOS SOBRE LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VAQUILLONAS BRANGUS IATF

G.A. Bó<sup>1</sup>, M. Ramos<sup>1</sup>, P. Chesta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
J.L. de Cabrera 110, X5000GVD, Córdoba, Argentina.

El objetivo de este experimento fue valorar las tasas de preñez en vaquillonas Brangus tratadas con cipionato de estradiol (ECP) o benzoato de estradiol (EB) en tratamientos de 8 ó 9 días. El experimento se realizó en dos réplicas, para la réplica 1 se utilizaron 170 vaquillonas Brangus, entre 17 y 24 meses de edad, con una condición corporal entre 2,5 y 3 (escala de 1 a 5) y en la réplica 2 se utilizaron 179 vaquillonas con características similares a las anteriores. En el Día 0 todas las vaquillonas recibieron un dispositivo intravaginal CIDR (1,9 g de progesterona, Pfizer Sanidad Animal, Argentina), más 12,5 mg de Dinoprost (2,5 ml de Lutalyse, Pfizer) y fueron divididas al azar para recibir 2 mg de EB (Laboratorio Río de Janeiro, Argentina) im o 1 mg de ECP (ECP, Pfizer Sanidad Animal) im. Las vaquillonas fueron divididas nuevamente al azar en un diseño 2 x 2 factorial para removerles el dispositivo en el Día 8 o Día 9. En este momento todas las vaquillonas recibieron además 2,5 ml de Lutalyse y 1 mg de ECP. Se realizó la IATF entre las 52 a 56 h de retirados los dispositivos. Se realizó diagnóstico de gestación por ultrasonografía entre los 35 y los 45 días de la IATF. Los datos fueron analizados por regresión logística, teniendo en cuentas factores como tratamiento, inseminador, semen y réplica. Se obtuvo un mayor porcentaje de preñez en la réplica 1 que en la réplica 2 ( $P=0,009281$ ; 73/170, 42,9% vs 53/179, 29,6%). No se encontraron diferencias en el semen utilizado ( $P=0,894$ ) ni entre los inseminadores ( $P=0,349$ ). La posible causa de la baja preñez obtenida en la réplica 2 puede deberse a que en el día de retirado el CIDR se dio una fuerte tormenta, con mas 200 mm de lluvia caída. Hubo diferencias en las tasas de preñez según el las estructuras ováricas que se encontraron a la palpación rectal en las vaquillonas al momento de inicio del tratamiento. Las vaquillonas que presentaban CL se preñaron en mayor proporción que las que presentaban folículos (47,6% vs 26,2%;  $P=0,014$ ). La tasa de preñez no fue influenciada por la duración del tratamiento con CIDR, pero si por la sal de estradiol utilizada, con una menor preñez en las vacas tratadas con ECP (31/85; 36,5%) que las tratadas con EB (42/85; 49,4%;  $P<0,06$ ). A su vez, se encontró una interacción ECP x Día de remoción del CIDR x replica, debido que en la replica 1 hubo una menor preñez ( $P<0,05$ ) en el grupo tratado con ECP al inicio y el CIDR removido el Día 8, que en los dos grupos tratados con EB (Tabla 1).

**Tabla 1.** Tasas de preñez en vaquillonas Brangus tratadas con ECP o EB en el inicio del tratamiento y con la remoción del dispositivo en el Día 8 o Día 9.

Estradiol	CIDR	Replica 1		Replica 2	
		Preñadas	%	Preñadas	%
ECP	8	13/44	29,5 <sup>a</sup>	15/47	31,9
ECP	9	18/41	43,9 <sup>ab</sup>	9/44	20,5
EB	8	21/43	48,8 <sup>b</sup>	15/46	32,6
EB	9	21/42	50,0 <sup>b</sup>	14/42	33,3
<b>Total</b>		<b>71/170</b>	<b>42,9<sup>x</sup></b>	<b>53/179</b>	<b>29,6<sup>y</sup></b>

ab Superíndices diferentes en la misma fila difieren ( $P<0,05$ )

xy Superíndices diferentes denotan diferencias entre replicas ( $P<0,009$ )

En conclusión los tratamientos con ECP al momento de la inserción del CIDR resultan en una menor tasa de preñez que los tratamientos con EB.

**TASAS DE PREÑEZ EN VAQUILLAS *Bos indicus* TRATADAS CON IMPLANTES DE NORGESTOMET Y DIFERENTES PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO**

F. Pita<sup>1</sup>, R. Matute<sup>1</sup>, G.A. Bo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Intervet Ecuador S.A., <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC).

fpita@intervet.com.ec

La eficiencia en los protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) depende de la sincronía de la emergencia de la onda de desarrollo folicular la cual varía dependiendo del ester de estradiol y de la dosis utilizada al inicio del tratamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo sobre la tasa de preñez en vaquillas *Bos indicus* tratadas con un implante de norgestomet y diferentes ester de estradiol y dosis reducida de valerato de estradiol al inicio del tratamiento. Este estudio fue realizado en la “Hacienda Las Hierbas” ubicado en el cantón Chone, provincia de Manabí, República del Ecuador. Se utilizaron 150 vaquillas *Bos indicus* cruce con un peso corporal entre los 340 a 390 Kg y una condición corporal con rangos de 3,0 a 4,0 (escala de 1 a 5) las cuales fueron asignadas al azar a tres grupos de investigación. Todas las vaquillas recibieron el Día 0 un implante subcutáneo en la oreja de norgestomet (Crestar, Intervet) y fueron divididas al azar en tres grupos. Trat 1 (n=50) Día 0: 5 mg de valerato de estradiol + 3 mg de norgestomet I.M.; Día 9: retiro del implante de norgestomet + 400 UI eCG (Folligón, Intervet) I.M.; Día 11: IATF 52 – 54 horas post retiro del implante + 100 mcg gonadorelina (Fertagyl, Intervet) I.M. Trat 2 (n=50) Día 0: 2 mg de valerato de estradiol + 1.2 mg de norgestomet I.M.; Día 8: retiro del implante de norgestomet + 400 UI eCG I.M + 150 mcg D-cloprostenol (Preloban, Intervet) I.M.; Día 10: IATF 52 – 54 horas post retiro del implante + 100 mcg gonadorelina I.M. Trat 3: (n=50) Día 0: 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Syntex) I.M.; Día 8: retiro del implante de norgestomet + 400 UI eCG I.M + 150 mcg D-cloprostenol I.M.; Día 10: IATF 52 – 54 horas post retiro del implante + 100 mcg gonadorelina. Todas las vaquillas fueron inseminadas por un mismo técnico operador y con pajuelas congeladas/descongeladas de un mismo toro. Los diagnósticos de preñez se realizaron por palpación transrectal 60 días post IATF. Para determinar si las tasas de preñez de cada tratamiento difieren entre si se utilizó el test Chi Cuadrado con un nivel de confianza del 95% (InfoStat/Profesional Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). No se encontraron diferencias significativas ( $p=0.705$ ) entre tratamientos. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Porcentajes de preñez en vaquillas *Bos indicus* tratadas con implante de norgestomet y diferentes protocolos de IATF.

	<b>T1 (5mg VE)</b>	<b>T2 (2mg VE)</b>	<b>T3 (2mg BE)</b>
Preñadas/Tratadas	21/50	24/50	25/50
%	(42,00)	(48,00)	(50,00)

Los porcentajes no difieren ( $p=0.705$ ).

Se concluye que la utilización de la dosis completa de valerato de estradiol (5 mg VE) al inicio del tratamiento con el progestágeno norgestomet es eficiente en protocolos de IATF en vaquillas *Bos indicus* y no influye negativamente sobre las tasas de preñez al igual que la dosis reducida (2 mg VE) y el Benzoato de Estradiol (2 mg BE). Estudios adicionales con mayor número de animales aportarán información adicional para dar soporte a esta conclusión.



**TASA DE PREÑEZ LUEGO DE LA UTILIZACIÓN DE BENZOATO DE ESTRADIOL 24 HORAS ANTES  
O GnRH EN EL MOMENTO DE LA IATF EN VACAS  
MULTIPARAS PARA CARNE**

R.J.A. Vaca<sup>1,2</sup>, A. Prando, A Baldo<sup>1</sup>, R.L. de La Sota<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Zootecnia Especial II (B y E), <sup>3</sup>Instituto de Teriogenología  
Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Calle 60 y 118. La Plata. B1900AVW

<sup>2</sup>[rovaca@fcv.unlp.edu.ar](mailto:rovaca@fcv.unlp.edu.ar)

Esta ampliamente difundida el uso de protocolos combinando dispositivos intravaginales de progesterona (DIS), benzoato de estradiol (BE) y prostaglandinas (PGF) para la sincronización de la ovulación y la inseminación a tiempo fijo (IATF) en hembras bovinas. Dentro de los protocolos de IATF actualmente en uso, aquellos en los cuales la aplicación de BE se realiza a las 24 h de retirado los DIS y la IATF 24 h más tarde son los más utilizados. Como así también aquellos que en que se aplica el BE al momento de retiro logrando resultados similares. El reemplazo del BE por GNRH si bien aumenta el costo de la sincronización permite realizar un encierre menos de los animales. El objetivo del presente ensayo fue comparar la tasa de preñez luego de una IATF en vacas para carne con cría al pié a las que se les administró el BE 24 hs despues del retiro del DIS o la GNRH al momento de la IATF. Se utilizaron 85 vacas Angus con cría al pie de dos o más partos, con  $\geq 45$  días de paridas, y una condición corporal (CC)  $\geq 2.5$  (escala 1 a 5). Se evaluó la ciclicidad de todos los animales por tacto rectal al momento de la colocación de los dispositivos Los animales en los que se observaron CL o FP fueron clasificados cíclicos y los sin estructuras palpables en anestro (A). Los animales fueron asignados a cada tratamiento (TRT) teniendo en cuenta los días post-parto (DPP) y la CC. En el TRT1, el día (d) -10 se colocó un DIS (Triu-B<sup>®</sup>, 1g de P<sub>4</sub>, Biogénesis SA) de primer uso y 100 ug de GnRH (<sup>®</sup>, Biogénesis SA). El d -2 se retiró el dispositivo y se inyectó 150ug de D-Cloprostenol (Enzaprost<sup>®</sup>, Biogénesis SA) y el d 0 se IATF+ 100 ug GnRH. En el TRT2, el d -10 se colocó un DIS y 1 mg de BE. El día del retiro se aplicó PGF, a las 24 h del retiro del dispositivo se inyectó 1 mg de BE y a las 48 h se realizó IATF. Se evaluó el porcentaje de preñez por ecografía a los 33 días post inseminación (Pie Medical Tringa/transductor mecánico sectorial, frecuencia 5.0/7.5 Mhz). El análisis estadístico de los datos se realizó con el procedimiento CATMOD de SAS<sup>®</sup>. El modelo matemático incluyó los efectos de tratamiento y anestro, y la interacción de tratamiento x anestro. No se encontraron diferencias significativas al inicio del protocolo en los días post-parto ( $87,8 \pm 2,6$  vs.  $82,8 \pm 2,7$ ,  $p > 0,13$ ), y en la CC ( $2,84 \pm 0,06$  vs.  $2,94 \pm 0,06$ ,  $p > 0,25$ ) entre el TRT1 y TRT2. El porcentaje de preñez fue similar en el TRT1 y en el TRT2 (67% [29/43, BE 24 h] vs. 62% [26/42, GnRH];  $p > 0,34$ ). No se detectaron diferencias en el porcentaje de preñez entre vacas ciclando y en anestro (23% [10/43] vs. 17% [7/42];  $p > 0,62$ ). La interacción de tratamiento por ciclicidad no fue significativa ( $p > 0,37$ ). En conclusión, en vacas con cría la pié, no se encontraron diferencias en fertilidad con el uso de BE a las 24 h del retiro del DIS y la IATF 24 h más tarde o el uso de GNRH en el momento de la IATF.

Palabras claves: GnRH, benzoato de estradiol, vacas con cría, anestro.

**EVALUACIÓN DE LAS TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B  
CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA EN VACAS  
BRANGUS Y BRAFORD CON CRÍA**

D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, P. Chesta, M. Piccardi, A. Tríbulo, M. Ramos, I. Reano,  
C. E. Rojas, A. J. García, G.A. Bó  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD)  
Córdoba, Argentina

Se realizó un experimento con el objetivo de evaluar las tasas de preñez en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y de re-inseminación artificial a tiempo fijo (re-IATF) utilizando dispositivos intravaginales Triu-B (Biogénesis - Bago, Argentina) con diferentes concentraciones de progesterona (P4). Se utilizaron 192 vacas con cría (45 a 60 días posparto), Brangus y Braford, con una condición corporal (CC) promedio de 2,5 (escala de 1 a 5). En el Día -10 (Día 0 = IATF) se realizó la determinación de status ovárico por ecografía (Chison 500VET, 5.0 MHz) y los animales con un CL o folículos > 8 mm de diámetro recibieron en ese momento 2 mg de benzoato de estradiol im (EB, Bioestrogen, Biogénesis-Bago). En ese momento los animales fueron divididos al azar en tres tratamientos, para recibir un dispositivo Triu-B (Biogénesis-Bago, Argentina) nuevo o un dispositivo Triu-B con un uso previo o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más 3 anillos con P4 (100 mg de P4 por anillo) En el Día -2 se retiraron los dispositivos y se aplicó 150 µg de D (+) cloprostenol (PGF, Enzaprost, Biogénesis-Bago) im. En el Día -1 se inyectó 1 mg de EB y se realizó IATF, con semen congelado de tres toros de fertilidad comprobada, entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos (Día 0). En el Día 16, los animales fueron divididos al azar en tres grupos de tratamiento, para recibir un dispositivo Triu-B con un uso previo (Grupo Triu-B 2do uso), o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más 2 anillos con P4 (Grupo Triu-B 3er uso + 2), o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más 3 anillos con P4 (Grupo Triu-B 3er uso + 3). En el Día 21 se retiraron los dispositivos y se aplicó 0,050 mg de leirelina (GnRH, Gestran Plus, Arsa SRL, Argentina). En el Día 28 se realizó el diagnóstico de preñez por ecografía y las que resultaron vacías recibieron PGF en ese momento, 1 mg de EB 24 h más tarde y fueron re-IATF entre las 52 a 56 h de la PGF. Se analizaron los datos por regresión logística. En la IATF no se encontraron efectos significativos en los factores raza (P=0,0903), status ovárico al Día -10 (CL vs folículos, P=0,6258), CC (P=0,6001), dispositivo utilizado para la IATF (P=0,8256), semen utilizado (P=0,5339), inseminador (P=0,9615), dispositivo insertado al Día 16 pos-IATF (P=0,6501). En la re-IATF se encontró una diferencia significativa entre las razas (P=0,0261) donde la preñez para las vacas braford fue de 10/38 26,3% y para las brangus de 46/76 60,5%. En los demás factores evaluados no se encontraron efectos significativos: dispositivo utilizado para la re-IATF (P=0,9571; Tabla 1), semen utilizado (P=0,2224), inseminador (P=0,5192), status ovárico al día -10 (P=0,3165). En conclusión, los tres dispositivos utilizados son adecuados para la re-IATF en vacas brangus y braford con cría al pié.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vacas con cría Brangus y Braford re-sincronizadas con dispositivos Triu-B de segundo uso, de tercer uso con dos anillos con P4 o de tercer uso con tres anillos con P4, en un programa de re-IATF.

	Triu-B 2do uso	Triu-B 3er uso + 2	Triu-B 3er uso + 3
<b>Preñez de IATF</b>	31,6% (18/57)	40,9% (27/66)	33,3% (23/69)
<b>Preñez de re-IATF</b>	52,6% (20/38)	37,1% (13/35)	56,1% (23/41)
<b>Preñez acumulada</b>	67,9% (38/56)	64,5% (40/62)	61,8% (46/64)

Los porcentajes no difieren (P=0,6501)

**EVALUACION DE LAS TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B  
CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA EN  
VAQUILLONAS BRANGUS Y BRAFORD**

D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, P. Chesta, M. Piccardi, A. Tríbulo, M. Ramos, I. Reano,  
C. E. Rojas, A. J. García, G.A. Bó,  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD)  
Córdoba, Argentina

Se realizó un experimento con el objetivo de evaluar las tasas de preñez en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y de re-inseminación artificial a tiempo fijo (re-IATF) utilizando dispositivos intravaginales Triu-B (Biogénesis-Bagó, Argentina) con diferentes concentraciones de progesterona (P4). Se utilizaron, 205 vaquillonas ciclando, Brangus y Braford, con una condición corporal (CC) promedio de 3,5 (escala de 1 a 5). En el Día -10 (Día 0 = IATF) se realizó la determinación de status ovárico por ecografía (Chison 500VET, 5.0 MHz) y las vaquillonas con un CL o folículos >8mm de diámetro recibieron 2 mg de benzoato de estradiol im (EB, Bioestrogen, Biogénesis-Bago, Argentina) más 75 µg de D(+) cloprostenol im (Enzaprost-D, Biogénesis-Bago, Argentina) y fueron divididas al azar en tres grupos de tratamiento, para recibir un dispositivo Triu-B nuevo, o un dispositivo Triu-B previamente utilizado, o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más tres anillos de P4 con 100 mg de P4 cada uno. En el Día -2 se retiraron los dispositivos y se aplicó 75 µg de D(+) cloprostenol im. En el Día -1 se inyectó 1 mg de EB y se realizó la IATF, con semen congelado de tres toros de fertilidad comprobada, entre las 52 y 56 h de retirado los dispositivos (Día 0). En el Día 16 las vaquillonas fueron nuevamente divididas al azar en tres grupos de tratamiento, para recibir un dispositivo Triu-B usado previamente (Grupo Triu-B 2do uso), o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más 2 anillos con P4 (Grupo Triu-B 3er uso + 2), o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más 3 anillos con P4 (Grupo Triu-B 3er uso + 3). En el Día 21 se retiraron los dispositivos y se aplicó 0,050 mg de lecirelina (GnRH, Gonasyn, Syntex, Argentina). En el Día 28 se realizó el diagnóstico de preñez por ecografía y las que resultaron vacías recibieron 150 µg de D(+) cloprostenol im en ese momento, 1 mg de EB 24 h más tarde y fueron re-inseminadas a tiempo fijo entre las 52 a 56 h de aplicado el cloprostenol. Se analizaron los datos por regresión logística. No se encontraron efectos significativos en los factores evaluados para la primera IATF, inseminador (P=0,3196), semen utilizado (P=0,2334), CC (P=0,7356), raza (P=0,4421), dispositivo utilizado para la IATF (P=0,3476), dispositivo insertado al Día 16 pos-inseminación (P=0,9300). Tampoco se encontraron efectos significativos en la re-IATF, toro (P=0,8154), raza (P=0,9523), CC (P=0,8091) y dispositivo utilizado (P=0,2261). En conclusión, los tres dispositivos utilizados son adecuados para la re-IATF de vaquillonas brangus y braford.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez a la re-IATF en vaquillonas Brangus y Braford re-sincronizadas con dispositivos Triu-B de segundo uso, de tercer uso con dos anillos de P4 o de tercer uso con tres anillos de P4.

	Triu-B 2do uso	Triu-B 3er uso + 2	Triu-B 3er uso + 3
<b>Preñez a la IATF</b>	57,4% (35/61)	45,8% (33/72)	56,9% (41/72)
<b>Preñez a la re-IATF</b>	45,0% (9/20)	60,0% (21/35)	60,0% (18/30)
<b>Preñez acumulada</b>	80,0% (44/55)	79,4% (54/68)	83,1% (59/71)

Los porcentajes no difieren (P=0,2261)

## TASAS DE PREÑEZ EN IATF Y RE-IATF UTILIZANDO TRIU-B EN VAQUILLONAS BRANGUS Y BRAFORD DURANTE EL OTOÑO-INVIERNO

D. Carballo Guerrero, L. Cutaia, A. Tribulo, R. Tribulo, G. A. Bó, M. Piccardi, P. Chesta,  
I. Reano, C. E. Rojas, A. J. García.

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD), Córdoba, Argentina

Se realizó un experimento con el objetivo de evaluar las tasas de preñez en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y de re-inseminación artificial a tiempo fijo (re-IATF) utilizando dispositivos intravaginales Triu-B (Biogénesis-Bagó, Argentina) con diferentes concentraciones de progesterona (P4) en los meses de junio y julio en Córdoba, Argentina. Se utilizaron 101 vaquillonas, Brangus y Braford de 17 a 20 meses de edad, con una condición corporal (CC) promedio de 3 (escala de 1 a 5). En el Día -10 (Día 0 = IATF) se realizó la determinación de status ovárico por ecografía (Chison 500VET, 5.0 MHz) y los animales que resultaban aptos (con CL o Folículos  $\geq$  8mm) recibieron 2 mg de benzoato de estradiol im (EB, Bioestrogen, Biogénesis-Bago) y 75  $\mu$ g de D (+) cloprostenol im (PGF, Enzaprost-D, Biogénesis-Bagó), fueron divididas al azar en dos grupos de tratamiento, para recibir un dispositivo Triu-B con dos usos previos (Triu-B de 3er uso) más 3 anillos con P4 (100 mg de P4 por anillo) o un Tri-B monodosis (Triu-B M15, Biogénesis Bagó). En el Día -2 se retiraron los dispositivos y se aplicó 75  $\mu$ g de D (+) cloprostenol im. En el Día -1, se inyectó 1 mg de EB im y se realizó IATF, con semen congelado de tres toros de fertilidad comprobada, entre las 52 y 56 h de retirados los dispositivos (Día 0). En el Día 16, las vaquillonas fueron divididas al azar en tres grupos de tratamiento, para recibir un dispositivo Triu-B con un uso previo (Grupo 2do uso), o un dispositivo Triu-B con dos usos previos más un anillo con P4 (Grupo 3er uso + 1), o un dispositivo Triu-B con tres usos previos más un anillo con P4 nuevo más dos anillos con P4 con un uso previo (Grupo 4to uso +1). En el Día 21 se retiraron los dispositivos y se aplicó 0,050 mg de lecirelina (GnRH, Gestran Plus, Arsa SRL, Argentina). En el Día 28 se realizó el diagnóstico de preñez por ecografía y las que resultaron vacías recibieron PGF en ese momento, 1 mg de EB 24 h más tarde y fueron re-IATF entre las 52 a 56 h de la PGF, con semen congelado de dos toros de fertilidad comprobada. Se analizaron los datos por regresión logística. En la IATF no se encontraron efectos significativos de raza ( $P=0,2185$ ), CC ( $P=0,8840$ ), dispositivo utilizado para la IATF ( $P=0,4669$ ), semen utilizado ( $P=0,2531$ ) y dispositivo insertado al Día 16 pos-IATF ( $P=0,9184$ ). En la re-IATF tampoco se encontraron efectos significativos en los factores raza ( $P=0,0843$ ), CC ( $P=0,3668$ ) y dispositivo utilizado para re-IATF ( $P=0,3184$ ; Tabla 1). En conclusión, los tres dispositivos utilizados son adecuados para la re-IATF en vaquillonas Braford y Brangus en otoño-invierno.

**Tabla 1.** Porcentajes de preñez en vaquillonas Brangus y Braford re-sincronizadas con dispositivos Triu-B con distintas concentraciones de progesterona, en un programa de re-IATF.

	Triu-B 2do uso	Triu-B 3er uso +1	Tri-B 4to uso + 1
<b>IATF</b>	57,6% (19/33)	58,0% (18/31)	51,4% (19/37)
<b>re-IATF</b>	50,0% (7/14)	30,8% (4/13)	38,9% (7/18)
<b>Total</b>	78,8% (26/33)	71,0% (22/31)	70,3% (26/37)

Los porcentajes no difieren ( $P=0,3184$ ).



**TEMA B: BOVINOS**

---

**B 2: SUPEROVULACIÓN DE DONANTES Y  
TRANSFERENCIA DE EMBRIONES**



## EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE eCG EN TRATAMIENTOS DE SINCRONIZACION DE CELOS EN RECEPTORAS DE EMBRIONES

E. Mamani<sup>1</sup>, J. Ortiz,<sup>2,3</sup> y J. M. Quezada<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Alumno F.C.V., U.A.G.R.M. <sup>2</sup>Catedrático de la Universidad Gabriel René Moreno, <sup>3</sup>Actividad privada "Tecnogenética"

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el efecto de diferentes dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG, Novormon 5000, Syntex, Argentina) en la tasa de utilización, tasa de concepción y tasa de preñez final en receptoras de embriones. Para este experimento se utilizaron 104 vaquillas mestizas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) con un peso promedio de 330 Kg. de peso con una condición corporal de 2.5 – 3.5 (Escala 1-5). En el día 0 todas las vaquillas recibieron un dispositivo intravaginal impregnado con 1 gr. de progesterona de 2<sup>do</sup> uso (DIB, Syntex, Argentina) más 1mg. de benzoato de estradiol. (EB, Syntex, Argentina) vía intramuscular (im). En el Día 5 todas las vaquillas recibieron 150µg. D(+) Cloprostenol (Ciclase, Syntex) im y fueron divididas al azar para recibir: 200 UI de eCG im (Novormon 5000, Syntex, Grupo 200 UI); 300 UI de eCG im (Grupo 300 UI o 400 UI de eCG im (Grupo 400 UI).. En el día 8 del tratamiento se retiró los implantes a todos los animales. En el día 9 se administró 1mg de EB im en los tres grupos. Se consideró el día 10 como día del celo. En el Día 17, previo a la transferencia de embriones se realizó la palpación rectal con el objetivo de determinar la presencia de cuerpo lúteo. (tasa de aprovechamiento) en los tres grupos. Los embriones fueron colectados de donadoras de las razas nelore y brahman. La transferencia se realizó mediante la técnica no quirúrgica en el cuerno ipsilateral al cuerpo lúteo. Se realizó el diagnostico de preñez a los 23 días después de la transferencia mediante ultrasonografía (Sonovet 600). Los resultados se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Tasa de preñez en receptoras de embriones tratadas con DIB, EB, y eCG con 200 UI, 300 UI, 400 UI. administrado 5 días después de colocado el dispositivo intravaginal bovino. (DIB )

Grupos	200 UI eCG	300 UI eCG	400UI eCG
Número de Receptoras	38	34	32
Tasa de Aprovechamiento	76.3% (29/38) <sup>a</sup>	67.6% (23/34) <sup>a</sup>	81.2% (26/32) <sup>a</sup>
Tasa de preñez/transferidas	48.3% (14/29) <sup>a</sup>	47.8% (11/23) <sup>a</sup>	57.7% (15/26) <sup>a</sup>
Tasa de preñez/tratadas	36.8% (14/38) <sup>a</sup>	32.4% (11/34) <sup>a</sup>	46.9% (15/32) <sup>a</sup>

P>0,05

Los datos fueron analizados mediante la prueba de Chi cuadrado. No hubo diferencia estadística en la tasa de aprovechamiento, tasa de concepción y tasa de preñez final (P>0,05). Se concluye que las tres dosis de eCG utilizadas son igualmente efectivas cuando comparamos las tasas de aprovechamiento, concepción y preñez en vaquillas, existiendo sin embargo una diferencia numérica a favor de la dosis de 400 UI de eCG. Es necesario que se realicen otros experimentos con mayor número de animales.



**RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA DE DOADORAS ANGUS TRATADAS A PARTIR DO D9-D12 DO CICLO ESTRAL OU SUBMETIDAS AO CONTROLE DA EMERGÊNCIA DA ONDA FOLICULAR COM DIB 0,5 OU CIDR-B**

J.B.S. Borges, Souza Neto, R.L. e J.Braccini Neto  
Unidade de Reprodução de Bovinos, Faculdade de Veterinária  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Este experimento teve como objetivo avaliar as respostas superovulatórias de doadoras Angus que receberam um dispositivo intravaginal contendo 0,5g ou 1,9g de Progesterona (P4) em protocolos para o sincronização da emergência da onda folicular e compará-las com as alcançadas em fêmeas submetidas ao tratamento convencional de estimulação ovariana entre o 9º e o 12º dia do ciclo estral. Foram utilizadas 118 doadoras com idades variando entre 2 e 14 anos de idade, divididas em 3 grupos: D 9-12 (n= 55), DIB 0,5 (n= 30) e CIDR (n= 33). Para o controle da onda folicular, as vacas receberam 50mg de Progesterona, IM, (Progesterona, Lab. Rio de Janeiro, Argentina) e 2,5mg de Benzoato de estradiol, IM, (Estrogin, Farmavet, Brasil) associados a um dispositivo intravaginal contendo 1,9g (CIDR, Pfizer, Brasil) ou 0,5g (DIB, Syntex, Argentina) de P4. Os tratamentos superovulatórios iniciaram 4 dias após a colocação dos implantes ou entre 9º e 12º dia do ciclo estral. Para a estimulação ovariana, foram aplicadas doses de 400 a 600UI de FSH (Pluset, Laboratórios Calier, Brasil), em 8 doses decrescentes, com intervalos de 12 horas, e com aplicação de 150mcg de D(+)Cloprostenol, IM, (Ciclase, Syntex, Argentina) na manhã do terceiro dia. Os dispositivos de P4 foram retirados no momento da aplicação da última injeção de FSH. Todas as vacas foram inseminadas 12 e 24 horas após início da manifestação de estro, utilizando-se doses de sêmen com partidas previamente avaliadas. As coletas dos embriões foram realizadas 7 dias após a primeira IA e as estruturas coletadas avaliadas de acordo com a classificação recomendada pela IETS, como viáveis (graus 1, 2 e 3), degenerados e não fecundados. As médias obtidas foram comparadas utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5%. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1-** Produção de embriões de doadoras Angus de acordo com o protocolo superovulatório (Média.±DP).

	<b>D 9-12</b>	<b>DIB 0,5</b>	<b>CIDR-B</b>
Doadoras tratadas	55	30	33
Estruturas coletadas	10,4±6,6 <sup>a</sup>	11,1±6,6 <sup>a</sup>	9,8±7,0 <sup>a</sup>
Embriões viáveis	7,6±5,4 <sup>a</sup>	6,7±4,6 <sup>a</sup>	6,1±4,3 <sup>a</sup>
Grau 1	5,7±4,5 <sup>a</sup>	4,1±3,0 <sup>a</sup>	2,8±3,5 <sup>b</sup>
Grau 2	1,5±1,9 <sup>a</sup>	2,1±3,1 <sup>a</sup>	2,4±3,2 <sup>a</sup>
Grau 3	0,8±1,6 <sup>a</sup>	0,5±0,8 <sup>a</sup>	0,8±1,5 <sup>a</sup>
Degenerados	1,5±2,4 <sup>a</sup>	2,2±3,5 <sup>a</sup>	1,9±3,0 <sup>a</sup>
Não fecundados	1,3±3,4 <sup>a</sup>	2,2±2,8 <sup>b</sup>	1,9±4,2 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Médias seguidas de superíndices diferentes na mesma linha diferem significativamente (P<0,05)

Os resultados indicam que o número de estruturas coletadas e de embriões viáveis não difere entre os protocolos (P>0,05), mas as doadoras superovuladas a partir do D9-12 e as tratadas com DID 0,5 apresentaram maior número de embriões grau 1 (P<0,05). Conclui-se que a maior concentração de P4 no dispositivo CIDR-B provavelmente interferiu negativamente na qualidade dos embriões coletados de doadoras submetidas ao controle da emergência da onda folicular.

**SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS DE EMBRIONES TRATADAS CON CIDR,  
BENZOATO DE ESTRADIOL, D (+) CLOPROSTENOL, ASOCIADO O NO A eCG.**

J.M. Quezada<sup>1</sup>, J.J. Ortíz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> TECNOGENÉTICA, <sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. Santa Cruz, Bolivia.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en el protocolo de sincronización de celos en receptoras de embriones, para realizar Transferencia de Embriones a Tiempo Fijo (TETF). Se utilizaron 100 vaquillas mestizas *Bos indicus x Bos taurus*, de 18 a 24 meses de edad, con una condición corporal de 2.5 a 3.5 (escala de 1 a 5), seleccionadas por palpación rectal, debiendo tener por lo menos folículos palpables (> 8 mm). En el Día 0 todas recibieron un dispositivo intravaginal con P<sub>4</sub> (CIDR, 1,38 g de P<sub>4</sub> Pfizer Salud Animal, New Zealand) más 2 mg. de Benzoato de Estradiol (Syntex, Argentina). En el Día 8 los implantes fueron removidos, todas las vacas recibieron 150 µg. de D (+) cloprostenol (Cicloprost, Pharmavet, Argentina) y 52 animales al azar recibieron 200 U.I. de eCG (Novormon 5000, Syntex, Argentina), las 48 restantes no recibieron eCG. El Día 9 se inyectó a todas 1 mg. de Benzoato de Estradiol, No se realizó detección de celo y el día 17 fueron examinadas con un equipo de ultrasonografía (SonoVet 600, 5Mhz)) con el objetivo de determinar el tamaño del CL, aquellas con CL >80 mm<sup>2</sup> fueron transferidas usando embriones de la raza Brahman congelados en Etilenglicol 1,5 M. importados de Estados Unidos. Las tasas de aprovechamiento fue analizada mediante la prueba de Chi cuadrado y área de CL fue analizada mediante análisis de varianza.

**Tabla 1.** Tasas de aprovechamiento y área del Cuerpo Lúteo en receptoras de embriones sin eCG y con 200 UI de eCG

	<b>CON eCG</b>	<b>SIN eCG</b>
Número de Receptoras	52	48
Tasa de aprovechamiento % (1)	40/52 (76,92) <sup>a</sup>	26/48 (54,17) <sup>b</sup>
Area de C.L. (mm <sup>2</sup> ) (2)	202,24 <sup>a</sup>	171,00 <sup>a</sup>

(1) P < 0.05, (2) P > 0.05

Se concluye que la incorporación de 200 U.I. de eCG en los protocolos de sincronización de receptoras de embriones en la categoría estudiada aumenta la tasa de aprovechamiento, sin embargo no hubo diferencia significativa en el tamaño del cuerpo lúteo.

## RESPUESTA SUPEROVULATORIA ENTRE OVARIO DERECHO Y OVARIO IZQUIERDO EN VACAS DONANTES

D. Benavides Sanchez, J. Villareal, G. M. Brogliatti  
Centro Genético Bovino, Eolia, Libertad 6910, Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina.

Fisiológicamente las ovulaciones de las vacas ocurren con mayor frecuencia en el ovario derecho en una proporción de 60 a 40 con respecto al izquierdo (Raskosky et al. 1975, Brogliatti et al. CWSRB, 1995). El objetivo de este trabajo fue evaluar si la respuesta ovárica derecha o izquierda se comportan de la misma manera cuando se realiza un tratamiento de superovulación. Se realizó un análisis retrospectivo de registros de 1663 lavados uterinos realizados entre 2002 y 2007 a efectos de estudiar la respuesta ovárica derecha o izquierda en base al número de Cuerpos Lúteos (CL) y la Respuesta Folicular Total (RFT) observada en cada donante. Se evaluaron donantes de diferentes razas, Angus (1230), Brangus (70), Hereford (76), Braford (53), Holstein (31), Otras ((SP (26), LM (14), BZ (6), FL (6), JE (3)) en el CGB de Marcos Paz (BA). El tratamiento superovulatorio se realizó a todas las donantes con dispositivo intravaginal de progesterona por 7 días, 2 mg de de benzoato de estradiol im y 50 mg de progesterona IM al momento de colocar el dispositivo, 4 días después se aplican dosis decrecientes de FSH IM (Pluses o Folltropin) cada 12 horas durante 4 días, el día 6 las vacas recibieron dos dosis de cloprostenol 0.150 µg cada una con un intervalo de 12 horas, y se aplicó acetato de buserelina, 0.021mg el día 8, e inseminación artificial (IA) 12 y 24 horas. La evaluación de la respuesta ovárica se realizó 7 días después al momento del lavaje por medio de ultrasonografía transrectal, utilizando un transductor de 7.5 MHz. En esta se contaron el número de CL y la RFT (folículos mayores de 10 mm + CL). Los resultados se encuentran en las Tablas 1 y 2.

**Tabla 1:** Número y porcentaje de vacas con respuesta ovárica derecha o izquierda o igual para CL y RFT

n=	+ OD	= OD y OI	+ OI	TOTAL
CL	812	423	428	1663
RFT.	884	366	413	1663
% CL	0.49 <sup>a</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.26 <sup>b</sup>	1
% RFT	0.53 <sup>a</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.25 <sup>b</sup>	1

**Tabla 2:** Media y Desvío Standart de Cuerpos Lúteos y Respuesta Folicular Total según el lado ovárico

Variable	CL O.I	CL O.D	RFT O.I	RFT O.D
Media	4.92 <sup>a</sup>	5.48 <sup>b</sup>	6.21 <sup>c</sup>	6.94 <sup>d</sup>
DS	2.65	2.76	3.3	3.4

abcd Difieren significativamente p (bilateral) = 0,0001

En el análisis estadístico (prueba F) se encontró una diferencia significativa en el número de donantes que tenían el mayor ovulaciones del lado derecho 49%. Esto indica que el 49% de las donantes tuvo mayor respuesta ovulatoria (CL) en lado derecho que en lado izquierdo 26% o igual en ambos lados 25%. De la misma manera el 53% de las donantes posee una RFT mayor del lado derecho ( $p < 0.0001$ ) que del lado izquierdo 25%. Los resultados de la Tabla 2 nos indican que existe una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ) en el número de CL y RFT entre el ovario derecho y el izquierdo. Estos resultados nos permiten aumentar el conocimiento de la respuesta ovárica a la estimulación hormonal en los bovinos.

## RESPUESTA OVARICA Y NÚMERO DE EMBRIONES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS CON O SIN REGISTRO DE CELO PREVIO

A. García Guerra, J. Villareal, A. Albrecht, G. Brogliatti  
 Centro Genético Bovino, Eolia SA, Libertad 6910, Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina. E-mail:  
[alvarogg84@hotmail.com](mailto:alvarogg84@hotmail.com)

Ante la tediosa tarea de detección de celo y el seguimiento reproductivo de una donante, se ha establecido en los últimos años la tendencia a iniciar vacas sin conocimiento de celos previos. La respuesta ovárica puede ser incrementada y menos variable si el tratamiento de superestimulación con FSH exógena se inicia en el comienzo de la onda folicular (Bó. et. al., 1995). La sincronización de la onda folicular es inducida mediante el uso de un combinado de progesterona (P4) y estradiol (EB) promoviendo la emergencia de una nueva onda folicular 4 días después. El objetivo de este análisis retrospectivo fue evaluar la respuesta ovárica, el número de ovulaciones, número de embriones fertilizados y transferibles en vacas que comenzaron la sincronización posteriormente a un celo detectado (Grupo1) vs. aquellas que iniciaron la sincronización sin conocer el momento del ciclo (Grupo2). El estudio fue realizado a lo largo de 4 años en el Centro Genético Bovino, Pcia Bs. As., con donantes de diferentes razas (n= 854, 82% Angus). Se realizó la detección de celo 2 veces al día a fin de conocer el momento del ciclo. Las donantes recibieron un dispositivo intravaginal de P4 (DIB; Syntex, Arg.), 2 mg de EB y 50 mg de P4 (Syntex, Arg.) vía IM en el mismo día (Día 0). En el día 4, se inicio el tratamiento superestimulador con dosis decrecientes de FSH (Pluset; Callier, Esp., o Folltropin, Bioniche, Cn.) vía IM cada 12 h durante 4 días. En el día 6 se removieron los DIB, y las donantes recibieron dos dosis de cloprostenol con un intervalo de 12 h. Al detectarse el celo todas las donantes recibieron 2 mL de GnRH (Dalmarelin; Fatro Von Franken, Arg.) vía IM y fueron inseminadas 12 y 24 h después. Siete días después se procedió al lavaje y la evaluación de la respuesta ovárica como número de CL + folículos anovulatorios mediante ultrasonografía por vía transrectal utilizando un transductor de 7,5 MHz (Pie Medical). Los embriones recuperados fueron evaluados y clasificados de acuerdo al manual de la IETS. Las donantes fueron asignadas a los siguientes grupos. En el Grupo 1 se incluyeron las vacas cuyo último celo estaba registrado y en el Grupo 2 se incluyeron aquellas de las cuales no se tenía registro del último celo. El análisis de Kruskal-Wallis fue usado para comparar las variables entre los grupos y los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Respuesta ovárica, N° embriones fertilizados y transferibles en donantes iniciadas con o sin registro de celo

Grupo	Donantes (n=)	Respuesta ovárica (N° Fol. Anov + CL)	N° Ovulaciones	N° Emb. Fertilizados	N° Emb. Transferibles
1 (Con registro)	584	18,5 ± 9,2 <sup>a</sup>	15,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	9,5 ± 6,5 <sup>a</sup>	5,6 ± 4,2 <sup>a</sup>
2 (Sin registro)	270	15,0 ± 8,9 <sup>b</sup>	13,1 ± 7,7 <sup>b</sup>	7,8 ± 5,8 <sup>b</sup>	4,8 ± 3,5 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Valores con diferentes superíndices en cada columna difieren significativamente ( $P < 0.05$ ); media ± DS.

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para todas las variables evaluadas entre los grupos. El grupo 1 (vacas con registro del último celo), es decir aquellas en las que se conocía el momento del ciclo estral en que se encontraban fue siempre superior en todas las variables evaluadas. En conclusión, estos resultados indicarían la importancia de conocer la historia reproductiva y el celo previo al inicio del tratamiento podría mejorar la producción de embriones.

## RESPUESTA OVARICA Y NÚMERO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS CON DIFERENTE SCORE CORPORAL

A. García Guerra, D. Rodríguez, J. Villareal, A. Albrecht, G. Brogliatti  
 Centro Genético Bovino, Eolia SA, Libertad 6910, Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina. E-mail:  
[alvarogg84@hotmail.com](mailto:alvarogg84@hotmail.com)

El éxito de un programa de transferencia embrionaria esta influenciado por la respuesta ovárica, el numero de ovulaciones, fertilización y viabilidad embrionaria (Armstrong, 1993). Ha sido observado que donantes de alto score corporal y sobrepeso tienden a producir menor cantidad de embriones viables por colecta (Stroud and Hasler, 2006). El score corporal es uno de los tantos factores intrínsecos que afectan la reproducción en la hembra. Un análisis retrospectivo fue realizado para comparar la respuesta ovárica, el número de ovulaciones, numero de ovocitos fecundados y transferibles en vacas con distinto score corporal en Argentina. Este análisis fue realizado en los últimos 5 años en la provincia de Buenos Aires y se utilizaron donantes de diferentes razas ( $n = 909$ ; 82% Angus). Las donantes recibieron un dispositivo intravaginal de progesterona (DIB; Syntex, Arg.), 2 mg de benzoato de estradiol y 50 mg de progesterona (Syntex, Arg.) vía IM en el mismo día. En el día 4 post colocación del DIB, se inicio el tratamiento superovulatorio con dosis decrecientes de FSH (Pluses, Callier, Esp., o Folltropin, Bioniche, Cn.) vía IM cada 12 h durante 4 días. En el día 6 se removieron los DIB, y las donantes recibieron dos dosis de cloprostenol con un intervalo de 12 h. Al detectarse el celo todas las donantes recibieron 2 mL de GnRH (Dalmarelin; Fatro Von Franken, Arg.) vía IM y fueron inseminadas 12 y 24 h después. Siete días después se procedió al lavaje y la evaluación de la respuesta ovárica como numero de CL + folículos anovulatorios mediante ultrasonografía por vía transrectal utilizando un transductor de 7,5 MHz (Pie Medical). El score corporal fue determinado en el momento de la colecta utilizando una escala de 1 a 5. Los embriones recuperados fueron clasificados de acuerdo al manual de la IETS. El análisis de Kruskal-Wallis fue usado para comparar las variables entre los grupos y los resultados se muestran en la Tabla 1. La respuesta ovárica, el numero de ovulaciones y de embriones transferibles mostraron diferencias significativas entre los grupos de score ( $P = 0,0001$ ). Existe una correlación negativa (-0,2194) entre el score corporal y la respuesta ovárica. A mayor score corporal la respuesta ovárica disminuye. Finalmente, no se encontró diferencias significativas en referencia al total de embriones transferibles, sin embargo existe una tendencia a disminuir cuando el score crece.

**Tabla 1.** Score corporal vs. Respuesta ovárica, N° ovulaciones, N° ovocitos fecundados y transferibles en vacas donantes en Argentina

Score	Donantes (n=)	Respuesta ovárica (N° Fol. Anov +CL)	N°. Ovulaciones	N°. Ovocitos Fecundados	N°. Emb. Transferibles
2+	27	20,8 ± 10,1 <sup>a</sup>	16,1 ± 9,3 <sup>ab</sup>	11,7 ± 9,9 <sup>a</sup>	6,3 ± 5,9 <sup>a</sup>
3	349	18,7 ± 8,9 <sup>c</sup>	15,6 ± 7,9 <sup>b</sup>	9,6 ± 5,9 <sup>a</sup>	5,3 ± 3,8 <sup>a</sup>
4	425	16,4 ± 8,9 <sup>b</sup>	14,3 ± 7,8 <sup>a</sup>	8,6 ± 6,2 <sup>a</sup>	5,5 ± 3,9 <sup>a</sup>
5	108	14,9 ± 8,5 <sup>c</sup>	12,7 ± 7,6 <sup>c</sup>	7,2 ± 5,6 <sup>b</sup>	4,6 ± 3,5 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Valores con diferentes superíndices en cada columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ); media ± DS,

En conclusión, estos resultados indicarían que utilizando donantes de score corporal 2+ y 3 se obtendrían mejores respuestas a los tratamientos superovulatorios. Lo que demuestra la gran importancia de controlar el estado nutricional y el score corporal de las donantes. Estos resultados impulsan a realizar en el futuro un diseño experimental para fortalecer la validez de estos resultados.

## RESPUESTA OVÁRICA Y NÚMERO DE EMBRIONES EN DONANTES SUPERESTIMULADAS EN DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL

A. García Guerra<sup>1</sup>, G. A. Bó<sup>2</sup>, J. Villareal<sup>1</sup>, A. Albrecht<sup>1</sup>, G. Brogliatti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Genético Bovino, Eolia SA, Libertad 6910, Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> IRAC. E-mail: [alvarogg84@hotmail.com](mailto:alvarogg84@hotmail.com)

Uno de los mayores costos de la transferencia embrionaria es la variabilidad de la respuesta a los tratamientos superestimuladores (Armstrong, 1993). La respuesta ovárica puede ser mayor y menos variable si el tratamiento de superestimulación se inicia en el comienzo de la onda folicular (Bó et al., 1995). La sincronización de una nueva onda folicular (4 días después) es inducida mediante la combinación de progesterona (P4) y estradiol. El objetivo de este análisis retrospectivo fue evaluar la respuesta ovárica, el número de ovulaciones, número de embriones fertilizados y transferibles (calidad 1 y 2) en vacas que comenzaron la sincronización en distintos momentos del ciclo estral. El estudio fue realizado a lo largo de 4 años en el Centro Genético Bovino, (Bs.As.) con donantes de diferentes razas (n= 584, 88% Angus, 8% Shorthorn y Hereford, 4% Brangus). Se realizó la detección de celo 2 veces al día. Las donantes recibieron un dispositivo intravaginal con P4 (DIB 1g; Syntex, Arg.) más 2 mg de benzoato de estradiol (Syntex, Arg.) y 50 mg de P4 (Syntex, Arg.) vía IM en el mismo día (Día 0). En el Día 4, se inició el tratamiento superestimulador con dosis decrecientes de FSH (Pluset=468 UI, Callier, Esp., ó Folltropin= 300mg, Bioniche, Ca) vía IM cada 12 h durante 4 días. En el Día 6 se removieron los DIB, y recibieron dos dosis de cloprostenol con un intervalo de 12 h. Al detectarse el celo todas las donantes recibieron 2 mL de GnRH (Icirelina, 25µg/ml, Dalmarelin; Fatro Von Franken, Arg.) vía IM y fueron inseminadas 12 y 24 h más tarde. Siete días después se procedió a la colecta de embriones y la evaluación de la respuesta ovárica (número de CL + folículos anovulatorios) mediante ultrasonografía. Los embriones fueron clasificados según el manual de la IETS. Las donantes fueron asignadas a los siguientes grupos de intervalos: Grupo 1: se incluyeron las vacas que recibieron el DIB entre 4 y 7 días post celo (periodo de dominancia folicular), Grupo 2: entre los días 8 y 12 (surgimiento de la segunda onda folicular) y el Grupo 3: entre los días 13 y 21 post celo (dominancia folicular de la segunda onda). El análisis de Kruskal-Wallis fue usado para comparar las variables entre los grupos y los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Respuesta ovárica, N° embriones fertilizados y transferibles en donantes superestimuladas según estadio ovárico (media ± DS)

Grupo (Día Celo)	Don (n=)	Respuesta ovárica (N° Fol. Anov.+CL)	N° CL	N° Emb. Fertilizados	N° Emb. Calidad 1 y 2
1 (Día 4 a 7)	87	17,90 ± 7,65 <sup>ab</sup>	14,63 ± 6,43 <sup>ab</sup>	9,10 ± 6,10	4,85 ± 3,72
2 (Día 8 a 12)	361	19,38 ± 10,04 <sup>b</sup>	16,40 ± 9,07 <sup>b</sup>	10,01 ± 6,97	5,83 ± 4,38
3 (Día 13 a 21)	136	16,64 ± 7,37 <sup>a</sup>	13,73 ± 6,30 <sup>a</sup>	8,33 ± 5,18	5,23 ± 3,67

<sup>a-c</sup> Valores con diferentes superíndices en cada columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ )

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en la respuesta ovárica y el número de CL entre los grupos. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas en el número de embriones fertilizados y transferibles. El grupo 2 (vacas iniciadas entre el día 8 y 12), coincidente con el máximo crecimiento luteal, fue siempre numéricamente superior en todas las variables evaluadas. En conclusión estos resultados indican que no existen diferencias significativas, en el número de embriones fertilizados y transferibles, según el día de inicio de la sincronización.

## TITULACION DE DOSIS DEL EXTRACTO DE PITUITARIA OVINA OVAGEN® PARA LAS SUPERESTIMULACION DE VACAS DONANTES

G. Brogliatti<sup>1</sup>, A. Albrech<sup>1</sup>, J. Villarreal<sup>1</sup>, L. Cutaia<sup>2,3</sup>, G.A. Bó<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>EOLIA, <sup>2</sup>Syntex SA, <sup>3</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC).

El éxito de un programa de transferencia de embriones se mide por el número de terneros que nacen vivos por hembra donante en un determinado lapso de tiempo. Esto está influenciado por los factores relacionados con el número de ovulaciones, la fertilización y la viabilidad de los embriones (Armstrong, 1993). Sin embargo, uno de los costos mayores de la transferencia de embriones es la variabilidad de la respuesta a los tratamientos superovulatorios. Se realizó un experimento para determinar la dosis óptima del extracto de pituitaria Ovagen® (ICP Bio, Nueva Zelanda) para inducir la superestimulación de vacas donantes de embriones de razas británicas. Se utilizaron 60 donantes de embriones (Aberdeen Angus), múltiparas, ciclando y con una condición corporal entre 3.5 y 4.5 (Escala 1 al 5). Todas las donantes fueron tratadas el Día 0 con un dispositivo intravaginal DIB (1 g de Progesterona, Syntex, Argentina), junto con 2 mg. de EB (Benzoato de Estradiol, Syntex, Argentina) y 50 mg de progesterona (Laboratorio Río de Janeiro, Argentina). El Día 4 se inició el tratamiento superestimulador y las vacas fueron divididas al azar en 3 Grupos de tratamiento según la dosis total (mg) dividida en alícuotas decrecientes de NIADDK-oFSH-Z (Ovagen®) a recibir: Grupo Dosis Completa (100%)\*, 17,6 mg; Grupo ¾ Dosis (75%), 13,2 mg y Grupo ½ dosis (50%), 8,8 mg. Todas las vacas recibieron 2 inyecciones 150 µg de D+ cloprostenol (Ciclase, Syntex) en el Día 6 (am y pm). Los DIB fueron retirados en el Día 7 am. El Día 8 am, las vacas recibieron 0.05 mg de Lecirelina (Gonasyn, Syntex) por vía intramuscular. Se realizó la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) en el Día 8 pm y el Día 9 am con semen congelado de probada calidad. El día 15 se colectaron los embriones por método no quirúrgico y fueron evaluados por estadio de desarrollo y calidad. La respuesta superovulatoria fue evaluada por medio de ANOVA como CL totales, ovocitos fertilizados, infertilizados y degenerados; y embriones Grado 1, 2 y 3, (IETS). Los porcentajes hacen referencia a la dosis total recomendada por el laboratorio de origen

**Tabla N° 1** Resultados de las colectas de embriones en vacas donantes angus superestimuladas con distintas dosis\* de NIADDK-oFSH-Z (Ovagen®)

	Dosis 100%*	Dosis 75%*	Dosis 50%*	Valor p.
n	22	15	18	
CL (media ± SD)	12,0 <sup>a</sup> ± 6,5	10,9 <sup>a</sup> ± 7,5	5,7 <sup>b</sup> ± 3,5	0,01
Fertilizados (media ± SD)	6,6 <sup>a</sup> ± 6,7	6,9 <sup>a</sup> ± 6,4	1,8 <sup>b</sup> ± 2,1	0,01
Infertilizados (media ± SD)	3,9 ± 3,8	3,0 ± 3,3	2,0 ± 3,4	0,27
Grado 1 (media ± SD)	3,1 <sup>a</sup> ± 4,1	4,7 <sup>a</sup> ± 4,8	0,6 <sup>b</sup> ± 1,0	0,007
Grado 2 (media ± SD)	0,4 ± 1,1	0,0 ± 0,0	0,33 ± 0,59	0,29
Degenerados (media ± SD)	2,4 ± 2,4	2,2 ± 2,5	0,9 ± 1,3	0,09

abc indica diferencias significativas p=0,001

Se observa un aumento significativo de Cuerpos Lúteos totales al momento de la colecta para los grupos tratados con el 75 ó el 100% de la dosis, respecto del grupo con 50%, no habiendo diferencias entre los dos primeros (p=0,01). Se encontró también un número significativamente mayor de embriones fertilizados grado 1 para los grupos tratados con 75 ó 100% de la dosis frente al grupo con el 50% y no habiendo diferencias entre los dos primeros (p=0,007). Los resultados indican que es posible obtener una respuesta superovulatoria aceptable con dosis reducidas de Ovagen® en vacas donantes Angus.

## TASA DE PREÑEZ EN TRANSFERENCIA DE EMBRIONES UTILIZANDO UN NUEVO MEDIO DE TRANSFERENCIA SINTÉTICO (SYNGRO)

J.J. Ortiz<sup>1,2</sup>, J.M. Quezada<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> TECNOGENÉTICA, <sup>2</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz, Bolivia

El objetivo del presente estudio fue comparar la tasa de preñez de un nuevo medio de transferencia sintético que no requiere refrigeración (Syngro, Bioniche, USA) con un medio de transferencia convencional que si requiere refrigeración (Embriocare, Cultilab, Brasil). Este trabajo se realizó entre los meses de agosto a diciembre del 2006 en 4 establecimientos ganaderos dentro de un programa comercial de transferencia de embriones de las razas Nelore, Brahman, Gyr lechero y Criollo en el departamento de Santa Cruz, Bolivia. Para ello, 147 embriones viables fueron divididos en dos de forma equitativa considerando la calidad y el estado de desarrollo. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la prueba de chi cuadrado y se encuentran en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Tasas de preñez luego de la transferencia de embriones bovinos utilizando Syngro y Embriocare como medios de transferencia.

MEDIO	TRANSFERIDOS	PREÑADOS	%
Syngro	69	29	42,0 <sup>a</sup>
Embriocare	78	33	42,3 <sup>a</sup>

P < 0,05

Las tasas de preñez mínima y máxima se encuentran resumidas en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Tasas de preñez mínima y máxima utilizando Syngro y Embriocare en la transferencia de embriones bovinos.

MEDIO	TASA MÍNIMA	TASA MÁXIMA
Syngro	20,0	66,6
Embriocare	29,4	66,6

Concluimos que el nuevo medio de transferencia (Syngro, Bioniche, USA) presenta tasas de preñez similares al medio convencional utilizado para este experimento (Embriocare, Cultilab, Brasil) con la ventaja que el hecho de no necesitar refrigeración facilita el transporte y utilización del mismo.



## UTILIZACION DE SEMEN SEXADO EN PROTOCOLOS DE SUPERESTIMULACIÓN EN VACAS HOLSTEIN

E. Balla<sup>1</sup>, H. Tríbulo<sup>12</sup>, F. Barberis<sup>34</sup>, R. Tríbulo<sup>12</sup>, S. Barberis<sup>3</sup>, I. Reano<sup>1</sup>,  
M.F. Martínez<sup>1</sup>, G. A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>2</sup> Universidad Nacional de Córdoba, <sup>3</sup> Centro de I.A. y T.E. "La Lilia", <sup>4</sup> Universidad Nacional del Litoral.

E-mail: [eballa@iracbiogen.com.ar](mailto:eballa@iracbiogen.com.ar)

Se diseñaron 3 experimentos (Exp.) para evaluar la utilización de semen sexado en protocolos de superestimulación en vacas Holstein. Se utilizó un total de 44 vacas (20 en producción y 24 secas). En el Exp. 1, en el Día 0, las vacas recibieron un dispositivo CIDR (Pfizer, Argentina) con 5 mg de estradiol-17 $\beta$  y 100 mg de progesterona (Río de Janeiro, Argentina) im. En el Día 2 se aplicó 500 UI de eCG (Novormón 5000; Syntex) im. En el Día 4 se inició el tratamiento superestimulador con dosis decrecientes de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá) cada 12 h y durante 4 días (dosis total 400 mg NIH-FSH-P1). En el Día 6, se aplicaron 2 dosis de 150  $\mu$ g de D(+) cloprostenol (PGF; Ciclase; Syntex). En el Día 7,5 se removió el CIDR. En el Día 8,5 se inyectó 12,5 mg de pLH (Lutropin-V; Bioniche Animal Health Inc.) y se dividieron al azar en 2 grupos para ser IA 12 y 24 h después, con semen sexado o no sexado. El semen fue sexado a través del método de citometría de flujo. Las dosis de semen (sexado y no sexado) fueron confeccionadas del mismo eyaculado y todas tuvieron 10 millones de células totales. Los protocolos utilizados en los Exp. 2 y 3 tomaron como base el protocolo del Exp. 1. Las modificaciones en el Exp. 2 fueron las siguientes: en el Día 2 no se aplicó eCG, en el día 8,5 se reemplazó la aplicación de pLH por GnRH (0,050 mg de Lecirelina; Gestran Plus, Arsa) y se realizaron 3 IATF en ambos grupos (1 dosis 12 h, 2 dosis 18 h y 1 dosis 24 h después de la aplicación de GnRH). En el Exp. 3, se detectó celo y la GnRH se aplicó en el momento de su detección y las vacas fueron IA de la siguiente manera: el Grupo No Sexado 12 y 24 h posterior a la GnRH, con 1 dosis de semen en cada una y Grupo Sexado con 1 dosis a las 12 h, 2 dosis a las 18 h y con 1 dosis a las 24 h posterior a la GnRH). Los embriones (emb) de los 3 exp. fueron colectados en el Día 15. Los datos fueron analizados por ANAVA y se presentan en la Tabla 1. Los resultados de este trabajo demuestran que con la utilización de semen sexado con 10 millones de células totales por dosis, se obtiene menor cantidad de ovocitos fertilizados y embriones transferibles.

**Tabla 1.** Ovocitos/embriones totales colectados, ovocitos fertilizados y embriones transferibles en vacas Holstein (Media  $\pm$  EE).

Experimentos	Grupos	n	Ovocitos/ Emb.Totales	Ovocitos Fertilizados	Emb. Transferibles
Exp. 1	Sexado	12	7,58 $\pm$ 1,90	0,58 $\pm$ 0,34 a	0,58 $\pm$ 0,34
	No Sexado	12	8,67 $\pm$ 3,08	4,08 $\pm$ 1,94 b	3,58 $\pm$ 1,85
Exp. 2	Sexado	5	6,80 $\pm$ 3,15	0,00 $\pm$ 0,00 c	0,00 $\pm$ 0,00 c
	No Sexado	5	9,00 $\pm$ 2,76	6,00 $\pm$ 2,00 d	5,60 $\pm$ 2,09 d
Exp. 3	Sexado	5	11,20 $\pm$ 5,19	0,40 $\pm$ 0,24 a	0,40 $\pm$ 0,24 a
	No Sexado	5	7,20 $\pm$ 2,78	5,80 $\pm$ 2,15 b	5,60 $\pm$ 2,25 b
TOTAL	Sexado	22	8,23 $\pm$ 1,66	0,41 $\pm$ 0,19 e	0,41 $\pm$ 0,19 e
	No Sexado	22	8,41 $\pm$ 1,84	4,91 $\pm$ 1,22 f	4,50 $\pm$ 1,2 f

Valores con letras diferentes entre semen sexado y no sexado difieren significativamente (ab P<0,09; cd P<0,05; ef P<0,01).

## EFFECTO DE LA DURACION DEL TRATAMIENTO SUPEROVULATORIO UTILIZANDO DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DISTINTA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA

A. Tríbulo<sup>1</sup>, H. Tríbulo<sup>12</sup>, R. Tríbulo<sup>12</sup>, G. A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC) Jerónimo L. De Cabrera 106 X5000GVD- Córdoba, Argentina, <sup>2</sup> Universidad Nacional de Córdoba.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta superovulatoria de donantes de embriones, utilizando dos dispositivos intravaginales por dos periodos de tiempo. Se utilizaron 54 vacas y vaquillonas, de las razas Aberdeen Angus, Brangus y Limousin, con una condición corporal entre 3 y 3,5 (escala 1–5). En el Día 0, las donantes fueron bloqueadas de acuerdo a la dosis de Folltropin-V recibidas, y distribuidas al azar en 4 grupos en un diseño 2x2 factorial. Todas las donantes recibieron 2,5 mg de estradiol-17 $\beta$  (Lab. Río de Janeiro, Argentina) y 50 mg de progesterona im. (Lab. Río de Janeiro) y fueron divididas al azar para recibir un dispositivo intravaginal Pro-Ciclar (0,75 g de Progesterona, Zoovet, Argentina) o DIB (1 g de Progesterona, Syntex, Argentina). En el Día 4, las donantes en cada grupo fueron subdivididas nuevamente al azar en dos tratamientos. Las donantes en el primer grupo (Tratamiento de 15 días) recibieron a partir del Día 4 por la mañana 400 a 360 (Vacas Angus y Limousin), 280 (vacas Brangus) o 360 a 260 mg (vaquillonas Angus y Limousin) NIH-FSH-P1 de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá) cada 12 h y durante 4 días. En el Día 6, recibieron dos dosis de 150  $\mu$ g de D(+) cloprostenol (PGF, Ciclar, Zoovet, Argentina), el Día 7 por la mañana se retiró el dispositivo y 24 h más tarde se aplicó GnRH (0,050 mg de Lecirelina, Gestran Plus, Arsa, Argentina). Las donantes fueron inseminadas a tiempo fijo con semen congelado/descongelado 12 y 24 h después de la GnRH. Las donantes del otro grupo (Tratamiento de 16 días) recibieron el mismo tratamiento de las del Grupo 1, excepto que todas las inyecciones se comenzaron a administrar 12 h después que en primer grupo. De esta manera, el tratamiento con Folltropin-V comenzó en el Día 4 por la tarde, la PGF fue administrada en el Día 6 por la tarde y Día 7 por la mañana, el dispositivo fue retirado el Día 8 por la mañana, la GnRH el Día 9 por la mañana y todas fueron inseminadas a tiempo fijo 12 y 24 h después de la GnRH. Los datos fueron analizados por ANAVA. No se encontraron diferencias significativas en las diferentes variables estudiadas ( $P > 0,1$ , Tabla 1). Se concluye que ambos dispositivos evaluados son aptos para la utilización en protocolos de superovulación por 15 o 16 días.

**Tabla 1.** Respuesta superovulatoria (medias  $\pm$  EE) de donantes de embriones tratadas por dos tratamientos de distinta duración con distinta concentración de progesterona.

Dispositivo	Día	n	CL	Ova/Embriones Totales	Fertilizados	Embriones G1 y G2	Embriones G1, G2 y G3
DIB	15	13	11 $\pm$ 1,5	5,7 $\pm$ 1,4	5,1 $\pm$ 1,3	3,3 $\pm$ 0,8	3,9 $\pm$ 1
	16	14	12,5 $\pm$ 1,8	7,3 $\pm$ 1,5	5,4 $\pm$ 1,1	3,6 $\pm$ 0,8	3,9 $\pm$ 0,8
Prociclar	15	14	15,2 $\pm$ 3	11,6 $\pm$ 3,2	6,6 $\pm$ 2	4,8 $\pm$ 1,3	5,4 $\pm$ 1,5
	16	13	14,2 $\pm$ 1,4	7,9 $\pm$ 1,7	5,4 $\pm$ 1,5	4,1 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1,5
Efectos Principales	15	27	13.2 $\pm$ 1.6	8.8 $\pm$ 1.8	5.9 $\pm$ 1.2	4.1 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 0.9
	16	27	13.3 $\pm$ 1.1	7.6 $\pm$ 1.1	5.4 $\pm$ 0.9	3.8 $\pm$ 0.6	4.4 $\pm$ 0.8
DIB		27	11,8 $\pm$ 1,1	6,6 $\pm$ 1,0	5,3 $\pm$ 0,8	3,4 $\pm$ 0,6	3,9 $\pm$ 0,6
Prociclar		27	14,7 $\pm$ 1,5	9,8 $\pm$ 1,9	6 $\pm$ 1,2	4,4 $\pm$ 0,8	5,2 $\pm$ 1,0

Las medias no difieren ( $P > 0,1$ )

## EFECTO DE LA DURACION DEL TRATAMIENTO SUPEROVULATORIO UTILIZANDO UN DISPOSITIVO CON PROGESTERONA Y FOLLTROPIN-V SOBRE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES DE DONANTES ANGUS Y BRANGUS

A. Tríbulo<sup>1</sup>, H. Tríbulo<sup>12</sup>, R. Tríbulo<sup>12</sup>, G. A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC) Jerónimo L. De Cabrera 106 X5000GVD- Córdoba, Argentina, <sup>2</sup> Universidad Nacional de Córdoba.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta ovárica y la producción de embriones de hembras de razas Angus y Brangus, tratadas con un dispositivo con progesterona, benzoato de estradiol y Folltropin-V por dos períodos de tiempo. Se utilizaron 30 vacas y 3 vaquillonas Angus y 5 vacas Brangus, con una condición corporal entre 3 y 3,5 (escala 1-5). En el Día 0, todas las donantes recibieron un dispositivo intravaginal (0,75 g de Progesterona, Prociclar, Zoovet, Argentina), 2 mg de benzoato de estradiol im. (Benzoato, Zoovet, Argentina) y 50 mg de progesterona im. (Progesterona, Río de Janeiro, Argentina). Las donantes fueron bloqueadas de acuerdo a la dosis de Folltropin-V recibidas y distribuidas al azar en 2 grupos. Las hembras donantes del Grupo 1 (Tratamiento de 15 días) recibieron a partir del Día 4 a.m. un total de 360 a 400 mg (Vacas) o 260 a 360 mg (vaquillonas) NIH-FSH-P1 de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá) dividido en 8 dosis (12 h de intervalo durante 4 días). En el Día 6, recibieron dos dosis (a.m.- p.m.) de 150 µg de D(+) cloprostenol (PGF, Ciclar, Zoovet, Argentina), el Día 7 a.m. se retiró el dispositivo y el Día 8 a.m. se aplicó GnRH (0,050 mg de Lecirelina, Gestran Plus, Arsa, Argentina). Las hembras donantes fueron inseminadas a tiempo fijo con semen congelado/descongelado 12 y 24 h después de la GnRH. Las donantes del Grupo 2 (Tratamiento de 16 días) recibieron el mismo tratamiento que las del Grupo 1, pero todas las inyecciones se comenzaron a administrar 12 h después que el Grupo 1. De esta manera, el tratamiento con Folltropin-V comenzó en el Día 4 p.m., la PGF fue administrada en el Día 6 p.m. y Día 7 a.m., el dispositivo fue retirado el Día 8 a.m., la GnRH el Día 9 a.m. y todas fueron inseminadas a tiempo fijo 12 y 24 h después de la GnRH. Los embriones fueron colectados 7 días después de la administración de GnRH (Día 15 ó 16, respectivamente) y fueron clasificados según las normas de la IETS. Los datos fueron analizados por ANAVA. A pesar que se encontraron más CL ( $P < 0,05$ ) en las vacas tratadas por 16 días, no se encontraron diferencias entre los grupos en el número y calidad de los embriones obtenidos ( $P > 0,6$ ). Se concluye que ambos tratamientos pueden ser utilizados para la superovulación de donantes de embriones bovinos de razas para carne.

**Tabla 1.-** Respuesta superovulatoria (medias  $\pm$  EE) de donantes de embriones tratadas con dos tratamientos de distinta duración.

Tratamiento	n	CL	Ova/embriones Totales	Fertilizados	Embriones Gr. 1 y 2	Embriones Gr. 1, 2 y 3
<b>15 días</b>	38	10,7 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	7,6 $\pm$ 1,2	5,8 $\pm$ 0,9	3,9 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 0,7
<b>16 días</b>	38	13,1 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	7.5 $\pm$ 0,9	4,8 $\pm$ 0,7	3,5 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,7

*ab* Valores con letras distintas indican diferencias significativas ( $P = 0,0497$ )

## SUPERESTIMULACION DE LA PRIMERA ONDA FOLICULAR EN DONANTES DE EMBRIONES BONSMARA, SIN EL USO DE ESTRADIOL

D. Carballo Guerrero, R. Tríbulo, H. Tríbulo, E. Balla, A Tríbulo, M. Piccardi, G.A. Bó  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC),  
J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD), Córdoba, Argentina

El protocolo de superovulación más utilizado en donantes de embriones a nivel mundial consiste en la aplicación de estradiol y progesterona, para sincronizar el comienzo de una onda folicular e iniciar el tratamiento con FSH. No obstante, hay una creciente resistencia a nivel mundial en el uso de estrógenos en animales. Por lo tanto, se realizó un experimento con el objetivo de evaluar un tratamiento alternativo al de estradiol y progesterona, utilizando la primera onda de desarrollo folicular. Para este trabajo se utilizaron 68 donantes de embriones (29 vacas y 39 vaquillonas) de raza Bonsmara, con una condición corporal (CC) promedio de 3,5 (escala del 1 al 5) que fueron asignadas al azar a dos grupos de tratamiento. Las donantes del grupo control recibieron en el Día -4 (Día 0, inicio de la superestimulación) un dispositivo intravaginal con 1,56 g de progesterona (Cue-Mate, Bioniche Animal Health, Canadá), 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Bioestradiol, Biotay SA, Argentina) y 50 mg de progesterona (Laboratorio Río de Janeiro, Argentina). El Día 0 se comenzó la superestimulación con 320 mg (Vacas) o 200 mg (vaquillonas) NIH-FSH-P1 de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá) cada 12 h y durante 5 días. Las donantes recibieron además 150 µg de D(+) cloprostenol im (PGF, Bioprost, Biotay, Argentina) junto con las dos últimas aplicaciones de Folltropin-V, se retiró el Cue-Mate con la última aplicación de Folltropin-V. Se aplicó 12,5 mg pLH (Lutropin-V, Bioniche Animal Health) 24 h después. Las donantes fueron inseminadas 12 y 24 h después de la pLH y los embriones colectados 7 días después. El grupo experimental (Sin E2) recibió en el Día -13 un Cue-Mate junto con una dosis de PGF im y en el Día -3 se retiró el dispositivo y se aplicó PGF im. En el Día -1.5 se aplicó 0,050 mg de Lecirelina (GnRH, Gestrán Plus, Arsa SRL, Argentina). En el Día 0 se insertó un nuevo Cue-Mate y se comenzó con el tratamiento superestimulador con Folltropin-V, de la misma manera que en el grupo control. La aplicación de PGF, remoción del Cue-Mate, pLH, inseminaciones y colección de embriones fueron realizadas de la misma manera que en el grupo control. Se analizaron los datos por ANAVA (Infostat, UNC). No se encontraron efectos significativos en los factores evaluados, categoría animal ( $P=0,2783$ ), semen utilizado ( $P=0,5000$ ) y grupo de tratamiento ( $P=0,1979$ ). Los resultados de este experimento demuestran que la superestimulación de la primera onda folicular es una alternativa viable en circunstancias en las cuales no hay estradiol disponible en el mercado.

**Tabla 1.** Respuesta superovulatoria en vacas y vaquillonas Bonsmara superestimuladas en la primera onda folicular, sin el uso de estradiol (E2) para sincronizar la onda folicular.

Gupos de tratamiento		n	Ovocitos/ Embriones totales	Fertilizados	Embriones Grado 1 y 2	Embriones Grado 1, 2 y 3
Vacas	Control	14	11,3 ± 2,1	7,1 ± 1,8	5,4 ± 1,6	6,2 ± 1,6
	Sin E2	15	10,1 ± 2,5	6,4 ± 2,1	3,3 ± 1,1	4,1 ± 1,3
Vaq.	Control	20	10,9 ± 1,9	5,7 ± 1,4	3,8 ± 1,0	4,4 ± 1,1
	Sin E2	19	7,2 ± 1,4	4,2 ± 1,1	2,8 ± 0,8	3,3 ± 0,9

No hay diferencias significativas ( $P>0,19$ ).

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE CIPIONATO DE ESTRADIOL AL MOMENTO DEL RETIRO DE UN DISPOSITIVO CON PROGESTERONA O BENZOATO DE ESTRADIOL 24 H MÁS TARDE EN PROGRAMAS DE TRANSFERENCIA DE EMBRIONES A TIEMPO FIJO.**

D. Carballo Guerrero, R. Tríbulo, E. Balla, A. Tríbulo, M. Piccardi, H. Tríbulo, G.A. Bó  
 Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
 J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD)  
 Córdoba, Argentina

Este trabajo se realizó con el fin de simplificar los tratamientos de sincronización de la ovulación en programas de transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF), utilizando cipionato de estradiol (ECP) o benzoato de estradiol (EB) como inductores de la ovulación. Para esto se utilizaron 150 vacas cruzas, ciclando y con una condición corporal (CC) promedio de 3,5 (escala de 1 a 5). En el Día 0 se les realizó la determinación de status ovárico por ecografía (100 Falco, Pie Medical, 8 MHz) y los animales que tenían un CL fueron seleccionados para recibir un dispositivo auricular con 3 mg de norgestomet (Crestar, Intervet, Brasil) más la aplicación de 2 mg de valerato de estradiol (EV) y 1,2mg de norgestomet im (Crestar, Intervet, Brasil). En el Día 8 se realizó el retiro de los Crestar y se aplicó 400 UI de eCG im (Folligon, Intervet), más 150 µg de D (+) cloprostenol im (Preloban, Intervet) y las receptoras fueron divididas al azar en dos grupos de tratamiento, para recibir 1 mg de ECP (Konig, Argentina) im al momento del retiro del dispositivo (Grupo ECP) o 1 mg de benzoato de estradiol (EB, Intervet, Brasil) 24 h después de retirado el dispositivo. En el Día 17 se les realizó ecografía a todas las vacas para determinar la presencia y tamaño del CL y todas aquellas con un CL >14mm de diámetro recibieron un embrión en el cuerno ipsilateral. Se analizaron los datos por regresión logística (Infostat, UNC). No se encontraron efectos significativos en los factores evaluados, tamaño de CL (P=0,7471), grupo de tratamiento (P=0,8758, Tabla 1), ni operador (P=0,6418). Estos resultados demuestran que la utilización de ECP al momento del retiro implante Crestar es una alternativa confiable para la simplificación de los tratamientos de sincronización de la ovulación en TETF.

**Tabla 1.** Evaluación del uso de cipionato de estradiol (ECP) al momento del retiro de un implante Crestar o benzoato de estradiol (EB) 24 h más tarde en programas de TETF.

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Tasa de aprovechamiento (%)</b>	<b>Tasa de concepción (%)</b>
<b>EB</b>	75	59/75 (78,7 %)	13/29 (44,8 %)
<b>ECP</b>	75	58/75 (77,3 %)	14/28 (50,0 %)

Los porcentajes no difieren (P=0,8438)

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ECG DOS DÍAS PREVIOS AL INICIO DE LA SUPERESTIMULACION EN DONANTES DE EMBRIONES CON ANTECEDENTES DE BAJA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS TRADICIONALES**

D. Carballo Guerrero, A. Tríbulo, R. Tríbulo, E. Balla, H. Tríbulo, P. Chesta, L. Cutaia, M. Piccardi, I. Reano, J. M. Jerez, G. A. Bó.  
Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)  
J.L. de Cabrera 106 (X5000GVD), Córdoba, Argentina

Existe un porcentaje de donantes de embriones que tienen baja respuesta a los tratamientos superovulatorios o que la bajan paulatinamente por algún motivo (Mapletoft et al., 2007). Este trabajo se realizó con el objetivo de aumentar la respuesta superovulatoria en este tipo de animales. Se utilizaron donantes de embriones Angus con historia de bajas repuestas superovulatorias ( $\leq 3$  embriones transferibles) que fueron superovuladas con dos tratamientos superestimulatorios. El tratamiento control (sin eCG) consistió en la aplicación de 5 mg de  $17\beta$  estradiol im (Laboratorio Río de Janeiro, Argentina) más 100 mg de progesterona im (P4, Laboratorio Río de Janeiro) y la inserción de un dispositivo intravaginal con 1 g de progesterona (DIB, Syntex SA, Argentina) en el Día 0. En el Día 4 se comenzó la superestimulación con 400 mg o 360 mg NIH-FSH-P1 de Folltropin-V (Bioniche Animal Health Inc., Canadá), cada 12 h y durante 4 días. Las donantes recibieron además 150  $\mu$ g de D(+) cloprostenol im (PGF, Bioprost, Biotay, Argentina) junto con la quinta y sexta aplicación de Folltropin-V (Día 6), se retiró el DIB con la séptima aplicación de Folltropin-V (Día 7 a.m.) y se aplicó 0,050 mg de Lecirelina (GnRH, Gestran Plus, Arsa SRL, Argentina) 24 h después. Las donantes fueron inseminadas 12 y 24 h después de la GnRH y los embriones colectados 7 días después. El tratamiento experimental (con eCG) consistió también en la aplicación de 5 mg de  $17\beta$  estradiol im más 100 mg de progesterona y la inserción del DIB en el Día 0, pero además en este tratamiento se aplicó 500 UI de eCG (Novormon, Syntex SA) en el Día 2. La aplicación de Folltropin-V, PGF, el retiro del DIB, la GnRH, la inseminación y la colecta de los embriones se realizaron de la misma manera que en el tratamiento control. Se analizaron los datos por medio de la prueba T de Student para datos apareados (Infostat, UNC). El tratamiento con eCG resultó en una mayor cantidad de CL palpados en el día de la colecta ( $P=0,0049$ ), ovocitos/embriones colectados ( $P=0,0068$ ), ovocitos fertilizados ( $P=0,0005$ ), embriones congelables (Grado 1 y 2,  $P=0,0003$ ) y embriones transferibles (Grado 1, 2 y 3,  $P=0,0002$ ) que en el tratamiento sin eCG. Con estos resultados se puede concluir que la aplicación de eCG dos días previos al tratamiento superovulatorio es una alternativa interesante en donantes con antecedentes de baja producción de embriones.

**Tabla 1.** Efecto de la aplicación de eCG dos días previos al inicio del tratamiento superovulatorio en vacas donantes de embriones Angus con historia de baja respuesta.

Tratamiento	n	CL	Ovocitos/ embriones totales	Fertilizados	Grado 1+2	Grado 1+2+3
Sin eCG	26	8,5 $\pm$ 1,1	3,1 $\pm$ 0,7	1,5 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,2
Con eCG	26	12,0 $\pm$ 1,3	7,7 $\pm$ 1,5	4,4 $\pm$ 0,7	3,5 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,6
Valor de P		0,0049	0,0068	0,0005	0,0003	0,0002



**TEMA B: BOVINOS**

---

**B 3: TEMAS VARIOS**





## EFECTOS DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DE SINCRONIZACION DE PARTOS EN GANADO BOVINO DE CARNE

J. A. Carbel.

Universidad Nacional La Rioja, Docente en IFDC Olta Pcia La Rioja,  
Secretaría de Ganadería La Rioja, Centro de Biotecnología Don Pedro.

Se realizó el trabajo para comparar la eficacia del método de inducción de partos que utiliza un corticoide de acción inmediata utilizando Dexametasona (Ganagro) y un agente luteolítico prostaglandina F2 alfa (D+Cloprostenol; Ciclar, ZooVet, Argentina) con el que además incluye la aplicación de un corticoide de larga acción Triamcinolona (Vetalog, Novartis) para medir la sincronía y los efectos de los mismos como agentes desencadenantes del trabajo de parto y el nacimiento de los terneros. Se utilizaron 24 hembras mestizas, receptoras de embriones adaptadas a la región árida riojana, implantadas con embriones Aberdeen Angus Negros y Colorados, que fueron divididas al azar en 2 grupos de tratamiento de 12 animales cada uno. A los animales del primer grupo (Grupo 1), en el día 274 de gestación, se les colocó, por la mañana (am), 1 mg de Triamcinolona cada 60 Kg./pv. i.m. A los 279 días de gestación, am se aplicó 25 mg. de Dexametasona i.m. y 150 µg de prostaglandina i.m. En cambio, a los animales del segundo grupo (Grupo 2), en el día 274 de gestación, a.m. se les colocó 5 mL de solución fisiológica i.m. Al día 279 de gestación, am los animales fueron tratados de la misma forma que los animales del Grupo 1. Los datos como intervalo de tiempo de la inducción al parto fueron analizados por el Test T de Student y los porcentajes de retención de placentas, peso al nacer y partos con ayuda fueron comparadas por Chi-cuadrado.

**Tabla 1.** Comparación de tratamientos de sincronización de partos que combinan la utilización de corticoides y un agente luteolítico.

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>P</b>
<b>n</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	
% de retención placenta	<b>0</b>	<b>0</b>	
Día de parto	<b>274</b>	<b>274</b>	
Día de inducción	<b>279</b>	<b>279</b>	
Intervalo Inducción–Parto (hs)	<b>24,85±5,09</b>	<b>43,71±8,0</b>	<b>&lt;0,001</b>
Peso al nacer (Kg)	<b>30,88±3,26</b>	<b>31,00±3,90</b>	
Partos con ayuda (%)	<b>1/13 (7,69 %)</b>	<b>6/11 (54,54%)</b>	<b>0,66</b>

Los resultados demuestran que con la utilización de Triamcinolona los partos se producen en un intervalo significativamente menor de tiempo. No se encontró diferencia significativa entre grupos en cuanto a los partos con ayuda. Ambos tratamientos no presentaron retención de placenta. Por lo observado, recomendaríamos el uso del primer tratamiento ya que cumpliría con los objetivos planteados en el presente trabajo.

**SEGUIMIENTO DE LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL, EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL Y ECOTEXTURA TESTICULAR EN TOROS CEBÚ *BRAHMAN* ENTRE 18 Y 24 MESES DE EDAD.**H. Lozano<sup>a</sup>, C. Jiménez<sup>a</sup><sup>a</sup>Universidad Nacional de Colombia, Reproducción Animal Cra. 30 # 45-03 Bogota.E-mail: [hlozanoma@unal.edu.co](mailto:hlozanoma@unal.edu.co) ; [cjimeneze@unal.edu.co](mailto:cjimeneze@unal.edu.co)

La presente investigación se realizó con el objeto de llevar a cabo un seguimiento de la medición de la circunferencia escrotal, evaluación de la calidad seminal y ultrasonografía testicular en 460 toros de la raza cebú Brahman (*Bos indicus*) entre los 18 a 21 y los 21 a 24 meses de edad, con intervalo de 3 meses entre cada evaluación, en 18 fincas en 3 diferentes regiones de Colombia (Suramérica). Cada evaluación reproductiva incluyó medición de la circunferencia escrotal (CE) y de las vesículas seminales (VS), análisis de la calidad del semen en color, concentración, morfología y motilidad espermáticas; evaluación por ultrasonido (6 MHz) de testículos, epidídimos y cordones espermáticos. Se determinó el peso corporal en cada una de las dos evaluaciones y las evaluaciones reproductivas (BSE) se realizaron con base en el sistema de la Sociedad Americana de Teriogenología (SFT) 1993 clasificándose como reproductores potenciales reproductores satisfactorios o no satisfactorios. Para evaluar los efectos de la edad y la zona sobre las características morfométricas (peso, CE, VS) y del eyaculado (motilidad masal, motilidad individual progresiva y morfología espermática) se llevó a cabo un análisis de regresión simple ( $p < 0.0001$ ); mientras que el grado de asociación entre la edad y estas variables se llevó mediante un análisis de correlación simple de Pearson ( $p < 0.05$ ). Los promedios de CE, Motilidad masal, Motilidad individual progresiva y Morfología espermática se presentaron usando estadística descriptiva. Las variables discretas (color del semen, concentración espermática, observaciones, ecotextura testicular y toros aprobados reproductivamente o no aprobados, se analizaron a través de histogramas de frecuencias complementados con una prueba de Chi cuadrado relacionando la frecuencia de la presentación de la variable con la edad. Los datos se analizaron a través del programa estadístico SAS. Se encontró una alta correlación (0.6477,  $P < 0.0001$ ) entre la edad y el peso corporal de los animales evaluados, al igual que entre la CE y el peso corporal. Los análisis de regresión mostraron que en cada zona la edad afectó significativamente ( $P < 0.0001$ ) la (CE), la motilidad individual progresiva (MIP), la motilidad masal (MM), las (VS), y la morfología espermática (ME). El incremento mensual en CE fue estimado en 0.928, 0.874 y 0.801 cm. para las zonas 1, 2 y 3 respectivamente. La CE promedio fue de  $26,0 \pm 1.3$ ,  $28.1 \pm 2.2$ ,  $29.3 \pm 2.7$ ,  $30.1 \pm 2.5$ ,  $30.9 \pm 1.9$ ,  $31.4 \pm 2.3$  y  $33.2 \pm 1.9$  cm. a los 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 meses de edad respectivamente. El porcentaje de morfología espermática anormal fue del 26 y 17% para la primera y segunda evaluaciones reproductivas respectivamente, siendo las cabezas sueltas y el enrollamiento proximal de la cola las principales anomalías encontradas. La ecotextura testicular, epididimal y de cordones espermáticos fue considerada normal para la primera evaluación reproductiva en un 99.3%, apreciando como anormales toros que mostraron ausencia de red testicular o colas del epidídimo y los cuales no fueron incluidos para la segunda evaluación reproductiva. Durante la segunda evaluación este porcentaje de apariencia normal fue del 99.7% para la totalidad de los toros de las 3 zonas evaluadas, siendo el principal hallazgo la presencia de hidrocele solo apreciable por ultrasonido pero no a la palpación testicular. Esta investigación permitió establecer información con base en los resultados obtenidos, acerca de las principales características sexuales de toros jóvenes en pastoreo, en tres diferentes zonas de Colombia. Se confirmó la hipótesis acerca de la correlación entre edad, peso corporal y las diferentes variables que hacen parte de una evaluación reproductiva (BSE) en los toros evaluados. Un alto porcentaje de toros no cumplieron con los requisitos mínimos para ser considerados satisfactorios en su potencial reproductivo. En conclusión, toros *Brahman* que crecen en condiciones de pastoreo tienen una menor CE y deberían ser evaluados a una mayor edad o los estándares para esta característica reproductiva deberían ser modificados para esta raza. Con base en esta investigación se podrían generar otros trabajos tales como la determinación de la pubertad y madurez sexual en toros jóvenes.

## MEDICIÓN DE PARÁMETROS ESPERMÁTICOS DE TOROS CRIOLLOS VS. OTROS *Bos taurus* EN ARGENTINA

M. G. Lüssenhoff, G. Larraburu, R. Cavia, D. Rodríguez, A. García Guerra, G. M. Brogliatti  
Centro Genético Bovino EOLIA S.A  
Libertad 6910, Marcos Paz, Buenos Aires, Argentina

El bovino criollo es la raza más antigua de las que existen en América y en el mundo. Su origen se remonta a los primeros vacunos traídos por Cristóbal Colón. Se destacan por su rusticidad y longevidad. Su variabilidad genética es otra de las ventajas para ser tenida en cuenta en las cruces pues asegura un mayor vigor híbrido. Los objetivos de este estudio fueron determinar mediante el Análisis Computarizado de semen (CASA) parámetros de Motilidad y morfología espermática de semen de toros Criollos (oriundos del Parque Nacional Los Glaciares, Patagonia, Argentina) vs. Semen de otros *Bos taurus*. Un total de 29 eyaculados de diferentes toros adultos (A. Angus y Hereford) y 25 eyaculados de toros Criollos fueron evaluados en el Centro de Inseminación Artificial entre Diciembre de 2004 y Diciembre de 2005. La colecta de semen se realizó por el método de electroeyaculación (EE) en ambas razas. El semen fresco fue diluido en un diluyente químicamente semidefinido (Andromed, Minitub, Alemania) y congelado en un freezer automático (Digicool, IMV, Francia). El extendido para morfología se realizó con eosina/nigrosina y fue evaluado en un microscopio óptico con contraste de fases. Mediante el espermógrafo computarizado (CASA HTM-ceros 12.1, Berkley, CA, USA) se determinaron los siguientes parámetros: Volumen, Concentración Total (CONC), Motilidad (%), Motilidad progresiva (%), Velocidad Crucero (VAP;  $\mu\text{m/s}$ ), Velocidad progresiva (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ), Velocidad Curvilínea (VCL;  $\mu\text{m/s}$ ), Linearidad (LIN; %). Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el test One-Way Anova y están resumidos en la siguiente tabla:

**Tabla 1:** Comparación de motilidad espermática entre semen de toros Criollos y otros *Bos taurus* analizados en el CASA.

Raza	Vol.	CONC (M/ml)	Motilidad (%)	Motilidad Progres (%)	VAP ( $\mu\text{m/s}$ )	VSL ( $\mu\text{m/s}$ )	VCL ( $\mu\text{m/s}$ )	LIN (%)
Criollos	6,2 <b>b</b>	988,3	67,8	44,7	140,0 <b>a</b>	106,9	260,7 <b>a</b>	42,8 <b>b</b>
Otros <i>Bos taurus</i>	8,4 <b>a</b>	989,2	67,1	49,4	128,5 <b>b</b>	104,2	229,6 <b>b</b>	47,7 <b>a</b>

Los resultados del análisis de motilidad espermática indican que no hay diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en CONC.; % Motilidad; % Motilidad Progresiva y VSL entre semen de toros Criollos y otros *Bos Taurus*. El semen de los toros criollos tuvo una velocidad de crucero significativamente mayor (VAP y VCL) y no así la linealidad (LIN) que fueron menores. Hubo una diferencia significativa en el Volumen colectado entre ambas razas. En cuanto a morfología espermática el semen de toros Criollos se encuentra en el límite máximo aceptado para defectos de cabeza (cabezas sueltas) (15 %). Estos resultados sugieren que el semen de los toros criollos no difiere demasiado de los demás toros *Bos Taurus* sin embargo se muestran diferencia de velocidad y linealidad que deberían ser estudiadas en el futuro.

Reseña realizada en el Centro Genético Bovino EOLIA S.A.; Argentina

## EFFECTO DE LA ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE VACAS DE TAMBO

G.A. Domínguez<sup>1</sup>, L.V. Madoz<sup>2,3</sup>, M. Magnasco<sup>1</sup>, R.P. Magnasco<sup>1</sup>, R.L. de la Sota<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Estudio Magnasco, 9 de Julio 265. Canals. X2650BXC. Córdoba. <sup>2</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. B1900AVW, Buenos Aires.

<sup>3</sup>CIC, Calle 526 y 11. La Plata B1900ABC.

<sup>4</sup>E-mail: [luzbel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:luzbel@fcv.unlp.edu.ar)

El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación entre la endometritis subclínica (ES) y el intervalo parto-concepción (IPC) en vacas lecheras. Se realizó un estudio longitudinal en un tambo comercial en la provincia de Buenos Aires en el que se usaron 786 vacas que parieron entre 1º Febrero y 31º Diciembre 2006. Las mismas no contaban con antecedentes de partos anormales, metritis puerperal, piómetra, terapia intrauterina, terapia hormonal o tratamiento antibiótico sistémico. Cada vaca fue examinada una vez entre los 34 y 47 días postparto (dpp) para el diagnóstico de endometritis clínica (EC) durante la visita mensual al tambo. En este examen, se evaluó el color, olor y proporción de mucus y pus del flujo vaginal (flujeo); y se lo clasificó en: mucus claro (0, [NOR]), predominantemente claro con flóculos de pus (1, [EC1]), purulento sin olor fétido (2, [EC2]), purulento o rojo amarronado con olor fétido (3, [EC3]). Luego del examen clínico, a una de cada tres vacas diagnosticadas NOR (n=175) se le realizó el diagnóstico de ES por citología endometrial (CE). El mismo clínico recolectó todas las muestras de Cytobrush (CB), estas fueron tomadas usando cepillos colectores endocervicales (Medibrush XL®, Medical Engineering Co, SA) que fueron cortados aproximadamente 5 cm de largo y enroscados en una pistola de CB de acero inoxidable especialmente diseñada para este fin. Para proteger la pistola de la contaminación vaginal, la misma fue cubierta con una vaina plástica descartable. La vulva era higienizada con toallas de papel y la pistola de CB era colocada en la base del cuerno mayor, pasando a través del cérvix, donde el cepillo era expuesto de la vaina y se realizaba la toma de muestra dando un giro al CB en sentido de las agujas del reloj sobre la pared uterina. El cepillo luego era retraído dentro de la vaina y retirado el CB del útero. Posteriormente, cada cepillo con la muestra era rotado sobre un portaobjetos limpio y fijado con alcohol etílico. Las muestras fueron teñidas con la Tinción 15® (Biopur) y el grado de inflamación endometrial fue evaluado por medio del conteo mínimo de 200 células a 400x aumentos y expresado como porcentaje de neutrófilos (PPMN). El criterio diagnóstico para ES fue  $\geq 10\%$  de neutrófilos en muestras de CE colectadas entre los 34-47 dpp. Al finalizar el período de espera voluntaria (50 dpp), las vacas con flujo normal (NOR) fueron observadas dos veces al día para la detección de celo e IA (inseminación artificial) según regla AM/PM. Todas vacas IA fueron examinadas por palpación transrectal para diagnosticar preñez a los 35-65 días post IA. Las variables categóricas fueron analizadas con el procedimiento CATMOD y las continuas con el procedimiento GLM de SAS®. Al examen, 77% (603/786) de las vacas fueron diagnosticadas NOR, 11% (85/786) EC1, 11% (83/786) EC2, y 2% (15/786) EC3. El 15% (27/175) de las vacas sin EC muestreadas presentaron ES antes de finalizar el periodo de espera voluntaria (50 dpp). Las vacas con ES tuvieron un mayor IPC comparado con vacas sin ES ( $124.8 \pm 13.1$  vs.  $96.8 \pm 5.3$  d,  $P < 0.05$ ) y un menor porcentaje de vacas preñadas a los 120 dpp (77.5% [62/82] vs. 46.5% [6/13],  $P < 0.02$ ). En conclusión, las vacas diagnosticadas con ES por CB entre los 34 y 47 dpp tuvieron un IPC 28 días más largo y un 31% menos de probabilidades de quedar preñadas a los 120 dpp comparado con vacas sin ES.

## FERTILIDAD EN LECHERÍAS DE LA ZONA CENTRAL Y SUR DE CHILE

C. Vergara<sup>1</sup>, M. Duchens<sup>2</sup><sup>1</sup>ABS Chile, Departamento de Servicios Técnicos;<sup>2</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Santiago, Chile[mduchens@uchile.cl](mailto:mduchens@uchile.cl)

La producción lechera en la zona central de Chile y en parte en la zona sur, tiende a hacerse más intensiva, basándose en sistemas con confinamiento permanente o durante la mayor parte del año. En general son sistemas de alta producción y altos costos de producción. En estas condiciones se ha observado una disminución de la fertilidad en la medida que las condiciones se hacen más intensivas. El Departamento de Servicios Técnicos de ABS-Chile ha iniciado un programa de asistencia, que se basa en coleccionar y procesar información de las lecherías adscritas, realizar evaluaciones del desempeño reproductivo, y capacitación, con el fin de mejorar la producción de preñeces en los rebaños. El presente estudio tiene como objetivo mostrar información preliminar de indicadores reproductivos en lecherías de la zona Central y Sur de Chile. Se coleccionó información desde 6 lecherías con confinamiento permanente y parcial, que accedieron a presentar sus datos. Las pariciones, y por lo tanto las inseminaciones y manejos reproductivos, se mantenían estables durante el año. Las vacas se ordeñaban 3 veces en el día. La ración se basaba en alfalfa (como heno, entregado fresco o ensilada) y ensilaje de maíz, suplementada con concentrados. Se entregaban diferentes raciones de acuerdo a la producción, número de la lactancia y estado productivo (lactante, seca, parto). Todas las lecherías utilizaban el programa Dairy Comp 305, desde el cual se extrajo la información actualizada a inicios de abril de 2007.

En la siguiente se presenta la información reproductiva más relevante de los 6 rebaños:

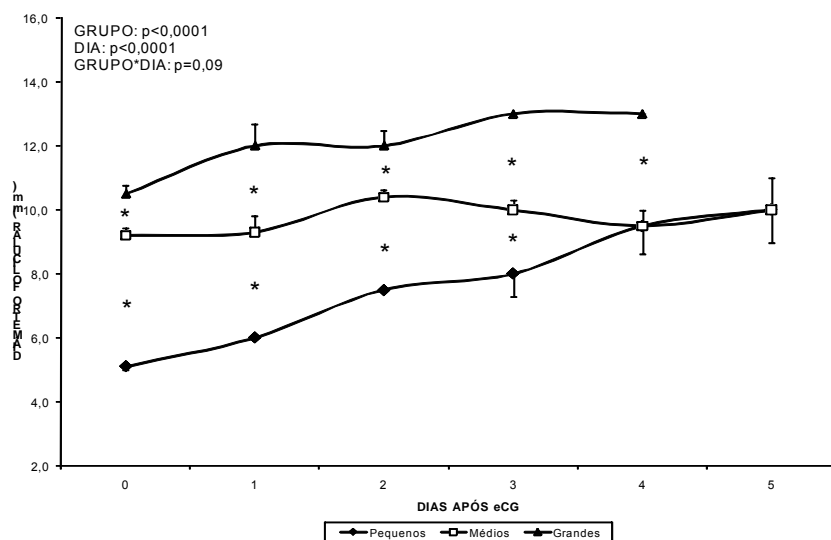
Lechería	1	2	3	4	5	6
Total de vacas	364	650	793	553	436	868
Producción 305 EM	8896	7204	17510	11201	9679	7495
Tasa de detección de celo (%)	21	29	53	40	45	42
Tasa de preñez (%)	14	14	14	14	20	18
Tasa de concepción (%)	62	45	29	37	42	44

Ponderando por el total de vacas (3664) se observa una tasa de detección de celos de 40%, una tasa de preñez de 16% y un tasa de concepción de 41%, equivalente a 2,4 servicios por preñez. Aún cuando se observa amplia variabilidad, en general estos resultados son comparables a los observados en países con similares características de ganado y de sistemas de producción. La fertilidad es inferior a la descrita en la zona sur del país, donde las condiciones de producción son menos intensivas. Los esfuerzos del Departamento para mejorar la fertilidad varían para cada caso, pero en general están orientados a aumentar el número de vacas inseminadas, capacitando al personal y utilizando manejos reproductivos más agresivos. Este trabajo se hace en coordinación con el veterinario asesor. Se espera mejorar estos indicadores a través de la asistencia técnica y que más lecherías se integren al programa, donde se evalúe permanentemente la eficiencia reproductiva y se tomen medidas oportunamente.

## DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS DE CORTE ENTRE 12 E 14 MESES DE IDADE APÓS O EMPREGO DE eCG

J.F. Bragança, R. Ferreira, R. Bohrer, L.F. Borges, J.F. Oliveira e P.B. Gonçalves  
 Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal (BioRep),  
 Universidade Federal de Santa Maria/RS/Brasil.  
 e-mail: bayard@biorep.ufsm.br

O presente trabalho avaliou o efeito do eCG, em diversas fases do crescimento folicular, objetivando maior crescimento folicular e responsividade ao GnRH. Foram utilizadas 24 novilhas cruzas (*Bos indicus* x *Bos taurus*), 12-14 meses, condição corporal 3-4 e peso vivo médio de 280kg. Os animais foram pré-sincronizados com duas aplicações de prostaglandina, (DL Cloprostenol; Ciosin-Shering-Plough Coopers) com um intervalo de 14 dias. Dez dias após a manifestação do estro todos os folículos maiores de 5mm foram aspirados utilizando um transdutor setorial de 7,5MHz acoplada a uma guia de biópsia e um aparelho de ultra-som Pie-Medical Scanner 200, objetivando a emergência de uma nova onda folicular. Após a ablação folicular, foi realizado um monitoramento do crescimento folicular por ultra-sonografia transrectal (sonda linear de 8MHz) a cada 24h e os folículos foram desenhados para facilitar o monitoramento de cada folículo em dias consecutivos. Os animais foram distribuídos em três grupos, para receber 400UI de eCG (IM; Syntex Argentina) nas fases de emergência (5-6mm; n=4), seleção (8-9mm; n=5) ou dominância folicular (>10mm; n=4). Foi formado um quarto grupo (grupo controle; n=6) sem eCG, apenas tiveram sua dinâmica folicular acompanhada. A partir desse momento, a dinâmica folicular foi avaliada até um diâmetro folicular maior que 10mm, para uma melhor responsividade ao GnRH. O diâmetro folicular foi comparado utilizando um modelo de análise para dados repetidos (PROC MIXED; SAS) sendo os efeitos principais grupo e hora e a interação grupo x hora determinados assim como a diferença do diâmetro folicular entre os grupos em cada hora (ESTIMATE STATEMENT; SAS). Novilhas que receberam eCG no momento da emergência de uma onda folicular (folículos pequenos; 5mm) não apresentaram um folículo maior do que 10mm para responder ao GnRH ao final de 72h (0/4 novilhas), tendo um comportamento similar ao grupo controle (sem eCG;  $P>0,05$ ). Por outro lado, os grupos médios e grandes apresentaram folículos com diâmetro superior a 10mm 72h após a aplicação de eCG (8/9 novilhas; Fig. 1). Esses achados evidenciam que os folículos com diâmetro superior a 8mm no momento do eCG atingem o tamanho ideal para responder ao GnRH. No entanto, como em programas de sincronização se utiliza animais em estádios aleatórios do ciclo estral, aqueles animais que apresentam folículos pequenos no início da aplicação dos tratamentos não respondem à aplicação de GnRH, independente da administração prévia de eCG.



**Figura 1** – Crescimento folicular após a aplicação de eCG em folículos pequenos (5mm), médios (8,5mm) e grandes (>10mm) de novilhas de 12 a 14 meses de idade.

## ADMINISTRACION DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL DE PROGESTERONA EN VACAS EN ANESTRO DURANTE EL SERVICIO NATURAL PARA ADELANTAR LA CONCEPCION

M. Colombo<sup>1</sup>, P. DeVillafañe<sup>1</sup>, G. Cledou<sup>2</sup>, J. Bartolome<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Actividad Privada, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Biogénesis-Bagó, Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, La Pampa, Argentina

El objetivo fue evaluar el porcentaje de preñez una semana post tratamiento en vacas en anestro tratadas con un dispositivo de progesterona durante el servicio natural. El trabajo se realizó en un rodeo de cría de la provincia de Buenos Aires con parición estacionada en tres meses y con servicio de primavera. Se utilizaron vacas y vaquillonas de primer parto de razas británicas. Durante el servicio natural (2% de toros) se examinaron vacas por palpación rectal y se clasificaron en anestro superficial en base a un criterio pre-establecido (Bartolome et al., 2006). Las vacas fueron asignadas al azar al Grupo TRIU-B (n=152) a recibir un dispositivo de progesterona (TRIU-B Cronipres 3 usos, Biogénesis Bagó) por 7 días o Grupo Control (n=144) sin tratamiento. Al momento del tratamiento se registro la categoría de animal (vaca o vaquillona), la presencia de ternero (si, no) y la condición corporal (<4.0, ≥4.0) en escala de 1 a 9. Se realizó el diagnóstico de preñez a los 42 días de retirado el dispositivo para detectar gestaciones de 35 a 42 días en el grupo tratado y 35 a 49 días en el grupo control. La variable dependiente fue concepción (si, no) y las variables independientes fueron grupo (TRIU-B, control), categoría (vaca, vaquillona), ternero (si, no), condición corporal (<4.0, ≥4.0) y fueron analizadas por Chi-cuadrado para el análisis univariado y por regresión logística para el efecto del grupo sobre la concepción ajustando por demás variables utilizando el procedimiento backward elimination (Proc Logistic, SAS). No hubo diferencia en la distribución de las distintas variables por grupo y el porcentaje de preñez fue de 28.3% para el Grupo TRIU-B y 18.0% para el Grupo Control (P<0.03) en el análisis univariado. En la Tabla se presentan los porcentajes de concepción, razón de riesgo (RRA), intervalo de confianza (IC) de 95% y valor P para el riesgo de no concepción para las variables que permanecieron en el modelo estadístico.

	Concepción % (N)	RRA	IC 95%	Valor P
<b>Grupo</b>				0.03
TRIU-B	28.3 (43/152)	Ref.	Ref.	
Control	18.0 (26/144)	1.86	1.06-3.25	
<b>Condición Corporal</b>				0.005
≥ 4.0	28.7 (52/181)	Ref.	Ref.	
< 4.0	14.8 (17/115)	2.39	1.29-4.41	

El riesgo de no-concepción durante los 7 días post-tratamiento fue 1.86 veces mayor para vacas controles que para vacas tratadas con TRIU-B y 2.39 veces mayor para vacas con condición corporal < a 4.0 que para vacas con condición corporal ≥ a 4.0. Por lo tanto concluimos que el tratamiento con progesterona durante el servicio natural en vacas en anestro aceleró la concepción.



## PROGESTÁGENOS ASSOCIADOS À ESTROGENOS INDUZEM A ATRESIA DE FOLÍCULOS COM BAIXA DEPENDÊNCIA DE GONADOTROFINAS

L. Siqueira, R. Ferreira, R. Loguercio, L.F. Borges, J.F. Oliveira, P.B. Gonçalves  
 Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal (BioRep),  
 Universidade Federal de Santa Maria/RS/Brasil.  
 e-mail: [bayard@biorep.ufsm.br](mailto:bayard@biorep.ufsm.br)

Em bovinos, aparentemente a biodisponibilidade de IGF-I e estradiol intra-folicular são responsáveis por manter o crescimento do folículo dominante durante o processo de divergência. Neste momento, a concentração de FSH está diminuindo para níveis basais e o LH não tem um papel evidente durante o processo de seleção folicular. Protocolos que associam progestágenos ao estradiol para induzir regressão folicular destes folículos “dependentes do sistema IGF”, aparentemente causam apenas modificações endócrinas em um sistema entendido como sendo exclusivamente autócrino/parácrino. Se esta hipótese estiver correta, estes folículos “não responsivos” provavelmente ovularão oócitos envelhecidos, prejudicando os resultados de fertilidade. Este experimento foi conduzido para avaliar a dinâmica folicular de vacas com baixas concentrações plasmáticas de progesterona endógena, que receberam três tratamentos diferentes de progestágenos associados ao benzoato de estradiol (BE), antes (5-7mm), durante (8-10mm) ou depois (>10mm) do momento esperado da divergência folicular. Trinta e seis vacas (60-90 dias pós-parto), amamentando em condição corporal 3 (1-caquético; 5-obeso), receberam 2 doses de cloprostenol (IM; 12/12 horas). Quarenta e oito horas após a primeira dose, todos os folículos >5mm foram removidos e o exame ultrassonográfico transretal foi realizado a cada 24h (transdutor linear de 8MHz) até o dia 7 (Dia 0 = tratamento). Quando o maior folículo atingiu o diâmetro entre 5-7, 8-10 ou >10mm, os animais foram aleatoriamente alocados para receber 2mg de BE (IM) associados à pessários vaginais contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP), com ou sem a administração de 100mg de progesterona (P4; IM) ou pessários vaginais contendo P4 em um experimento fatorial 3x3. Os tratamentos induziram a regressão folicular em todas as vacas, independente do tamanho folicular no momento de aplicação dos tratamentos. Não houve interação entre grupos de tratamento e tamanho folicular nas variáveis tamanho máximo, tempo para atingir o tamanho máximo, regressão folicular, emergência de nova onda ou tempo em platô (tabela 1). As vacas tratadas com pessários vaginais impregnados com MAP ou P4 apresentaram dinâmica folicular semelhantes. Em conclusão, independentemente do tamanho folicular, vacas com folículos em crescimento apresentam respostas semelhantes na regressão do folículo dominante quando tratadas com BE e progestágenos.

**Tabela 1-** Efeito de tratamentos com progestágenos em diferentes momentos da dinâmica folicular.

Efeitos	Tam. Max	Dias p/ Max.	Platô	Regressão	Emergência	
Tratamento	MAP	9,2±0,25 <sup>a</sup>	1,5±0,29 <sup>a</sup>	1,9±0,45 <sup>a</sup>	3,4±0,26 <sup>a</sup>	4.1±0.23 <sup>a</sup>
	P4	9,4±0,27 <sup>a</sup>	1,8±0,39 <sup>a</sup>	1,8±0,29 <sup>a</sup>	3,6±0,43 <sup>a</sup>	4.9±0.35 <sup>ab</sup>
	MAP+P4	9,2±0,25 <sup>a</sup>	1,3±0,35 <sup>a</sup>	3,3±0,35 <sup>b</sup>	4,5±0,23 <sup>b</sup>	5.3±0.33 <sup>b</sup>
Momento	Pré-divergência	7,5±0,25 <sup>x</sup>	2,3±0,30 <sup>x</sup>	1,7±0,26 <sup>x</sup>	3,9±0,36 <sup>x</sup>	4.8±0.35 <sup>x</sup>
	Divergência	9,3±0,26 <sup>x</sup>	1,6±0,28 <sup>x</sup>	2,2±0,33 <sup>x</sup>	3,7±0,24 <sup>x</sup>	4.7±0.37 <sup>x</sup>
	Pós-divergência	11,0±0,26 <sup>x</sup>	0,6±0,24 <sup>y</sup>	3,3±0,52 <sup>y</sup>	3,9±0,39 <sup>x</sup>	5.0±0.33 <sup>x</sup>

a,b e x,y diferem na mesma coluna (P<0,05)

## EFFECTO DE UN PRIMING DE PROGESTERONA SOBRE LA TASA DE CICLICIDAD EN VAQUILLONAS DE 15 MESES DE EDAD

P. Chesta<sup>1</sup>, A. Brandan<sup>2</sup>, G. Cuestas<sup>1</sup>, P. Lozano<sup>2</sup>, H. Tríbulo<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); <sup>2</sup>Actividad Privada;

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba

[pchesta@iracbiogen.com.ar](mailto:pchesta@iracbiogen.com.ar)

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de un priming de progesterona (P4) 40 o 20 días previos al inicio de un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), sobre la tasa de ciclicidad en vaquillonas de 15 meses de edad. Se utilizaron 547 vaquillonas cruza índica de 15 meses de edad, con una condición corporal entre 3 y 3,5 (escala del 1 al 5). Todas fueron revisadas por ultrasonografía (Chison Vet 500, 5 Mhz) para determinar el status ovárico 40 días antes, y en el día de inicio de un programa de IATF (Día -40 y Día 0). Las vaquillonas fueron divididas en tres categorías según el status ovárico: 1) aquellas que tenían un cuerpo lúteo (CL); 2) las que no presentaban cuerpo lúteo, con folículos mayores a 8 mm de diámetro (fol > 8 mm); y 3) las que no presentaban cuerpo lúteo y con folículos menores a 8 mm de diámetro (fol < 8 mm). Luego de determinar el status ovárico, las vaquillonas fueron divididas en tres grupos de tratamiento de forma tal que cada uno de ellos, contuvieran proporciones semejantes de los status ováricos presentes. *Grupo -40* (n=180) recibieron en el Día -40 un dispositivo Pro – Ciclar (0,75 g de P4, Zoovet, Argentina) durante 8 días y en el momento de la remoción se aplicó 1 mg de Benzoato de Estradiol im (EB, Zoovet, Argentina;). *Grupo -20* (n=177) recibieron en el Día -20 un dispositivo Pro – Ciclar durante 8 días y en el momento de la remoción se aplicó 1 mg de EB im. *Grupo Control* (n=190) no recibió tratamiento previo a la IATF (Tabla 1). Las proporciones fueron analizadas utilizando Chi cuadrado.

**Tabla 1.** Grupos de tratamiento.

Grupos	n	Tratamiento
<b>Grupo -40.</b>	180	Priming de P4 en el Día -40
<b>Grupo -20.</b>	177	Priming de P4 en el Día -20
<b>Grupo Control.</b>	190	Sin Priming de P4

Se observó en el Día 0 mayor cantidad de vaquillonas con CL en el grupo tratado con un Pro-Ciclar 40 días previos a la IATF (P=0,003) con respecto al grupo control.

**Tabla 2.** Porcentajes de vaquillonas con CL en la ultrasonografía del Día -40 y la del Día 0 según el grupo de tratamiento.

	n	US Día -40	US Día 0
<b>Grupo -40</b>	180	65,6 % (118/180)	81,7 % a (147/180)
<b>Grupo -20</b>	177	65,0 % (115/177)	79,7 % ab (141/177)
<b>Control</b>	190	66,8 % (127/190)	67,9 % b (129/190)
<b>P</b>		0,927	0,003

Estos datos indican que un priming de P4 con un dispositivo intravaginal de 0,75 g 40 días antes de la IATF, en vaquillonas cruza índicas de 15 meses de edad, aumenta la cantidad de animales con presencia de CL al momento de inicio del tratamiento de sincronización.

**PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CLÍNICA EN UN TAMBO COMERCIAL Y SU EFECTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA**M. Magnasco<sup>1</sup>, R.P. Magnasco<sup>1</sup>, R.L. de la Sota<sup>2,3</sup><sup>1</sup>Estudio Magnasco, 9 de Julio 217. Canals. X2650BXC. Córdoba.<sup>2</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. B1900AVW, Bs. As. E-mail: [luzbel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:luzbel@fcv.unlp.edu.ar)

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la prevalencia de endometritis clínica (EC) y su efecto sobre la eficiencia reproductiva en un tambo bajo condiciones de explotación comercial. Se realizó un estudio longitudinal en el que se utilizaron 3014 vacas Holando Argentino de 1° lactancia (n=1484) y de  $\geq 2^\circ$  lactancias (n=1530) paridas entre el 1 de enero de 2005 y el 30 de junio de 2006. A cada animal incluido en el estudio se le realizó el diagnóstico de EC mediante la evaluación del flujo vaginal-flujeo-entre 15 a 50 días posparto durante la visita mensual al establecimiento. Para efectuar dicho examen, se realizó el examen de la vagina y cervix con la mano recubierta de un guante largo descartable lubricado para obtener una muestra del flujo vaginal en la palma de la mano. El flujo recogido fue evaluado por su color, proporción de pus y mucus y olor; y fue clasificado en cuatro categorías, 1) flujo claro y limpio: flujo normal (MVO), 2) flujo claro con flóculos de pus (<50% pus): endometritis tipo 1 (MV1), 3) flujo purulento inodoro (>50% pus: endometritis tipo 2 (MV2), y 4) flujo purulento fétido: endometritis tipo 3 (MV3). Los animales diagnosticados con MV0, MV1 y MV2 no fueron tratados y los animales diagnosticados con MV3 fueron tratados con prostaglandina (PGF; cloprostenol, 0.150 mg, Ciclase®, Syntex SA) y antibiótico parenteral (ATB; oxitetraciclina, Terramicina LA®, Pfizer). Todas las vacas fueron re-examinadas dentro de los 25-60 días posteriores al primer examen. Los animales diagnosticados por segunda vez con MV1, MV2 y MV3 fueron tratados con PGF y ATB en forma similar a la primera vez. A todos animales diagnosticados con MV0 y MV1 después de cumplido el período de espera voluntaria (60 días), se les detectó celo dos veces por día durante ½ hora y fueron IA con la regla am-pm. El diagnóstico de gestación se realizó por palpación rectal a los 35-65 días post IA. A los animales vacíos, se les aplicó una dosis de PGF y fueron IA a celo detectado con la regla am-pm. A los animales que no presentaron celo, se les repitió una segunda dosis de PGF a los 14 días después de la primera y fueron IA a celo detectado con la regla am-pm. Cada vez que se realizó el examen ginecológico se evaluó la condición corporal (CC, escala 1 a 5). Solo se analizaron los datos correspondientes al 1° tratamiento post diagnóstico. Los datos fueron analizados con PROC CATMOD y PROC GLM de SAS®. Luego de depurar los registros y eliminar registros incompletos o con errores (n=518), solo se incluyeron en el análisis 2496 animales (1° lactancia, n=1176;  $\geq 2^\circ$  lactancias, n=1320). Las vacas tuvieron una menor prevalencia de EC comparado con las vaquillonas (13% vs. 21%,  $P<0.01$ ) y se encontraron diferencias significativas en prevalencia de EC durante las estaciones ( $P<0.01$ ). Al segundo diagnóstico, el 77% de los animales con MV1 y el 61% de los animales con MV2 se habían auto-curado; y el 64% de los animales con MV3 se habían curado. Mientras que a los 150 dpp, el 78% de las vacas MV0 estaban preñadas, solo el 71%, el 70% y el 57% de las vacas MV1, MV2 y MV3 estaban preñadas ( $P<0.01$ ). El intervalo parto-concepción (IPC) también fue demás corto para las vacas con MVO ( $112.3\pm 1.3$ ) que para las vacas con MV1 ( $121.3\pm 4.5$ ), MV2 ( $138.7\pm 6.4$ ) y MV3 ( $149.5\pm 21.0$ ;  $P<0.01$ ). En conclusión, vacas con MV3 tuvieron un 64% de cura y las vacas con MV1 y MV2 un 77% y 65% de auto-cura. Además, las vacas con flujos MV3 tuvieron un IPC 37 días más largo y un 21% menos de preñez a los 150 dpp que las vacas con flujos MV0.

## EFFECTOS DE LOS ALTOS NIVELES DE UREA EN EL FLUIDO UTERINO SOBRE EL TEJIDO ENDOMETRIAL EN VACAS VACIAS

Rabaglino, M. B. <sup>1</sup>; Magariños, M. J.<sup>1</sup>; Orias, F. <sup>2</sup>

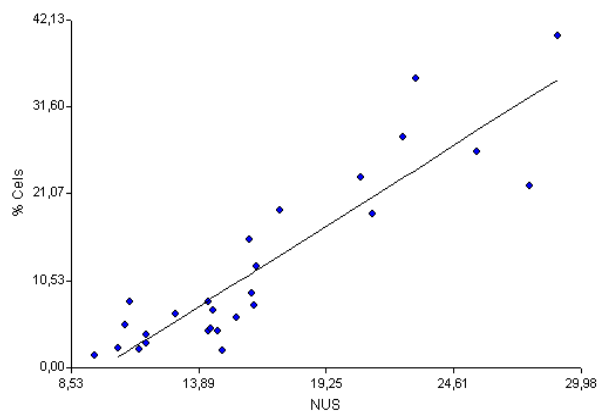
<sup>1</sup>Cátedra de Reproducción Animal, <sup>2</sup>Cátedra de Producción Lechera  
Facultad de Agronomía y Veterinaria - Universidad Nacional de Río Cuarto  
Ruta Nac. 36 - Km. 601 - CP X5804BYA - Río Cuarto, Córdoba, Argentina  
E-mail: [brabaglino@ayv.unrc.edu.ar](mailto:brabaglino@ayv.unrc.edu.ar)

Los animales en pastoreo ingieren excesos de proteína degradable en rumen (PDR), provocando un incremento en la concentración de nitrógeno ureico en sangre (NUS) y leche (NUL) lo cual esta asociado a una disminución en la fertilidad y menor tasa de concepción cuando los niveles exceden los 20 mg/dl. El objetivo del presente trabajo fue determinar si los altos niveles de NUS, que conduce a altas concentraciones de urea y NH<sub>3</sub> en el fluido uterino, pueden alterar el tejido endometrial y el medio ambiente intrauterino. Para ello se utilizaron 8 vacas cruzas británicas que fueron divididas al azar en 2 grupos (n=4). A partir Del día 0 a un grupo (BPD: baja PDR) se le suministró una dieta con bajos niveles de PDR y altos niveles de carbohidratos no estructurales (CNE), de manera que el valor de NUS nunca superara 20 mg/dl, mientras que el otro grupo (APD: alta PDR) recibió una dieta rica en PDR y moderada en CNE, de manera de provocar un incremento en el valor de NUS, y por ende en el tejido uterino (Tabla 1). Semanalmente, comenzando el Día 0, a ambos grupos se les extrajo sangre para la determinación del NUS y se les realizó citología endometrial hasta las 2 semanas posteriores al Día 14 (cuando la concentración de NUS superó los 20 mg/dl en el grupo de alta PDR). Al inicio (Día 0) y final del experimento (Día 28) se tomaron muestras de biopsia endometrial para histopatología. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente por Regresión Lineal. Se encontró que a medida que se acrecienta la concentración de NUS se produce un aumento en el porcentaje de células endometriales descamadas hacia la luz uterina ( $R^2=0.82$ ,  $P<0,0001$ ; Figura 1). Histológicamente se hallaron signos inflamatorios a nivel del estrato compacto en las biopsias endometriales tomadas al final del estudio, ya que en estas se observó una elevada infiltración de células mononucleares (más de 300 células promedio por campo a 400X). Se concluyó que los excesos de PDR en la dieta producen una alteración del ambiente uterino, reflejado por la alta descamación de las células epiteliales endometriales. Esto podría ser un factor que disminuya la eficiencia reproductiva al dificultar el reconocimiento materno de la preñez y la nutrición del embrión en los primeros estadios de desarrollo.

**Tabla 1:** Composición de la dieta

<u>Ingrediente, kg MS.</u>	<u>BPD</u>	<u>APD</u>
Heno de moha	4.5	---
Heno de alfalfa	---	5.0
Maíz, molido	2.5	0.5
Gluten feed maíz, seco	2.5	---
Afrechillo de trigo	---	3.0
Harina de soja	---	1.0
Urea	---	---
0.040		
Materia seca, %	88	90
CNE, %MS	36	28
Proteína Bruta, %MS	13	21
Proteína Degradable, %PB	60	74

**Figura 1:** Relación entre NUS y porcentaje de células endometriales en vacas cruzas



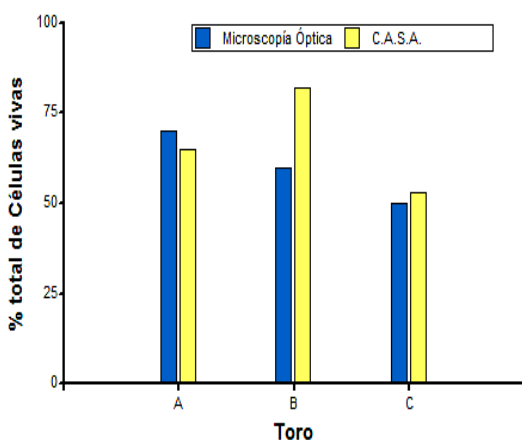
## ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL CORRELACIONADOS CON PORCENTAJES DE PREÑEZ A CAMPO

M. Avilés<sup>1</sup>, G. Cuestas<sup>2</sup>, A. Brandán<sup>5</sup>, M. Piccardi<sup>4</sup>, G. Quiñones<sup>2</sup>, L. Boretti<sup>3</sup>, H. Tríbulo<sup>2,4</sup>

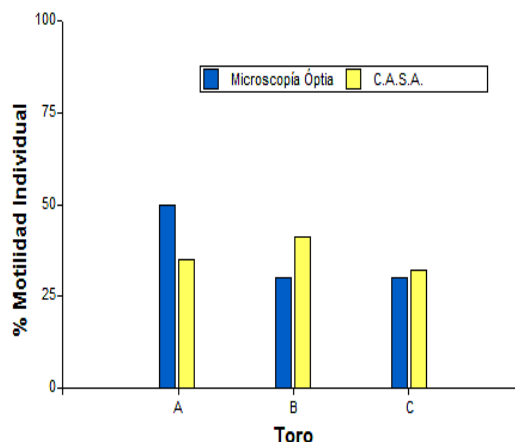
<sup>1</sup>Universidad Católica de Córdoba, <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba, <sup>3</sup>Universidad de Torino Italia, <sup>4</sup>Univ. Nacional de Córdoba, <sup>5</sup>Anglo Córdoba de Tierras

El objetivo del presente estudio es comparar el análisis de la calidad seminal por medio de la observación al microscopio óptico (MO) vs. Computer assisted semen analysis (CASA), y ranquear los toros, correlacionándolos con los porcentajes de preñez. Para este trabajo se utilizaron 522 vaquillonas cruzas Índicas x Británicas de aproximadamente 15 meses de edad que se sincronizaron para ser inseminadas a tiempo fijo (IATF). El semen utilizado en la IATF provino de 3 toros de razas Británicas, a cada toro se le colectó semen, mediante electroeyaculación (Lane Pulsator IV- Auto Adjust TM Electro-Ejaculator), 8 horas antes del comienzo de la inseminación, se diluyó y luego se conservó en heladera a 5°C hasta el momento de inseminar. Por medio del MO, con contraste de fase (Nikon®), se evaluó el porcentaje de espermatozoides vivos, motilidad individual (Clasificación Muy Buena = 80-100%, Buena = 60-79%, Regular = 40-59% y Mala = <40%) y vigor (escala 1-4), además se realizó una video-grabación de semen que se envió por vía telemática en 4 videos con formato mpeg2 de 4 campos microscópicos en contraste de fase (aumento 100X) de una dilución seminal 1:200 o 1:100 a la Facultad de Medicina Veterinaria de Turín-Italia donde fueron convertidos en formatos VGA y analizados mediante el Analizador Automático Hamilton Thorne CASA., en el que se tuvo en cuenta únicamente el porcentaje de células móviles totales, porcentaje de células móviles progresivas y velocidad (rapid, medium, slow, static). El diagnóstico de preñez se realizó a los 30 días posteriores a la IATF por medio de ultrasonografía. (Aloka 500), la estadística se realizó por análisis multivariado de componentes principales.

*Total de células vivas por método de evaluación de semen*



*Motilidad Individual por método de evaluación seminal*



Los coeficientes de ponderación encontrados sugieren que todas las variables, para cada método tienen peso similar, por ende no hay diferencias significativas entre las mismas. A su vez, sus mayores valores se correlacionan altamente con el porcentaje de preñez. El ranking obtenido por las componentes construidas a partir del método CASA fue más coincidente con el ordenamiento de los toros según porcentaje de preñez, no siendo así para el método por microscopía óptica. Sería importante repetir la experiencia con nuevas observaciones de estas y más toros para corroborar si esta correlación se mantiene.

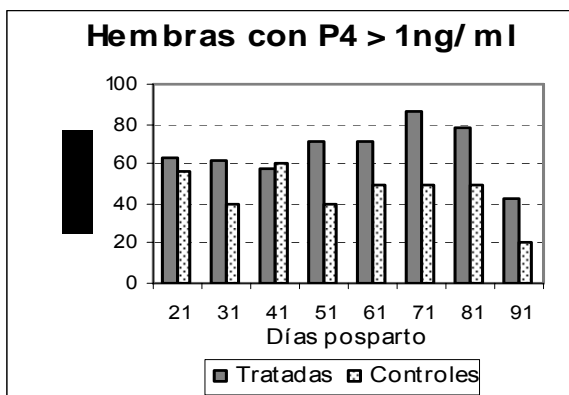
## NIVELES DE PROGESTERONA EN EL POSPARTO DE VACAS LECHERAS CON DIETAS ACIDÓGENAS EN EL PERÍODO SECO

A. Alonso<sup>1</sup>, V.A. Rodríguez<sup>1</sup>, F.B. Cravero<sup>1</sup>, E. Chinelatto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, U.N.C. Avda. Valparaíso s/n, Ciudad Universitaria, CC 509, CP 5000. <sup>2</sup>Actividad privada.

Correo electrónico: [nialonso@agro.uncor.edu](mailto:nialonso@agro.uncor.edu)

Se estudió el efecto de una dieta acidógena, conformada mediante el uso de sales aniónicas, sobre los niveles de progesterona ( $P_4$ ) en el posparto de vacas lecheras de mediana y alta producción. El ensayo se realizó en un tambo escuela ubicado en la localidad de Colonia Vignaud de la provincia de Córdoba. Se utilizaron 24 vacas Holando Argentino, entre 2° y 4° lactancia, de similares peso vivo, condición corporal y producción de leche (18 a 22 l/día/corregido a 305 días). Durante la primera parte del período seco las vacas fueron alimentadas con pastoreo directo de alfalfa con disponibilidad no limitante y durante 21 días anteriores al parto se dividieron en 2 grupos con un diseño experimental totalmente aleatorizado. Se sometieron a los siguientes tratamientos: **C** (controles, n = 10): 7,2 + 2,45 + 1,6 + 3,3 kgMS/vaca/día de heno de alfalfa, silo de sorgo, grano de maíz partido y grano de sorgo partido respectivamente, con una DCAD (Diferencia catión anión dietario) +300 meq/kgMS. **T** (tratadas, n = 14): idem a C + 0,400 kg de una mezcla de sales aniónicas basadas en  $MgSO_4$ ,  $NH_4Cl$ ,  $CaCl_2$ , y  $CaHPO_4$ , con una DCAD -100 meq/kgMS. La verificación del carácter acidogénico de la dieta fue realizada mediante medición del pH urinario (C: 8.32; T: 7.00). Se evaluaron además diferentes parámetros sanguíneos y productivos (Cravero et al, Rev Arg Prod Animal, vol 22: 4-6, 2002). Luego del parto ambos grupos recibieron una dieta basada en pastoreo de alfalfa más 4,5 kg de grano de maíz/vaca /día, de acuerdo a requerimiento, con un DCAD +300 meq/kgMS. Se tomaron muestras de sangre con intervalos de 10 días entre 21 y 91 días posparto (dpp). Fueron centrifugadas inmediatamente (3000 rpm, 10 min) y los sueros mantenidos a -20°C hasta la determinación de  $P_4$  por radioinmunoensayo en fase sólida (equipo DPC). Se infirió que, hasta 51 dpp (período de espera voluntaria), niveles de  $P_4$  superiores a 1 ng/ml correspondían a la presencia de un cuerpo lúteo funcional con ovulación previa; valores alternantes de  $P_4$  (< y > a 1 ng de  $P_4$ ) en períodos de 20 días indicaban ciclicidad normal, dos o más muestras consecutivas con valores <1 ng/ml, anestro y 3 muestras consecutivas con valores >1 ng/ml, fase luteal prolongada. El grupo con dieta acidógena mostró mayor porcentaje de hembras con valores superiores a 1 ng/ml de plasma (Chi cuadrado = 0.004) considerando todo el período de muestreo. Todas las hembras (T + C) tuvieron al menos una ovulación antes de los 50 días pp con las siguientes características: Ciclicidad normal: 11/14 (78.6 %) vs 4/10 (40%) en T y C respectivamente; Primera fase luteal prolongada: 3/14 (21.4 %) en T y 3/10 (30 %) en C. Esta categoría podría estar sobreestimada por cuanto niveles elevados de  $P_4$  en 2 ó 3 muestras consecutivas con intervalos de 10 días, podrían corresponder a las mismas o a distintas fases luteales (luteólisis, estro y ovulación entre dos de ellas); Ovulación antes de 30 dpp seguida de anestro: 0/14 (0 %) en T y 3/10 (30 %) en C. Las diferencias en los perfiles individuales de  $P_4$  estuvieron relacionadas al tratamiento (Chi cuadrado, p=0.05). Se concluye que el suministro de dietas acidógenas en el preparto de vacas lecheras de mediana y alta producción mejora la actividad ovárica en el posparto temprano, lo que se expresa en mayor porcentaje de hembras que ciclan normalmente a los 50 dpp.



Se concluye que el suministro de dietas acidógenas en el preparto de vacas lecheras de mediana y alta producción mejora la actividad ovárica en el posparto temprano, lo que se expresa en mayor porcentaje de hembras que ciclan normalmente a los 50 dpp.



**PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CLINICA Y SUBCLÍNICA DURANTE EL POSTPARTO DE VACAS DE TAMBO Y SU IMPACTO SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA**L.V. Madoz<sup>1,2</sup>, J. Ploentzke<sup>1,3</sup>, D. Albarracin<sup>4</sup>, M. Mejia<sup>5</sup>, M. Drillich<sup>3</sup>, R.L. de la Sota<sup>1,6</sup><sup>1</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, FCV-UNLP, Calle 60 y 118, La Plata; <sup>2</sup>CIC, Calle 526 y 11. La Plata;<sup>3</sup>Clínica de Reproducción Bovina, FCV-ULB, Königsweg 65. Berlín. Alemania. <sup>4</sup>Cátedra Patología Especial, FCV-UNLP Calle 60 y 118, La Plata; <sup>5</sup>Actividad Privada; <sup>6</sup>E-mail: [luzbel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:luzbel@fcv.unlp.edu.ar)

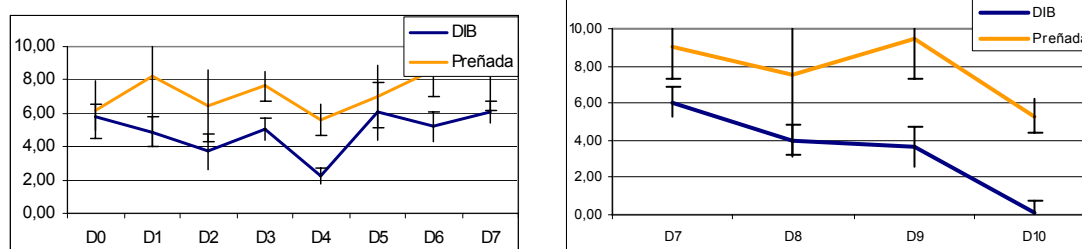
El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de endometritis clínica (EC) y subclínica (ES) entre 21 y 62 días postparto (dpp) y su posterior impacto sobre la eficiencia reproductiva en vacas de tambo. Este estudio se llevó a cabo en cuatro tambos comerciales de la provincia de Buenos Aires, entre junio y diciembre del 2006, sobre un total de 211 vacas Holando Argentino. Se realizó la evaluación general de la salud de las vacas, la búsqueda de descargas patológicas y el flujeo. El flujeo se realizó luego de la correcta limpieza de la zona perineal, mediante la introducción de la mano enguantada y lubricada en la vagina; y se clasificó en cuatro grados: flujo normal [FN], flujo con flóculos de pus [F1], flujo purulento sin olor [F2], y flujo purulento con olor fétido [F3]. Si el diagnóstico del animal era negativo a EC (F0; n=179), se procedía a la toma de muestra de la citología endometrial mediante la técnica de cytobrush para realizar el diagnóstico de ES. Para esto, se usaron pistoletas de acero inoxidable diseñadas específicamente, a las que se le adosaron cepillos comúnmente usados en ginecología humana. Todo esto fue protegido mediante una vaina sanitaria plástica evitando así la contaminación. Una vez fijado el cérvix vía rectal, se procedió al enhebrado del mismo, exposición del cepillo a la superficie endometrial de un cuerno uterino y la toma de muestra a nivel de la curvatura mayor del cuerno uterino. El cepillo era rotado sobre la superficie de un portaobjeto numerado y fijado para la conservación de la morfología celular. Posteriormente, se procedía a la tinción de las muestras con Tinción 15 (Wright Giemsa modificada, Biopur Diagnostic, Argentina) para la evaluación microscópica a 400X y al conteo y diferenciación de 200 células por preparado para obtener el porcentaje de polimorfo-nucleares neutrófilos (PPMN) sobre células totales. Este porcentaje es indicativo de la presencia o no de inflamación subclínica en el endometrio. Los valores de corte que se usaron, para determinar como positiva una muestra, fueron de  $\geq 18\%$  de PMNN para animales entre 21 y 33 dpp,  $\geq 10\%$  para los que se encontraban entre 34 y 47 dpp y  $\geq 5\%$  para animales entre 48 y 62 dpp. Las visitas se repitieron una o dos veces cada  $14 \pm 3$  días para obtener una 2º y 3º muestra de flujeo y citología uterina según los días post parto hasta un máximo de 62 dpp. Al término del período de espera voluntaria (50-60 dpp, según el tambo), las vacas fueron observadas dos veces al día para la detección de celo e inseminación artificial (IA). Entre los 35-65 post IA se les realizó el diagnóstico de gestación por palpación transrectal. La prevalencia y el porcentaje de preñez fue analizada mediante el procedimiento CATMOD y el número de servicios y el intervalo parto-concepción mediante el procedimiento GLM de SAS. El 78,2% (165/211) de las vacas evaluadas fueron negativas a EC, mientras que la prevalencia de EC fue del 21,8% (46/211). De los animales con EC, la prevalencia de EC con F1, F2 y F3 fue del 56.5% (26/46), el 37.0% (17/46) y el 6.5% (3/46) respectivamente. De los animales FN (n=165), un total de 149 fueron evaluados por cytobrush. La prevalencia de ES fue del 10.1% (15/149). Con respecto a la evolución del diagnóstico de ES, el 87.5% (49/56) se mantuvo NEG entre dos muestreos consecutivos, el 10.7% (6/56) se curó (POS a NEG), y el 1.8% (1/56) se mantuvo subclínica (POS en ambas muestras). Las vacas con ES tuvieron un mayor número de servicios ( $2.5 \pm 0.3$  vs.  $1.6 \pm 0.1$ ,  $P < 0.01$ ); y tendieron a tener un intervalo parto concepción más largo ( $107.0 \pm 15.3$  vs.  $87.3 \pm 4.7$ ,  $P < 0.13$ ) y un porcentaje de preñez mas bajo 44% vs. 69%,  $P < 0.13$ ). En conclusión la prevalencia de EC fue de 21.8%, la de ES 10.1%; y las vacas con ES necesitaron de un mayor numero de servicios para quedar preñadas.

## DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA EN LECHE EN VACAS VACÍAS Y CÍCLICAS EN ORDEÑE TRATADAS CON UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL DIB vs. VACAS PREÑADAS EN LACTANCIA

E. Balla<sup>1</sup>, D. Maraña<sup>1</sup>, L. Cutaia<sup>1,2</sup>, G.A. Bó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), <sup>2</sup>Syntex SA

El objetivo de este experimento fue comparar residuos de P4 en leche en vacas Holando, cíclicas tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona (P4) por 7 días versus residuos de P4 en vacas preñadas. Se utilizaron un total de 16 vacas Holando en lactancia, con una producción promedio de  $30,2 \pm 0,8$  L/día. Se seleccionaron 8 vacas, cíclicas ( $57,8 \pm 1,5$  días en lactancia). Se determinó como cíclicas a las vacas que presentaron un CL claramente visible a la ultrasonografía (**Grupo DIB**) que fueron tratadas con un dispositivo intravaginal con P4 (DIB, 1 g de P4, Syntex SA, Argentina) que se designó como Día 0 del experimento. En el día 7 se retiraron los dispositivos y se aplicó una dosis de 150 ug de D+ cloprostamol (Ciclase, Syntex SA, Argentina). Por otro lado se seleccionaron 8 vacas preñadas (**Grupo Preñadas**) por palpación rectal ( $185,3 \pm 5,5$  días de preñez) las cuales fueron mantenidas en las mismas condiciones que las vacas cíclicas. Se tomaron muestras diarias de leche a todas las vacas desde el Día 0 del tratamiento (Colocación del DIB a las vacas del Grupo DIB) hasta el día 10. En todos los casos las muestras fueron tomadas por ordeño manual descartando los dos primeros chorros. Todas las muestras fueron mantenidas con dicromato de potasio como conservante a 4° C hasta el momento de su análisis. Las muestras fueron analizadas para determinar concentraciones de P4, utilizando RIA (Count-a-count, DPC, USA). Los datos hormonales fueron analizados usando el procedimiento MIXED para medidas repetidas para el análisis de la P4 desde la inserción hasta el retiro del dispositivo (efecto principal: tratamiento, día y la interacción tratamiento por tiempo) del programa SAS. Se realizaron dos análisis por separado, en el primero se analizaron los residuos en leche de todas las vacas durante el tratamiento (Día 0 a /7), y en el segundo desde el retiro de los DIB (Día 7) hasta el Día 10. Los resultados de los niveles de P4 en leche durante el tratamiento se encuentran graficados en la Figura 1. No se encontró un efecto tratamiento ( $P=0,34$ ) ni del día de tratamiento ( $P=0,1$ ) sobre los niveles de P4 en leche ni una interacción tratamiento\*día ( $P=0,89$ ). Sin embargo, en el análisis de los residuos de P4 desde el día de retiro de los DIB al Día 10 se encontró un efecto día ( $P=0,001$ ) y tratamiento ( $P=0,0001$ ) pero no se encontró una interacción día\*tratamiento ( $P=0,31$ ). Esto es debido a que los niveles de P4 luego del día 7 cayeron significativamente en el Grupo DIB, respecto al Grupo Preñadas, a causa del retiro del DIB y la aplicación PGF.



**Figura 1.** Residuos de progesterona (P4) en leche, en vacas preñadas comparado con vacas cíclicas durante el tratamiento con un dispositivo intravaginal con P4 (1g P4, DIB, Syntex Argentina) por 7 días.

Concluimos que los niveles de P4 encontrados en leche de vacas Holando cíclicas en lactancia tratadas con un dispositivo intravaginal con P4 (DIB) son similares a los encontrados en vacas preñadas en lactancia. Esto indica que no se justifica el retiro de las vacas tratadas con DIB del ordeño durante el tratamiento.

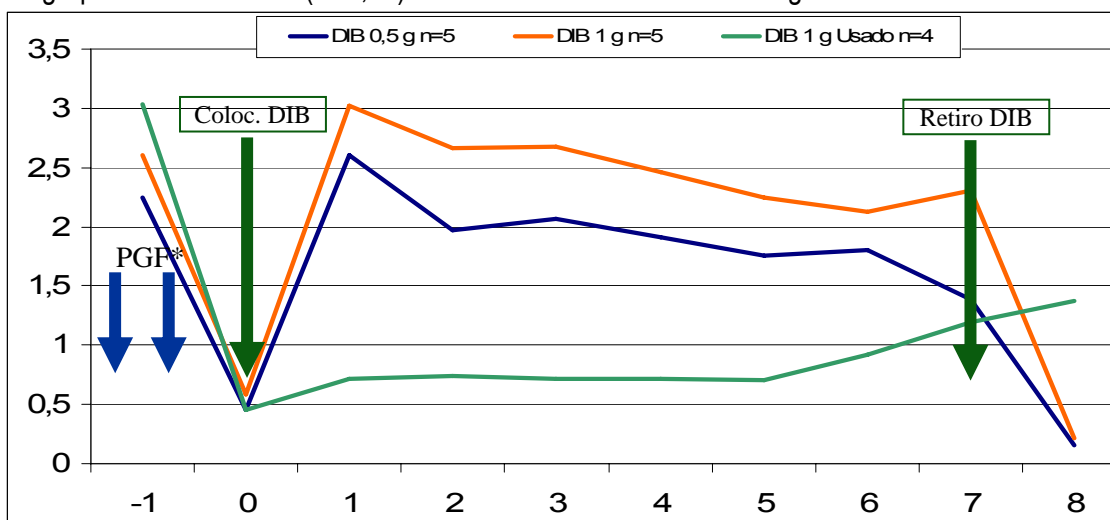


## CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE PROGESTERONA EN VACAS DE LECHE EN LACTANCIA TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES CON DIFERENTES DOSIS DE PROGESTERONA

L. Cutaia<sup>1,2</sup>, F. Feresin<sup>3</sup> I. Videla Dorna<sup>2</sup> GA. Bo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba-Argentina, <sup>2</sup>Syntex SA, <sup>3</sup>Actividad Privada  
[lcutaia@iracbiogen.com.ar](mailto:lcutaia@iracbiogen.com.ar)

El objetivo de este experimento fue determinar el nivel de progesterona (P4) liberado por diferentes dispositivos intravaginales de P4 en vacas lecheras enteras en lactancia. Se utilizaron 14 vacas Holando Argentino, cíclicas, con una condición corporal de entre 2,5 y 3 (Escala 1-5), 79±27 días en leche y una producción promedio de 25,2±5 litros/día. Las vacas fueron divididas en 3 grupos de tratamiento para recibir un DIB 0,5 (Syntex, Argentina) g; un DIB 1,0 g (Syntex) o un DIB 1,0 g previamente utilizado (Syntex) por 7 días. Fueron tomada muestras de sangre en el Día: (-1) momento el cual se determino la presencia de un Cuerpo Lúteo por medio de ultrasonografía (Chison 500Vet, 5 Mhz) en todas las vacas y fueron tratadas con dos dosis de 150µg de D+Cloprostenol (Ciclase, Syntex) con intervalo de 12 hs. Se tomaron muestras de sangre diarias desde el momento de la colocación de los DIB (Día 0) hasta 24 h luego de retirado (Día 8). Las muestras de sangre fueron tomadas por punción de la vena yugular en tubos heparinizados y centrifugadas dentro de los 20 minutos de obtenidas a 3000 RPM durante 15 minutos. El plasma fue extraído utilizando pipetas Pasteur y congelado a -20°C hasta su análisis. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de P4 utilizando un radioinmunoensayo (Count-a-count, DPC, USA). Se calculó el área bajo la curva promedio para cada grupo y luego se las comparó por el test de ANOVA. El área bajo la curva promedio fue de 1678,5 para el Grupo DIB 1,0 g; 1575,6 para el Grupo DIB 0,5 g y de 345,4 para el grupo DIB 1 g Usado. Este último resultó en una liberación menor a los otros dos grupos de tratamiento (P<0,05). Los resultados se indican en el gráfico 1.



**Gráfico 1.** Liberación de P4 en vacas Holando Argentino enteras, en lactancia, tratadas con DIB 1,0 g, DIB 0,5g o DIB 1,0g previamente usado.

Concluimos que el uso de DIB 0,5g resulta en una liberación de P4 similar a la del DIB 1,0 g. Sin embargo el uso de DIB 1,0 g usado libera una cantidad insuficiente de P4, por lo que no sería recomendable su uso en vacas lecheras en lactancia.

**EFICACIA DEL CEFTIOFUR PARA EL TRATAMIENTO DE METRITIS  
PUERPERALES EN VACAS DE TAMBO**

M.J. Giuliadori<sup>1</sup>, V. Goncalves<sup>1</sup>, J.M. Van Konijnenburg<sup>1</sup>, M.J. Rodríguez<sup>2</sup>, R.P. Magnasco<sup>3</sup>,  
C. Risco<sup>4</sup>, J.C. Aba<sup>5</sup>, I. Videla Dorna<sup>6</sup>, R.L. de la Sota<sup>1,7</sup>

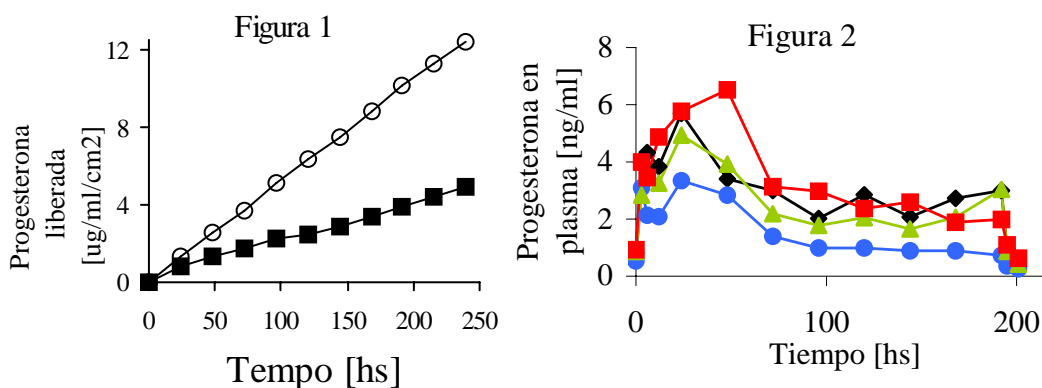
<sup>1</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, FCV-UNLP, La Plata; <sup>2</sup>Actividad Privada, Ordóñez, Córdoba; <sup>3</sup>Estudio Magnasco, Canals, Córdoba; <sup>4</sup>LACS, College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainesville, FL, USA; <sup>5</sup>Tecnofarm SRL, Buenos Aires; <sup>6</sup>Syntex Argentina SA, Buenos Aires; Argentina. <sup>7</sup>E-mail: [luzbel@netverk.com.ar](mailto:luzbel@netverk.com.ar)

El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia del tratamiento de las metritis puerperales sépticas (MPS) con Ceftiofur sobre la salud uterina y la tasa de preñez (TP) en vacas de tambo inseminadas a tiempo fijo (IATF). Se utilizaron vacas Holando Argentino (n=303) de 1 y  $\geq 2$  partos de un tambo ubicado en la provincia de Córdoba, que parieron entre el 20 de mayo y el 20 de agosto de 2005. A todos los animales que ingresaron al experimento se les realizó el diagnóstico de metritis puerperal (MP) 3 días (d) consecutivos durante la primera semana postparto (d 5, 6 y 7) mediante la evaluación del flujo presente en la vagina (flujeo; flujo normal [FN], flujo con flóculos de pus [F1], flujo purulento sin olor [F2], y flujo purulento con olor fétido [F3]). Las vacas con apariencia de enferma, F3 y con temperatura rectal  $\geq 39.1^{\circ}\text{C}$  fueron diagnosticadas con MPS y las con temperatura rectal  $< 39.1^{\circ}\text{C}$  con metritis puerperal (MP). Las vacas con MP y MPS y numeración impar fueron asignadas al grupo control (CON) y no recibieron tratamiento, mientras que las vacas con MP y MPS y numeración par fueron asignadas al grupo tratamiento (TRT) y recibieron un tratamiento convencional (150 ug clorprostenol [PGF], Ciclase<sup>®</sup>, Syntex SA y ceftiofur clorhidrato [CEF], 2 mg/kg pv durante 3 d IM, Ceobiotic 50<sup>®</sup>, Tecnofarm SRL). Para dar el alta posparto al final del puerperio, el d 21 $\pm$ 3 se realizó nuevamente el flujeo. A partir del d 21 $\pm$ 3 en adelante, todas las vacas con endometritis-F3, se trataron con Ceftiofur. Al final del período voluntario de espera (40d) todas las vacas con flujo F0 se sincronizaron con el siguiente protocolo: d 41 $\pm$ 3 inserción del dispositivo intravaginal con 1 g de progesterona (DIB<sup>®</sup>, Syntex SA) y administración de 50  $\mu\text{g}$  de lecirelina (GnRH, Gonasyn<sup>®</sup>, Syntex SA), d 48 $\pm$ 3 remoción del dispositivo intravaginal y administración de 150 ug de PGF, d 50 $\pm$ 3 administración de 50 ug GnRH, y d 51 $\pm$ 3 IATF (+16 h). A los 35 $\pm$ 3 d post IA se realizó el diagnóstico de gestación por palpación transrectal. Las variables categóricas se analizaron con el procedimiento CATMOD de SAS<sup>®</sup>. El 84% (254/303) de las vacas examinadas al día 5-7 fueron reexaminadas al d 21, IATF al d 50 y tuvieron un diagnóstico de gestación a dicha IATF. La prevalencia de vacas con F3 al d 5-7 fue similar para el grupo CON y TRT (40% [56/141] vs. 39% [63/162],  $P < 0.54$ ). Al d 21, el porcentaje de cura y auto cura (MP y MPS) para las F3 fue similar en el grupo CON y TRT (18% [7/39] vs. 16% [8/51],  $P < 0.36$ ); y el porcentaje de reducción de F3 a F2 y F1 también fue similar en el grupo CON y TRT (57% [24/42] vs. 54% [30/56],  $P < 0.45$ ). Si bien la TP a la IATF fue numéricamente inferior pero estadísticamente similar entre el grupo CON y el grupo TRT (9% [4/44] vs. 15% [8/54],  $P < 0.39$ ); el porcentaje de refugos reproductivos (PRR) al d 150 fue superior para el grupo CON que para el grupo TRT (21% [24/116] vs. 9% [13/138],  $P < 0.01$ ). En resumen, si bien la prevalencia de MP y MPS durante la primera semana postparto fue del 40%, al final del puerperio luego de la 3ra semana postparto, el 17% de las F3 se había curado o auto curado y el 55% se había reducido a F2 y F1. El diagnóstico temprano de MP y MPS permitió tratar a las vacas enfermas con ceftiofur, y si bien dicho tratamiento no tuvo efecto sobre la tasa de curación ni sobre la fertilidad, si hubo una reducción del 9% de los refugos reproductivos en las vacas tratadas.

## EVALUACIÓN DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA HIDROFÓBICA PARA LIBERACIÓN DE DROGAS ESTEROIDEAS: ESTUDIOS *IN VITRO- IN VIVO*

V. Heredia<sup>a</sup>, I. D. Bianco<sup>a</sup>, P. Chesta<sup>b</sup>, H. Tribulo<sup>b</sup>, S. Faudone<sup>a</sup>, S. Cuffini<sup>a</sup> y D. M. Beltramo<sup>a</sup>  
<sup>a</sup> Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR), <sup>b</sup>IRAC.

El poliisopreno (PI) es un elastómero hidrofóbico que se diferencia del polidimetilsiloxano (PDMS) en la naturaleza química del esqueleto flexible que los constituye (Hamed, 1999). Este trabajo se realizó para evaluar el PI como matriz para administración intravaginal de progesterona (P4), con el objetivo de aumentar la liberación de P4 para reducir la carga inicial en un dispositivo intravaginal (DI). Las matrices de PI se sumergieron en cloroformo en presencia de P4 y luego de absorbido el solvente se dejaron secar, en cambio las matrices de PDMS previamente mezcladas con P4 micronizada se vertieron en moldes dejándose vulcanizar por 24 horas. Para los estudios in-vitro se tomaron muestras del medio de liberación una vez por día durante 10 días y se cuantificó por espectroscopia UV a 248 nm utilizando una curva de calibración de P4 en PBS pH=7 graficándose contra el tiempo de liberación. Las muestras de P4 en los dos vehículos utilizados fueron analizadas en un difractor de rayos X. Para los estudios in-vivo se utilizaron 15 vacas ovariectomizadas de 400 kg de peso vivo, se dividieron al azar en 3 grupos de tratamiento más un control. En los grupos tratamiento se utilizaron matrices de PI cargadas con 0,25, 0,5 y 0,75 g de P4 en un DI en forma de "Y" y como control se utilizó un DI comercial (CIDR, Pfizer Argentina) con PDMS cargado con 1.9 g de P4. La evaluación se realizó tomando muestras de sangre durante 9 días y se cuantificó los niveles de P4 en plasma por inmunoquimioluminiscencia. Los estudios in vitro mostraron que la tasa de liberación ( $Q=1.2250 \text{ ug/cm}^2/\text{h}$ ) PI fue el triple que el PDMS ( $Q=0.5364 \text{ ug/cm}^2/\text{h}$ ;  $P<0.01$ ; Figura 1). La liberación de P4 desde matrices de PI aumenta con el área y con la carga inicial hasta una concentración de  $4 \text{ mg/cm}^2$ . El patrón de difracción de rayos X de P4 cargada en el PDMS mostró solo el polimorfo alfa, mientras que la P4 cargada en PI mostró los polimorfos alfa y beta. El polimorfo beta, que solo aparece en las matrices de PI, es más soluble que la forma alfa, lo cual explicaría la mayor tasa de liberación observada en la matriz de PI. Los estudios in-vivo muestran que se puede alcanzar el nivel plasmático por encima de  $1 \text{ ng/ml}$  de P4 con dispositivos cargados con (0.5 g) de P4 en vacas de 400 kg, no observándose diferencia en el área bajo la curva entre los grupos de tratamiento y el control ( $P>0,1$ ; Figura 2).



**Figura 1.** Liberación de P4 durante 10 días en PBS pH=7 desde matrices de PDMS (■) y matrices de PI (○) cargadas con  $20 \text{ mg/cm}^2$ .

**Figura 2.** P4 en plasma promedio obtenidos posterior a la inserción de CIDR (rojo) y dispositivos con matriz de PI con 250 mg (azul), 500 mg (verde) y 750 mg (Negro) de P4 inicial.

Nuestros resultados sugieren que la estructura cristalina y la distribución de la droga pueden ser importantes al diseñar sistemas de liberación controlada. La liberación *in vitro* de P4 desde matrices de PI es mejorada cuando la droga está situada superficialmente y cuando las matriz favorece la formación de la estructura cristalina más soluble.

## CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE PROGESTERONA EN VACAS DE CARNE TRATADAS CON DISPOSITIVO INTRAVAGINAL PRO-CICLAR (0,75 g de P4)

P. Chesta<sup>1</sup>, G. Cuestas<sup>1</sup>, D. Beltramo<sup>2</sup>, H. Tribulo<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); <sup>2</sup>Ag. Córdoba Ciencia-CEPROCOR; <sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba  
[pchesta@iracbiogen.com.ar](mailto:pchesta@iracbiogen.com.ar)

Se diseñó un experimento para evaluar las concentraciones plasmáticas de progesterona (P4) en vacas tratadas con dispositivos intravaginales Pro Ciclar de 0,75 g (Zoovet, Argentina) durante 8 días. Se utilizaron 10 vacas, secas, ciclando, con una condición corporal promedio de 2,75 (escala del 1 al 5) y un peso aproximado de 350 kg. Todos las vacas estaban previamente sincronizadas y al momento del inicio de la prueba (Día -1) se encontraban en el Día  $8 \pm 1$  del ciclo estral. En el Día -1 se le realizó ultrasonografía (Chison Vet 500, 5 Mhz) para confirmar la presencia de un cuerpo lúteo y recibir 150  $\mu$ g de D (+) cloprostenol i.m. (Ciclar, Zoovet, Argentina). En el Día 0 se realizó el primer muestreo de sangre y las vacas fueron divididas al azar para recibir un dispositivo intravaginal Pro Ciclar (0,75 g de P4) o un dispositivo control CIDR (1,9 g de P4, Pfizer Sanidad Animal, Argentina). Se realizó la toma de muestras cada 12 horas hasta el Día 1, luego cada 24 horas hasta el Día 2 y luego cada 48 horas hasta el momento de retirado el dispositivo, 12 horas más tarde se tomo la última muestra. La sangre fue tomada por punción de la vena yugular en tubos heparinizados y centrifugadas dentro de los 15 minutos de obtenidas a 3000 RPM durante 20 minutos. El plasma fue extraído utilizando pipetas Pasteur y congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta ser analizadas. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de P4 por electroquimioluminiscencia. Se calculó el área bajo la curva para cada grupo y se lo comparó por el test de anava.

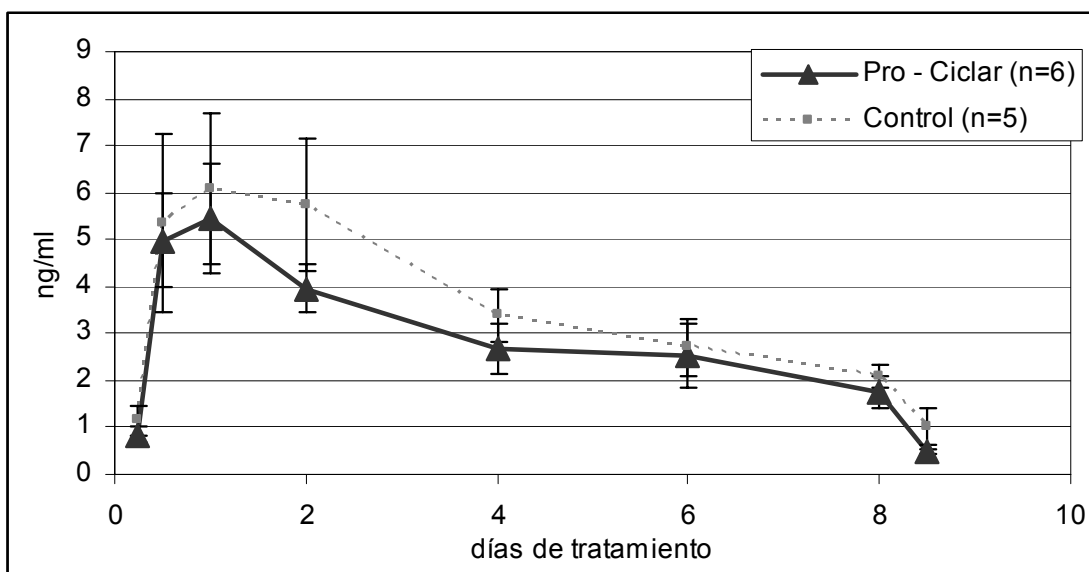


Figura 1. Niveles plasmáticos de P4 (media  $\pm$  EE) en vacas de cría tratadas con Pro Ciclar durante 8 días.

No se observó diferencias significativas entre las áreas bajo la curva del grupo Pro-Ciclar ni en el grupo Control ( $P=0,297$ ). Los niveles plasmáticos de progesterona permanecen durante todo el tratamiento en todos los animales tratados por encima de 1 ng/ml y disminuyen dramáticamente luego de remover el dispositivo.



**TEMA C: OVINOS Y CAPRINOS**

---

**C 1: SINCRONIZACION DE CELOS E INSEMINACION ARTIFICIAL**



## RESPUESTA ESTRAL OBTENIDA CON EL USO DE PGF2 $\alpha$ ASOCIADA A LOS TRATAMIENTOS CORTOS CON PROGESTERONA EN OVEJAS CICLANDO

M. Vilariño<sup>1</sup>, A. Menchaca<sup>2\*</sup>, E. dos Santos<sup>3</sup>, E. Rubianes<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Uruguay; <sup>2</sup>Instituto de Reproducción Animal de Uruguay; <sup>3</sup>Actividad Privada, Artigas; <sup>4</sup>Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Uruguay. \*[alejomen@adinet.com.uy](mailto:alejomen@adinet.com.uy)

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta estral al administrar una dosis de PGF2 $\alpha$  al inicio o al final de un Tratamiento Corto con progesterona en ovejas en fase luteal temprana o en fase luteal tardía. El ensayo se realizó durante el mes de febrero (32° LS, Uruguay) sobre 281 ovejas nulíparas de la raza Corriedale que presentaban una condición corporal de  $3,2 \pm 0,2$  (escala 0 a 5; media  $\pm$  DE). Las ovejas recibieron un Tratamiento Corto que consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal durante 6 días (0,3 g progesterona, CIDR-G, InterAg, Nueva Zelanda) asociado a una dosis de eCG (300 UI, Novormón, Syntex, Argentina) al momento de retirar el dispositivo. Se administró una dosis de PGF2 $\alpha$  (10 mg dinoprost, Lutalyse, Pharmacia&Upjohn, EEUU) al colocar (Grupo Inicio) o al retirar (Grupo Final) el CIDR. Cada grupo estuvo integrado por ovejas en fase luteal temprana (1 a 5 días luego del estro; Grupo Inicio, n=88; Grupo Final, n= 89) y en fase luteal tardía (6 a 12 días luego del estro; Grupo Inicio, n=51; Grupo Final, n= 53) determinado por detección estral una vez al día durante los 15 días previos al tratamiento. A su vez se utilizaron CIDR de primer uso (n= 175) o de segundo uso previamente utilizados por 6 días (n= 106) asignándose de manera balanceada a los grupos experimentales. La respuesta estral fue determinada mediante machos marcadores con una frecuencia de dos veces diaria durante 5 días a partir del retiro de los dispositivos. La proporción de ovejas en estro fue analizada por regresión logística y el inicio del estro por ANOVA. El uso de dispositivos de primer o segundo uso no afectó la respuesta ( $P > 0,1$ ) y los datos se presentan en conjunto. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Respuesta estral obtenida con una dosis de PGF2 $\alpha$  al inicio o al final de un Tratamiento Corto (6 días progesterona + eCG) en ovejas en fase luteal temprana o tardía.

		Ovejas en estro (%)	Intervalo al estro (hs)
PGF2 $\alpha$ al colocar CIDR			
	Fase luteal temprana	43/88 (48,9%) <sup>a</sup>	<b>48,6 <math>\pm</math> 2,5<sup>a</sup></b>
	Fase luteal tardía	47/51 (92,2%) <sup>b</sup>	<b>36,5 <math>\pm</math> 2,4<sup>c</sup></b>
PGF2 $\alpha$ al retirar CIDR			
	Fase luteal temprana	71/89 (79,8%) <sup>b</sup>	<b>44,6 <math>\pm</math> 1,9<sup>ab</sup></b>
	<b>Fase luteal tardía</b>	<b>42/53 (79,2%)<sup>b</sup></b>	<b>38,9 <math>\pm</math> 2,5<sup>bc</sup></b>

Para una misma columna diferentes letras indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

La administración de PGF2 $\alpha$  al momento de colocar el dispositivo en ovejas en fase luteal temprana resultó en un menor porcentaje de ovejas en estro. Cuando la PGF2 $\alpha$  se administró al final del tratamiento se obtuvo un alto porcentaje de ovejas en celo y el inicio del mismo no estuvo afectado por la fase luteal al colocar el dispositivo. Los resultados indican la conveniencia de administrar la PGF2 $\alpha$  al finalizar el Tratamiento Corto en ovejas ciclando.



**TASA DE PREÑEZ Y FECUNDIDAD OBTENIDA CON UN TRATAMIENTO  
CORTO VS UN TRATAMIENTO LARGO ASOCIADO A IATF POR  
LAPAROSCOPIA EN OVEJAS EN ANESTRO**

M. Vilariño<sup>1</sup>, A. Pinczak<sup>2</sup>, A. Menchaca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal de Uruguay; <sup>2</sup>Actividad Privada, Montevideo, Uruguay.  
[alejomen@adinet.com.uy](mailto:alejomen@adinet.com.uy)

Los Tratamientos Cortos con progesterona han sido difundidos en los últimos años como alternativa a los tratamientos tradicionales (*Menchaca y Rubianes, Reprod. Fert. Dev. 2004; 16:403-414*). Sin embargo estos protocolos no han sido evaluados con IATF por vía intrauterina durante el anestro estacional. Con este objetivo se realizó el presente trabajo durante la estación de anestro (octubre, 35° LS, Maldonado, Uruguay) con 101 ovejas cruza Merino x Merino Dohne nulíparas de 14 meses con una condición corporal de  $3,3 \pm 0,2$  (media  $\pm$  DE; escala 0 a 5). Las ovejas fueron sincronizadas con un Tratamiento Corto (n= 51) que consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal durante 6 días (0,3 g de progesterona, CIDR-G, InterAg, Nueva Zelanda) o un Tratamiento Largo (n= 50) en el que el CIDR se colocó por 14 días. Al momento de retirar el dispositivo se administró una dosis de eCG (330 UI, Novormon, Syntex, Argentina) y a las 54 horas se realizó IATF por laparoscopia (Karl Storz, Alemania) con semen fresco a una dosis de  $100 \times 10^6$  espermatozoides por oveja. El diagnóstico de gestación se realizó por ultrasonografía transrectal (5,0 MHz, Dramiński, Polonia) a los 30 días de la inseminación. La tasa de preñez se comparó por chi cuadrado y la prolificidad (n° de fetos/oveja preñada) y fecundidad (n° de fetos/ovejas totales) se compararon por regresión de Poisson. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Fertilidad obtenida con un Tratamiento Corto con progesterona (CIDR 6 días) comparado con un Tratamiento Largo (CIDR 14 días) + eCG asociado a IATF por vía intrauterina en ovejas en anestro.

	Tasa de Preñez (%)	Prolificidad (%)	Fecundidad (%)
<b>Tratamiento Corto</b>	40/51 (78,4%)	56/40 (140,0%)	56/51 (109,8%)
<b>Tratamiento Largo</b>	39/50 (78,0%)	52/39 (133,3%)	52/50 (104,0%)

N.S.

No se encontró diferencias significativas en ninguna de las variables analizadas, por lo tanto el Tratamiento Corto por 6 días asociado con IATF por vía intrauterina puede ser aplicado con la misma eficacia que el tratamiento tradicional en ovejas en anestro. Este resultado es de interés debido a que el Tratamiento Corto podría dar lugar a la reutilización de los dispositivos de silicona lo que actualmente está siendo evaluado en otros estudios.

**TEMA C: OVINOS Y CAPRINOS**

---

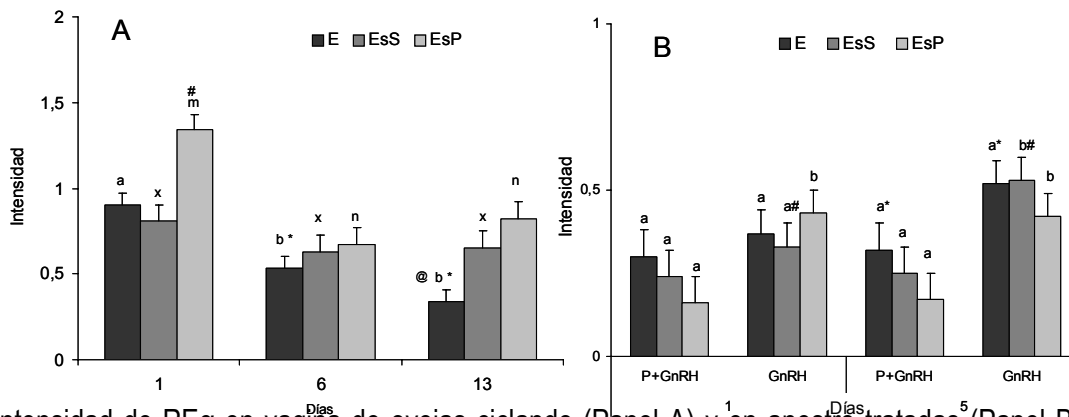
**C 2: TEMAS VARIOS**



## DISTRIBUCIÓN TISULAR DE LOS RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE $\alpha$ ) EN LA VAGINA DE OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y EN ANESTRO ESTACIONAL TRATADAS CON GnRH

S. Acuña\*, C. Tasende, C. López, E. G. Garófalo  
 Área Bioquímica, Facultad de Veterinaria; Montevideo-Uruguay.  
 saap22@adinet.com.uy

Se investigó la distribución tisular de RE $\alpha$  en vagina de ovejas Corriedale ciclando sacrificadas a los días 1 (n=7), 6 (n=6) o 13 (n=6) del estro y en ovejas en anestro estacional tratadas con GnRH, i/v cada 2 h por 16 h y a las 18 h un bolo de GnRH (día 0), (Grupo GnRH, n=11) o con igual tratamiento de GnRH y Progesterona (P) previa por 10 días (grupo P+GnRH, n=11). Las ovejas tratadas, se sacrificaron al día 1 ó 5 del bolo de GnRH. La distribución de RE $\alpha$  se estudió por inmunohistoquímica en las siguientes localizaciones tisulares: Epitelio (E), Estroma Superficial (EsS) y Estroma Profundo (EsP). La intensidad del inmunomarcado a RE $\alpha$  (contenido de RE $\alpha$ ) fue evaluada por dos observadores independientes, en 10 campos (1000X), para cada localización tisular y analizada por ANOVA, incluyendo efecto de observador, de día, de tratamiento y de localización tisular.



Intensidad de RE $\alpha$  en vagina de ovejas ciclando (Panel A) y en anestro tratadas (Panel B). **A:** en igual localización, letras diferentes entre días p<0,05, # diferencias entre día 1 y día 1 vs 6, 13, @ indica diferencias al día 13 y \* indica tendencia (p=0,06). **B:** en igual día, igual localización y diferente tratamiento, letras diferentes p<0,05, \* indica tendencia entre tratamiento, al día 5 (p=0,07) y # indica tendencia del grupo GnRH día 1 vs día 5 (p=0,07). En las ovejas ciclando, se encontró efecto de día, de localización tisular e interacción entre ambos sobre el contenido de RE $\alpha$  (p<0,05). El contenido de RE $\alpha$  fue mayor al día 1, que en los días 6 y 13, Panel A. Al día 1, el contenido de RE $\alpha$  fue mayor en EsP que EsS y E, al día 6 no hubo diferencias y al día 13 fue menor en E que en EsS y EsP. En las ovejas en anestro, se encontró efecto del tratamiento sobre el contenido de RE $\alpha$  (p<0,0001), Panel B. Al día 1, el contenido de RE $\alpha$  en EsP fue mayor en el grupo GnRH que en el P+GnRH, mientras que al día 5 el contenido de RE $\alpha$  en el grupo GnRH fue mayor que en el P+GnRH en dos de las localizaciones estudiadas. En los grupos GnRH el contenido de RE $\alpha$  en EsS tendió a ser mayor al día 5 que al día 1. En conclusión, en la vagina de ovejas ciclando, la sensibilidad a los estrógenos (contenidos de RE $\alpha$ ), fue mayor alrededor del estro que en fase luteal y varió según la localización tisular. Mientras que en ovejas en anestro, los tratamientos con GnRH o P+GnRH no reproducen los perfiles tisulares de RE $\alpha$  del ciclo estral. Además la mayor sensibilidad a los estrógenos del grupo GnRH, se mantuvo en fase luteal temprana.

## LAS SEÑALES QUÍMICAS DE CARNEROS ADULTOS SON MÁS EFECTIVAS EN INDUCIR LA OVULACION EN OVEJAS EN ANESTRO QUE LAS DE CARNEROS JOVENES

M. Cuadro, V. Miller, R. Ungerfeld

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay. E-mail: [piub@internet.com.uy](mailto:piub@internet.com.uy)

La introducción súbita de carneros a grupos de ovejas en anestro que permanecieron aisladas de los mismos induce la ovulación en parte de la majada. Dicho estímulo es consecuencia de señales visuales, auditivas, táctiles y las olfativas mediadas por sustancias químicas. Estas últimas son provistas por sustancias aromáticas de la lana de los carneros (1). En trabajos anteriores observamos que los carneros adultos inducen la ovulación y la manifestación de celo en mayor cantidad de ovejas que los carneros jóvenes (~1 año). Los carneros adultos también inducen una mayor tasa ovulatoria que los carneros jóvenes. A su vez, no observamos diferencias en el comportamiento de cortejo entre carneros adultos y carneros jóvenes. La hipótesis del presente trabajo fue que las señales químicas olfativas por parte de los carneros adultos inducen la ciclicidad en una mayor cantidad de ovejas anéstricas que las provenientes de carneros jóvenes. Para testarla se utilizaron 93 ovejas nulíparas Corriedale y Corriedale x Ile de France ( $42,2 \pm 1,1$  kg) que permanecieron aisladas de carneros durante el mes previo a la experiencia (Noviembre, Primavera en el Hemisferio Sur.). Durante 5 noches se les colocaron máscaras conteniendo lana de diferentes partes del vellón recién esquilada de 5 carneros adultos (n=45) o de 5 carneros jóvenes (n=48). Cinco días luego de finalizar la utilización de las máscaras, se determinó por ultrasonografía transrectal (Aloka 500 con una sonda de 7,5 MHz) la presencia de cuerpos lúteos, para luego introducir 8 carneros Corriedale adultos marcadores. Se registraron los celos de las ovejas que presentaron cuerpos lúteos dirariamente hasta 28 días luego de haber comenzado la estimulación. Ovuló y manifestó celo una mayor cantidad de ovejas estimuladas con lana de carneros adultos comparado con las ovejas estimuladas con lana de carneros jóvenes (ovularon: 24/45 (53,3%) vs 11/48 (22,9%),  $P=0,002$ ; celo: 21/45 (46,7%) vs 10/48 (20,8%) ,  $P=0,008$ ). Los celos fueron observados a los  $22,8 \pm 0,8$  días en el grupo estimulada con lana de carneros adultos y  $21,4 \pm 1,0$  en las estimuladas con lana de carneros jóvenes. Se concluye que la mayor estimulación ovárica obtenida con carneros adultos es explicada, al menos parcialmente, por las señales químicas contenidas en la lana de los carneros adultos.

(1) Knight, T.W., Lynch, P.R., 1980. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. Anim. Rep. Sci. 3, 133-136.

Financiación: CSIC (UdelaR).

## INFLUENCIA DE LA PARIDAD SOBRE LA RESPUESTA OVARICA AL EFECTO MACHO EN OVEJAS POSPARTO DURANTE LA ESTACIÓN REPRODUCTIVA

S.P. González-Pensado<sup>1</sup>, A. Ramos<sup>1</sup>, T. De Castro<sup>2</sup>, R. Ungerfeld<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, <sup>2</sup>Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay.

E-mail: [piub@internet.com.uy](mailto:piub@internet.com.uy)

El objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia de la paridad (primíparas vs múltiparas) sobre la respuesta al efecto macho en ovejas posparto durante la estación reproductiva. Durante la primavera se indujo el celo y se obtuvo preñez en ovejas de raza Merilin mediante el efecto macho. En marzo se registraron los partos de las ovejas encarneradas en primavera, y en mayo se volvió a aplicar el efecto macho. Se utilizaron 82 ovejas (36 primíparas y 46 múltiparas), con un peso de  $46,0 \pm 4,5$  kg para múltiparas y  $40,1 \pm 3,8$  kg para primíparas. Durante el experimento todos los animales permanecieron con sus corderos al pie. Doce días antes de introducir los machos (20-50 días posparto), se determinó mediante ecografía transrectal que menos del 10% de las ovejas presentaban cuerpos lúteos, sin registrarse diferencias entre primíparas y múltiparas. A continuación el total de las ovejas fueron tratadas con esponjas intravaginales con progestágenos. Al retirar las esponjas, se introdujeron 7 carneros adultos marcadores por 60 días, registrándose los celos en los primeros 5 días posteriores a la introducción de los carneros. Finalizado este último período se determinó la presencia de cuerpos lúteos por ultrasonografía transrectal (Aloka 500 con una sonda lineal de 7,5 MHz). A los 35 días de la introducción de los carneros se realizó un primer diagnóstico de gestación. Los carneros permanecieron con las ovejas por 60 días, y a los 30 días de finalizada la encarnerada se realizó una segunda ecografía para determinar el porcentaje de preñez. En esta segunda instancia no se realizó la determinación en 3 ovejas. El porcentaje de ovejas que ovuló y que manifestó celo fue mayor en las múltiparas que en las primíparas. En la Tabla 1 se presenta la cantidad de ovejas que ovularon y manifestaron celo a los 5 días de la introducción de los carneros y las tasas de preñez obtenidas en los dos momentos.

**Tabla 1.** Cantidad de ovejas primíparas y múltiparas que ovularon y manifestaron celo, y tasas de preñez (TP) a los 35 días, y luego de 60 días de encarnerada (%).

	Primíparas	Múltiparas	P
n	36	46	
Ovularon	28/36 (77,7)	44/46 (95,7)	0,01
Celos	27/36 (75,0)	42/46 (91,3)	0,05
TP 35 días	18/36 (50,0)	28/46 (60,9)	0,3
TP final	28/35 (80,0)	40/44 (85,1)	0,2

Estos resultados demuestran que la respuesta ovárica al tratamiento con progestágenos y efecto macho durante el posparto en la estación reproductiva se ve afectada por la paridad, siendo menor en las ovejas primíparas. Sin embargo la fertilidad es similar entre ovejas primíparas y múltiparas. Los resultados pueden ser considerados muy altos teniendo en cuenta que se utilizaron ovejas en postparto y que permanecieron con sus corderos al pie durante todo el experimento.

## ESTIMULACION SEXUAL PREVIA DE LOS CARNEROS Y RESPUESTA AL EFECTO MACHO EN OVEJAS TEXEL DURANTE EL ANESTRO ESTACIONAL

S.P. González-Pensado, A. Ramos, R. Ungerfeld

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay.

E-mail: [piub@internet.com.uy](mailto:piub@internet.com.uy)

Las ovejas de razas muy estacionales presentan una respuesta muy baja al efecto macho. Ello se podría deber a un anestro más profundo de las hembras o a una baja capacidad de los machos para estimular la actividad reproductiva. En algunas razas (Romney Marsh) se ha observado que la estimulación previa de los carneros con ovejas en celo incrementa el porcentaje de ovejas que responde al efecto macho (1). El objetivo del presente trabajo fue determinar si la estimulación de los carneros con ovejas en celo, previo a su utilización como estimuladores de ovejas en anestro, incrementaría el porcentaje de ovejas en celo y preñadas en contraestación reproductiva, en una raza altamente estacional (Texel) El trabajo se realizó durante noviembre-diciembre con 93 ovejas y 6 carneros Texel. Mientras que 3 carneros permanecieron aislados de ovejas durante los días previos a su utilización (CA), los otros 3 permanecieron junto a ovejas en celo inducido durante los 3 días anteriores a su uso como estimuladores (CE). Los dos grupos de carneros fueron juntados con 46 y 47 ovejas Texel, y se registró en forma diaria los celos durante 25 días. A los 30 días de los celos se realizó un diagnóstico de preñez por ultrasonografía transrectal. Al finalizar el período de detección de celos, 15/46 y 9/47 de las ovejas estimuladas con Cay CE respectivamente marcadas por los carneros, pero ninguna resultó preñada. Se concluye que en las ovejas Texel la estimulación previa de los carneros con ovejas en celo no es suficiente para incrementar la respuesta de las ovejas al efecto macho.

Financiación: CIDEF (Facultad de Veterinaria) y CSIC (Universidad de la República, Uruguay).

1) Knight, T.W. 1985, Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod., 45, 49.

## EFFECTO DE LA PRESENCIA DE CARNEROS DOMINANTES O SUBORDINADOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO SEXUAL DE CARNEROS DE RANGO JERARQUICO MEDIO

L. Morena, R. Ungerfeld

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Lasplaces 1550 Montevideo 11600, Uruguay,  
piub@internet.com.uy

Los efectos de la jerarquía social de los carneros sobre su desempeño reproductivo son ampliamente conocidos. Sin embargo, existe poca información sobre como la jerarquía afecta la actividad de los carneros de rango medio. El objetivo de este experimento fue determinar si la presencia de carneros dominantes o subordinados afecta el comportamiento de cortejo y monta de los carneros de rango jerárquico medio. En un grupo de 13 carneros Corriedale X Milchschaf de 9 meses de edad se determinó el índice de jerarquía (IJ, rango 0 a 1) por la prueba de competencia por alimento (Synnott AL, Fulkerson WJ, 1984. Applied Animal Ethology 11:283-289). Para los tests de comportamiento sexual se utilizaron 6 carneros cuyo IJ fue de 0,34 a 0,66. Los tests se realizaron con una oveja no en celo inmovilizada en un corral de 5 X 4 m. A cada carnero se le realizaron 5 tests, solo, en presencia de uno o dos carneros dominantes atados, o de uno o dos carneros subordinados atados. En cada test, durante 30 min se contabilizaron la cantidad de olfateos ano-genitales, acercamientos laterales, flehmen, intentos de monta, montas, y montas con eyaculación, y se calculó la cantidad de montas con eyaculación/montas totales. Los datos fueron comparados con el test de Kruskal-Wallis, y cuando existieron diferencias las comparaciones entre grupos se realizaron con el test de Mann-Whitney. En ninguna de las variables se observó un efecto de la cantidad de carneros, por lo que los datos se presentan agrupados en tests con carneros dominantes o subordinados independientemente de que los mismos fueran uno o dos. No se observaron diferencias en la frecuencia de las diferentes unidades comportamentales de cortejo, pero se observó un aumento significativo de la cantidad de montas y montas con eyaculación, así como de la proporción de montas en que hubo eyaculaciones en presencia de carneros subordinados (Tabla 1).

**Tabla 1.** Frecuencia de las diferentes unidades comportamentales de cortejo y cópula de carneros de rango jerárquico medio solos, o en presencia de carneros dominantes o subordinados.

	Solos	Con dominantes	Con subordinados
Olfateos ano-genital	19,7 ± 5,6	31,9 ± 3,9	37,6 ± 4,0
Aproximaciones laterales	98,3 ± 26,3	64,7 ± 10,1	100,1 ± 8,9
Flehmen	1,8 ± 0,7	3,3 ± 0,6	2,3 ± 0,6
Intentos de monta	3,3 ± 1,4	6,1 ± 2,9	8,4 ± 2,6
Montas	0,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	6,7 ± 1,8 <sup>b</sup>
Montas con eyaculación	0,2 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,3 ± 0,2 <sup>c</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>d</sup>
Eyaculados/montas totales	0,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b</sup>

Para una misma columna: <sup>a</sup> vs <sup>b</sup>: P<0,01; <sup>c</sup> vs <sup>d</sup>: P<0,001

La presencia de carneros subordinados estimuló la actividad sexual de carneros de rango medio. Una posible interpretación es que la actividad de monta frente a los mismos es una estrategia de reafirmación de dominancia. Probablemente no se pudo determinar si la presencia de carneros dominantes afecta el comportamiento por el uso de ovejas que no estuvieran en celo, y que por tanto fueron montadas en pocas ocasiones por los carneros solos.

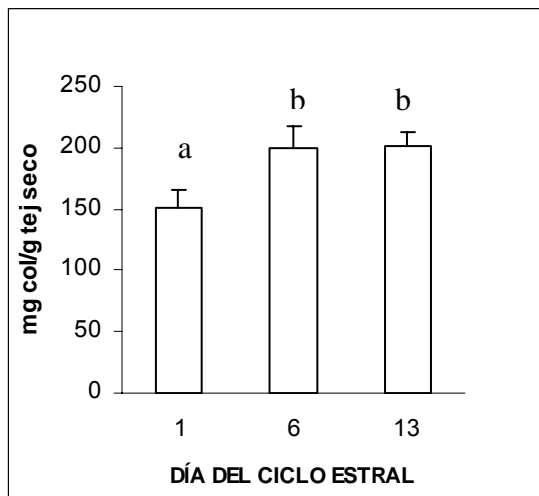


## DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA DE COLÁGENO EN CERVIX CAUDAL DE OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL

P. Genovese<sup>2</sup>, R. González<sup>1</sup>, A. Bielli<sup>2</sup>, M. Rodríguez-Piñón<sup>1</sup>

Área de Bioquímica<sup>1</sup>, Área de Histología y Embriología<sup>2</sup>, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1550, C.P. 11.600, Montevideo-Uruguay.

Nuestro objetivo fue estudiar la concentración de colágeno en la región caudal del cervix y la distribución y volumen porcentual de colágeno en el estroma superficial y profundo de los pliegues cervicales en la misma región en ovejas durante el ciclo estral. Ovejas Corriedale adultas fueron sincronizadas con 2 dosis (150µg, i/m, c/u) de un análogo de Prostaglandina F<sub>2α</sub> (Delprostenate, Glandinex, Universal Lab) separadas por 6 días. Las 15 ovejas se sacrificaron a los días 1 (n=5), 6 (n=5) y 13 (n=5) de detectado el estro. Se pesó el cervix y de la región caudal se tomó dos tipos de muestra: una fue congelada en N<sub>2</sub> líquido, para la determinación espectrofotométrica de hidroxiprolina (constituyente casi exclusivo de proteína colágena); la otra muestra fue fijada en paraformaldehído (pH=7,4, 48h.), incluida en parafina, seccionada longitudinalmente (5µm) y procesada por la técnica tricrómica de Van Giesson (resalta en rojo las fibras colágenas). La concentración de colágeno se expresó en mg/g de tejido seco. La distribución y el volumen porcentual de colágeno en el estroma del pliegue cervical se expresaron como volumen porcentual del estroma superficial o profundo. Los datos fueron expresados como medias±sem y comparados por anova. El peso del cervix (g) fue mayor en el día 1 (10,6±1,2) que en los días 6 (7,7±0,9) y 13 (8,3±1,1) del ciclo estral (P<0,05). El porcentaje de agua fue mayor en el día 13 (71,9±1,1) que en los días 1 (67,3±1,7, n=15) y 6 (65,4±1,7, n=15) (P<0,01). La concentración de colágeno fue menor en el día 1 que en los días 6 y 13 (P<0,04) (Figura 1). El volumen porcentual de colágeno (%) fue mayor (P<0,04) en el estroma profundo de los pliegues al día 1 (24,1±2,7) respecto a los días 6 (13,4±2,2) y 13 (18,3±2,7). No hubo diferencias entre días del ciclo estral en el estroma superficial día 1 (13,6±4,3), 6(17,5±3,7) y 13(22,4±4,9). La concentración de colágeno en el cervix caudal fue menor en el estro que en la fase progestacional pero, al menos en el estroma de los pliegues cervicales, el volumen ocupado por colágeno fue mayor durante el estro. En conclusión, aunque resta determinar qué ocurre con la pared del cervix,



los presentes resultados sugieren que en el momento del estro el colágeno está en menor cantidad (probable colágenolisis) pero más disperso, lo que explicaría el mayor volumen ocupado en el pliegue, y que el aumento de peso cervical estaría explicado por la acumulación de otras moléculas diferentes al colágeno.

**Figura 1** – Concentraciones (media±s.e.m) de colágeno (mg colágeno/g tejido seco) del cervix de ovejas al día 1 (n=15), 6 (n=15) y 13 (n=15) del ciclo estral (día 0=día del estro). Diferentes letras difieren significativamente (P<0.04).

**EFFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO, LA PARIDAD Y EL TIPO DE PARTO SOBRE EL INTERVALO AL CELO TRAS LA INTRODUCCIÓN DE CARNEROS EN OVEJAS DE PELO EN EL NORESTE DE MÉXICO**

F. Sánchez Dávila<sup>1,\*</sup>, J. Colín Negrete<sup>1</sup>, H.B. Barragán<sup>1</sup>, E.O. Saézn<sup>1</sup>, J.F.V. Arredondo<sup>1</sup>, R. Ungerfeld<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Carretera Zuazua-Marín, km 17, Marín, N.L., México, CP 66700; <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay \*fernando\_sd3@hotmail.com

El objetivo del trabajo fue determinar si la época del año, la paridad de la oveja y el tipo de parto (único, mellizos o trillizos) influyen sobre el intervalo al celo tras la introducción súbita de carneros (“efecto macho”) en ovejas de pelo en condiciones del noreste de México. Para ello se analizaron datos de encarneradas de 908 ovejas de pelo de raza Saint Croix –una raza de ovejas de pelo con patrones de reproducción poco estacionales– correspondientes a 9 años (años 1993-1997 y 2001-2004) . Los machos fueron siempre introducidos a los 60 días posparto, momento en que también se destetaron los corderos. Para analizar los datos se utilizó un modelo lineal, donde se incluyó el efecto del año y época, así como el efecto del número de parto de la oveja, el tipo de parto, y el efecto individual del macho (n=21) sobre el intervalo introducción del macho-celo (IMC). El año y la época de introducción del macho tuvieron un efecto significativo (P<0,01). El IMC de los años 2001 al 2004 ( $12,7 \pm 0,2$ , media  $\pm$  EE) fue superior al registrado entre 1993 y 1997 ( $9,1 \pm 0,2$  días, P< 0,01). La época del año en que se introdujeron los machos influyó sobre el IMC (P<0,01), siendo los valores más bajos (P<0,01) en invierno ( $7,9 \pm 0,1$  días), seguidos por el verano ( $11,1 \pm 0,2$  días) y el otoño ( $11,1 \pm 0,1$  días), los que a su vez fueron diferentes (P<0,05) de la primavera ( $16,2 \pm 0,2$  días). También se observó un efecto significativo de la paridad (P<0,05), siendo mayor el IMC (P<0,05) de las hembras primerizas ( $11,8 \pm 0,1$  días) y las de segundo parto ( $10,4 \pm 0,1$  días), siendo el valor más bajo (P<0,05) de IMC para las ovejas de tercero ( $9,82 \pm 0,1$  días) y cuarto parto ( $9,6 \pm 0,1$  días), siendo estos últimos estadísticamente iguales. El tipo de parto también influyó sobre el IMC (P<0,05), encontrándose que las ovejas de partos triples presentaron valores de  $15,0 \pm 0,5$  días, significativamente (P<0,05) mayores a los de las ovejas de partos sencillos ( $9,9 \pm 0,1$  días) y gemelares ( $9,9 \pm 0,1$  días). Se observó un efecto significativo del semental sobre el IMC, donde los rangos del IMC variaron desde  $5,7 \pm 0,3$  días hasta  $13,2 \pm 0,1$  días. En síntesis, el IMC presentó una baja variación aunque varios factores, como la época del año, la paridad y el tipo de parto influyeron directamente en el tiempo entre la introducción de los machos y la manifestación de celo.

## EFFECTO DE LA INTRODUCCIÓN DEL MACHO EN DIFERENTES ETAPAS POSPARTO EN OVEJAS DE PELO EN EL NORESTE DE MÉXICO

F. Sánchez-Dávila<sup>1,\*</sup>, J. Colín-Negrete<sup>1</sup>, H.B. Barragán<sup>1</sup>, E.O. Saézn<sup>1</sup>, J.F.V. Arredondo<sup>1</sup>, R. Ungerfeld<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Carretera Zuazua-Marín, km 17, Marín, N.L., México, CP 66700; <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay; \*fernando\_sd3@hotmail.com

El objetivo del trabajo fue determinar si la introducción de los machos al momento del parto, del destete (60 días posparto) o su presencia permanente estimula el reinicio de la actividad cíclica posparto en una raza de ovejas poco estacional. Se utilizaron 75 ovejas multíparas de pelo de la raza Saint Croix incluidas en un Programa de Reproducción Acelerada, con 3 momentos de encarnadura en el año. Fueron divididas aleatoriamente en tres grupos de 25 animales de acuerdo al período de exposición al carnero: GP: exposición a partir del parto, GD: exposición después del destete que se realizaba a los 60 días posparto, y GC: exposición permanente a carneros, totalizando 70, 67 y 65 tratamientos. Se detectaron los celos dos veces al día, y cada 6 días se obtuvieron muestras de sangre para determinación de progesterona por RIA. Se determinaron los intervalos parto-celo (IPC), el intervalo parto-fase luteal (IPFL) y fase lútea-celo (IFLC). Se utilizó un modelo lineal y las variables dependientes fueron transformadas como raíz cuadrada, donde la comparación de medias se realizó a través de la diferencia mínima significativa. El IPC de las ovejas en contacto permanente con los machos fue significativamente menor que cuando la exposición comenzó al destete, siendo los registros del grupo GP intermedios y diferentes de los dos (Tabla 1). El IPFL de las ovejas GC fue significativamente menor que el de las ovejas GD, siendo los registros del grupo GP intermedios (Tabla 1). Las ovejas GC también presentaron un IFLC significativamente menor, siendo similar el de las ovejas GD y GP (Tabla 1).

**Tabla 1.** Intervalos (media  $\pm$  EE) parto-celo (IPC), parto-primer fase luteal (IPFL), y primer fase luteal-celo (IFLC) en ovejas de pelo Saint Croix de acuerdo al momento posparto en que comenzó la exposición a los carneros (al momento del parto: GP, del destete a los 60 días posparto: GD, o en contacto permanente: GC).

Grupo	n	IPC	IPFL	IFLC
GP	70	65,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	44,7 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>	20,9 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>
GD	67	74,3 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	48,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	25,0 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>
GC	65	49,1 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	39,8 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	8,7 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>

Diferentes letras para una misma columna: P<0,01

Se puede concluir que bajo las condiciones en que se desarrolló el presente trabajo la presencia permanente del macho en un grupo de hembras puede inducir un reinicio más temprano de la actividad cíclica posparto disminuyendo el intervalo interpartos.

## INFLUENCIA DE LA ESTACIÓN DEL AÑO Y LA RAZA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE CARNEROS CORRIEDALE Y PAMPINTA

D.E. Aguilar<sup>1</sup>, J. Aller<sup>2</sup>, G. Almeida<sup>3</sup>, R. Alberio<sup>2</sup>, T. Vera<sup>4</sup>, C. Faverín<sup>5</sup>

<sup>1</sup>EEA INTA Mercedes, <sup>2</sup>EEA INTA Balcarce, <sup>3</sup>FCA-UNMdP, <sup>4</sup>EEA INTA La Rioja, <sup>5</sup>FCEyN-UNMdP E-mail: [daquilar@correo.inta.gov.ar](mailto:daquilar@correo.inta.gov.ar)

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar si las características seminales de carneros de raza Corriedale y Pampinta presentan variaciones estacionales y compararlas entre ambas razas. Se utilizaron 6 carneros adultos de las razas Corriedale y 5 Pampinta de aproximadamente 4 años de edad. Los animales se mantuvieron en una pastura consociada y suplementados con silo de planta entera de maíz. Se colectaron con vagina artificial 2 eyaculados (intervalo de una hora) semanales por cada carnero, durante 6 semanas consecutivas dentro de cada estación a largo de un año. De cada eyaculado se registró el volumen (**VOL**), motilidad masal (**MM**), **pH**, concentración de espermatozoides en 10<sup>9</sup>SPZ/ml (**CONC**), total de espermatozoides por eyaculado (**TSPZ**), motilidad progresiva (**MP**), vigor (**V**), porcentaje espermatozoides vivos (**PEV**) y porcentaje espermatozoides normales (**PEN**). El diseño en bloques completamente aleatorizados (DBCA) incluyó los efectos fijos de estación, raza y su interacción y como efecto aleatorio al carnero dentro de raza para todas las variables respuesta. Se tomó como bloque la semana dentro de estación. Los datos porcentuales fueron transformados por el  $\arcsen \sqrt{x}$  por no presentar una distribución normal. Las medias se compararon mediante el test de Tukey-Kramer. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el procedimiento PROC MIXED del SAS con un nivel de significación establecido del 5%. La interacción estación por raza no fue significativa para ninguna de las variables analizadas. Los resultados de **VOL**, **TSPZ**, **MP**, **V** y **PEN** fueron mayores en verano y otoño (estación reproductiva). No se observaron diferencias significativas entre estaciones en la **MM**, **CONC** y el **PEV** pero el **pH** disminuyó desde el otoño hacia el verano. La raza Pampinta mostró una mayor **CONC** y **TSPZ** independientemente de la estación del año considerada, en cambio la raza Corriedale tuvo un mayor **PEN**. En las demás variables no se encontraron diferencias significativas por efecto de raza.

**Cuadro 1:** Medias ( $\pm$ ES) de caracteres seminales por estación y raza en carneros de la raza Corriedale y Pampinta

Caracteres Seminales	ESTACIÓN				RAZA	
	VERANO n=107	OTOÑO n=126	INVIERNO n=109	PRIMAVERA n=94	CORRIEDALE n=234	PAMPINTA n=202
<b>VOL</b> (ml)	1,0 $\pm$ 0,1a	1,0 $\pm$ 0, 1a	0,8 $\pm$ 0, 1b	0,7 $\pm$ 0, 1b	0,8 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1
<b>MM</b> (0-5)	4,4 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,1
<b>pH</b>	7,5 $\pm$ 0,1b	8,2 $\pm$ 0,1a	7,9 $\pm$ 0,1a	7,9 $\pm$ 0,1ab	8,0 $\pm$ 0,1a	7,8 $\pm$ 0,1b
<b>CONC</b> (10 <sup>9</sup> SPZ/ml)	3,8 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,1b	4,3 $\pm$ 123a
<b>TSPZ</b> (10 <sup>9</sup> SPZ/eyac.)	3,9 $\pm$ 0,2a	3,7 $\pm$ 0,1a	3,1 $\pm$ 0,1b	3,0 $\pm$ 0,1b	3,1 $\pm$ 0,1b	3,8 $\pm$ 0,1a
<b>MP</b> (%) (*)	81,8 $\pm$ 0,9a	79,7 $\pm$ 0,7a	74,2 $\pm$ 1,0ab	72,6 $\pm$ 1,0b	77,6 $\pm$ 0,6	76,5 $\pm$ 0,8
<b>V</b> (0-5)	4,4 $\pm$ 0,1a	4,3 $\pm$ 0,1a	4,1 $\pm$ 0,1ab	3,9 $\pm$ 0,1b	4,2 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,1
<b>PEV</b> (%) (*)	79,9 $\pm$ 0,9	79,2 $\pm$ 0,9	75,7 $\pm$ 1,1	82,1 $\pm$ 0,8	79,2 $\pm$ 0,7	79,0 $\pm$ 0,7
<b>PEN</b> (%) (*)	94,2 $\pm$ 0,5a	95,0 $\pm$ 0,4a	83,5 $\pm$ 1,2b	83,6 $\pm$ 1,3b	91,4 $\pm$ 0,6a	86,3 $\pm$ 0,9b

abc valores con letras distintas en las filas dentro de estación y raza difieren significativamente ( $p < 0,05$ )

(\*) datos transformados por el  $\arcsen \sqrt{x}$ .

En conclusión, las características seminales mejoran en la época reproductiva (verano-otoño), lo que demuestra una estacionalidad bien marcada en ambas razas y permitiría el mayor aprovechamiento de los reproductores en esa época del año.

**EVALUACIÓN POR MEDIO DE COMPUTER ASSISTED SPERM ANALYSIS (CASA)  
DE SEMEN CONGELADO-DESCONGELADO DE CARNEROS DE  
RAZAS CORRIEDALE Y PAMPINTA**

D.E. Aguilar<sup>1</sup>, T. Vera<sup>2</sup>, G. Brogliatti<sup>3</sup>, D. Rodríguez<sup>3</sup>, G. Larraburu<sup>3</sup>, R. Cavia<sup>3</sup>,  
C. Faverín<sup>4</sup>, J. Aller<sup>5</sup>, R. Alberio<sup>5</sup>

<sup>1</sup>EEA INTA Mercedes, <sup>2</sup>EEA INTA La Rioja, <sup>3</sup>Centro Genético EOLIA SA, <sup>4</sup>FCEyN-UNMdP, <sup>5</sup>EEA INTA Balcarce, E-mail: [daguilar@correo.inta.gov.ar](mailto:daguilar@correo.inta.gov.ar)

El objetivo del presente trabajo fue determinar si las características espermáticas del semen congelado-descongelado de carneros de raza Corriedale y Pampinta, presentan variaciones estacionales y realizar una comparación entre ambas razas utilizando la metodología CASA. Eyaculados de 6 carneros adultos Corriedale y 5 Pampinta obtenidos en 5 semanas consecutivas por estación durante un año, fueron congelados según protocolo de Maxwell 2000. Las dosis de semen se descongelaron en Baño María a 37°C agregándose diluyente hasta lograr una concentración de  $110 \times 10^6$  espermatozoides/ml. Posteriormente una alícuota de 20 µl fue colocada en la cámara del espermógrafo computarizado (Hamilton Thorne, IVOS Versión 10, CASA, Berkley, CA, USA), para el registro del porcentaje de espermatozoides móviles (**MOT**), porcentaje de motilidad progresiva (**MP**), velocidad promedio (**VAP**), velocidad rectilínea (**VSL**), amplitud lateral (**ALH**) y porcentaje de linealidad (**LIN**). El modelo estadístico (DCA) para todas las variables respuesta incluyó los efectos fijos de estación, raza y su interacción y como efecto aleatorio la repetición dentro de estación y raza. Se utilizó el PROC MIXED del SAS. Por no presentar una distribución normal los datos porcentuales fueron transformados por el  $\arcsen \sqrt{x}$ . Las medias se compararon mediante el test de Tukey-Kramer y el nivel de significación establecido fue del 5%. La interacción estación por raza fue significativa para las variables **MP**, **VAP**, **VSL**, **ALH** y **LIN** y no significativa para **MOT**. Los resultados de las medias pueden observarse en la tabla 1.

Tabla 1: Medias ( $\pm$ ES) de características seminales posdescongelación por estación y raza de carneros

Caract. seminales	CORRIEDALE				PAMPINTA			
	VERANO n=15	OTOÑO n=15	INVIERNO n=15	PRIMAV n=15	VERANO n=15	OTOÑO n=15	INVIERNO n=15	PRIMAV n=15
<b>MP</b> % (*)	14,1 $\pm$ 1,1b	15,5 $\pm$ 0,7b	18,7 $\pm$ 1,2b	18,8 $\pm$ 1,0b	19,9 $\pm$ 0,9a	18,4 $\pm$ 0,8b	17,2 $\pm$ 0,4b	17,6 $\pm$ 0,6b
<b>VAP</b> µm/s	71,1 $\pm$ 1,7	70,8 $\pm$ 1,4	74,7 $\pm$ 1,6	76,2 $\pm$ 1,3	79,9 $\pm$ 3,1	75,1 $\pm$ 1,7	72,3 $\pm$ 0,8	72,8 $\pm$ 1,1
<b>VSL</b> µm/s	46,9 $\pm$ 1,2b	49,6 $\pm$ 0,9b	53,2 $\pm$ 1,5b	53,4 $\pm$ 1,1a	53,3 $\pm$ 2,1b	53,1 $\pm$ 1,1b	50,1 $\pm$ 0,7b	51,0 $\pm$ 0,7b
<b>ALH</b> µm	7,7 $\pm$ 0,1a	7,8 $\pm$ 0,1a	7,8 $\pm$ 0,1a	8,2 $\pm$ 0,1a	7,7 $\pm$ 0,2a	7,9 $\pm$ 0,1a	7,8 $\pm$ 0,1a	7,6 $\pm$ 0,1b
<b>LIN</b> % (*)	34,3 $\pm$ 0,5b	38,7 $\pm$ 0,7a	38,3 $\pm$ 0,4a	36,9 $\pm$ 0,3a	37,6 $\pm$ 0,6a	37,8 $\pm$ 0,4a	37,4 $\pm$ 0,3a	38,3 $\pm$ 0,3a
abc valores con letras distintas en las filas difieren significativamente (p < 0,05)								
Caract. seminales	ESTACIÓN				RAZA			
	VERANO n=30	OTOÑO n=30	INVIERNO n=30	PRIMAV n=30	CORRIEDALE n=60	PAMPINTA n=60		
<b>MOT</b> % (*)	35,6 $\pm$ 2,9ab	31,9 $\pm$ 2,1b	40,4 $\pm$ 2,7ab	42,3 $\pm$ 1,9a	37,4 $\pm$ 1,6	37,8 $\pm$ 1,8		

abc valores con letras distintas en las filas dentro de estación y raza difieren significativamente (p < 0,05)

La raza Pampinta presentó una mayor **MP** en verano con una tendencia declinante hacia las estaciones siguientes, esto no fue observado en la raza Corriedale. En cambio en la raza Corriedale se observó una tendencia a aumentar la **VSL** en la estación no reproductiva a diferencia de la Pampinta que lo hizo en la estación reproductiva. La **ALH** fue muy homogénea en todas las estaciones en ambas razas, destacándose el bajo valor obtenido en primavera en la raza Pampinta. En la **VAP** no se observaron diferencias atribuibles a estación o raza. Entre los efectos fijos sin interacción, se destaca el mayor porcentaje de **MOT** en la estación no reproductiva y especialmente en la primavera, no existiendo efectos atribuibles a la raza.

## EFFECTO DE UN REGULADOR DEL METABOLISMO ENERGÉTICO Y MINERAL SUMINISTRADO A CABRAS MESTIZAS DURANTE EL PERIPARTO

L. Moraga, M.A. Soriano, W. von Frey, M. Duchens, C. Núñez  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Santiago, Chile  
[lumoraga@uchile.cl](mailto:lumoraga@uchile.cl)

El riesgo de alteraciones metabólicas en vacas lecheras es conocido, como también lo es su asociación con disturbios digestivos, reproductivos, inmunológicos y la producción de leche. Los grupos de Medicina y Reproducción de nuestra Facultad han estudiado, dentro de las estrategias para disminuir el riesgo de estas patologías, el efecto de una dosis única de una combinación de precursores de glucosa (propilenglicol y propionato de calcio) dentro de las 12 primeras horas pos parto a vacas lecheras. Se han observado efectos favorables sobre el estado de salud y producción. Los antecedentes respecto de las enfermedades metabólicas y su efecto sanitario-productivo en ganado caprino son escasos de tal manera que se realizó este estudio que tiene como objetivo evaluar el efecto, de una mezcla conteniendo 220g de propilenglicol, propionato de calcio, agua y elementos traza (PPCAL), en la retención de placenta y la ganancia de peso en cabritos hijos de cabras mestizas. El estudio se ejecutó en un plantel caprino mestizo ubicado en la zona cordillerana de la región Metropolitana-Chile. Cabras preñadas se asignaron aleatoriamente a dos grupos: tratado(n=43) y control (n=43). A las hembras tratadas se les suministró una dosis de PPCAL dentro de las primeras 12 horas pos parto. La(s) dosis preparto se suministraron cada diez días dentro del período de pariciones estableciéndose dos subgrupos: 35 cabras con una dosis preparto (T1) y 8 cabras con más de una dosis (T2). El grupo testigo no recibió ninguna dosis. Inmediatamente después del parto, a cada individuo se realizó examen clínico según los métodos de exploración clínica directa. La incidencia de presentación de retención de placenta, definida como la retención por más de 12 horas, se analizó mediante la prueba de chi cuadrado. Para evaluar la ganancia diaria de peso a los 28 días de edad se realizó un análisis de varianza usando el programa estadístico SAS, que consideró los factores: n° de tratamientos (T0, T1 y T2), n° de crías (1, 2 y 3) y n° ordinal de parto (NOP1 y NOP>1). No se diagnosticaron estados clínicos de hipocalcemia o alteraciones del metabolismo energético. Ocho cabras T0 (18,6%), 1 cabra T1 (2,9%) y ninguna del grupo T2 cursaron con retención de placenta. Se observó una diferencia significativa ( $p=0,03$ ) en la incidencia en T1 respecto a T0. La ganancia diaria de peso fue de  $180\pm 60$  g (promedio $\pm$ DE) en el grupo T0, de  $210\pm 40$  g en el grupo T1 y de  $190\pm 30$  g en el grupo T2, no observándose diferencias significativas entre los tres grupos. Las diferencias en la frecuencia de retención de placenta entre grupos tratados y testigo podrían atribuirse a condiciones de hipocalcemia subclínica y/o cetosis subclínica, estados que, en vacas lecheras se asocian con alteraciones reproductivas. Esta condición no ejerció un efecto importante sobre la ganancia de peso de las crías, lo que evidencia que aparentemente la producción de leche no se vio afectada. Las cabras tratadas tuvieron menor frecuencia de retención de placenta, lo cual sugiere un efecto positivo del tratamiento en el metabolismo energético y/o mineral. Considerando la variabilidad observada en la ganancia de peso, se propone ejecutar estudios adicionales con un mayor número de animales y en lo posible en planteles caprinos de mayor potencial productivo, que están más expuestos a estos disturbios metabólicos.



**TEMA D**

---

**EQUINOS**





## RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA EXPRESIÓN DE ACTINA EN EL UTERO DE YEGUAS CON ENDOMETRITIS

E. Fumuso<sup>1</sup>M. Rivulgo<sup>1</sup>, R. Alzola<sup>1</sup>, A. Felipe<sup>1</sup>, D. Rogan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias U.N.C.P.B.A. Tandil-Argentina <sup>2</sup>Bioniche Animal Health-Canadá, E-mail: [efumuso@vet.unicen.edu.ar](mailto:efumuso@vet.unicen.edu.ar)

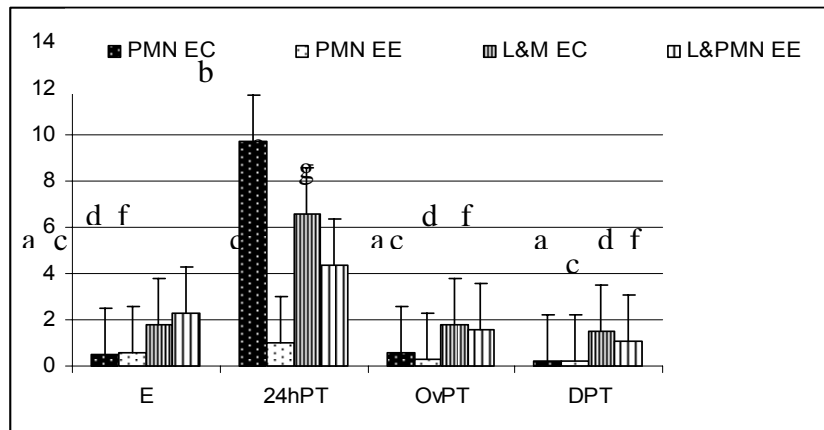
El endometrio está compuesto por epitelio luminal y glandular, células y fibras del estroma vasos sanguíneos y linfáticos. Los cambios inflamatorios y degenerativos de éstas estructuras son importantes causas de infertilidad en la yegua. Las proteínas citoesqueléticas, particularmente la actina, cumplen una importante función en distintos procesos celulares y de interacción intercelular. La actina es relevante en los cambios del tejido endometrial bajo condiciones fisiológicas. Su inducción es coincidente con la activación de células precursoras de fibras musculares lisas vasculares y estromáticas. En este trabajo determinamos en forma preliminar el patrón de expresión de alfa actina de músculo liso y sus relaciones con estados fisiopatológicos en el endometrio de yeguas luego de la inducción de endometritis. Cinco yeguas fueron consideradas susceptibles a endometritis cuando a las 48 hs post-inseminación artificial con semen muerto presentaron fluido intrauterino >2 cm por ultrasonografía y citología exfoliativa positiva. Se tomaron muestras de biopsia endometrial en Estro (E), luego se inocularon con *Streptococcus zooepidemicus*, se confirmó la infección a la las 48 hs y se tomaron biopsias post-infección (PI), periovulación (PO) y al día 7 pos ovulación (7PO) con control ultrasonográfico diario. Las muestras fueron sometidas al análisis histopatológico a fin de lograr su caracterización general. Para cada muestra, uno de los cortes se coloreó con Hematoxilina de Mayer y Eosina. La presencia de inflamación fue evaluada por 2 operadores a doble ciego y clasificada como 1: ausente, 2: leve, 3: moderada, 4: severa, en 12 campos con una magnificación de 100x. Los datos fueron analizados por ANVA. La distribución de alfa actina de músculo liso fue examinada a través de la observación de la totalidad del corte distinguiendo los estratos esponjoso y compacto. La inmunotinción fue ranqueada entre 0 (ausencia) y 3 (alta intensidad). Para la muestra de cada animal se obtuvo el valor de HSCORE:  $\sum P_i (i+1)$ , donde  $i$  representa el score de intensidad y  $P_i$  es el porcentaje correspondiente a los campos, con una magnificación de 100 x. Al momento de evaluar inflamación, se observaron diferencias entre el E y PI, PO y 7PO  $p < 0.001$ , sin diferencias entre el EC y EE. Alfa actina se localizó en las células musculares lisas vasculares y en las células estromáticas del endometrio. También se localizó en todos los vasos endometriales. En el caso de los vasos de menor calibre y próximos al epitelio, las inmunomarcaciones fueron mayores. Se observaron diferencias significativas en el EC entre las muestras tomadas en E y PI, PO y 7PO ( $p < 0,001$ ). A nivel del estrato esponjoso las diferencias se observaron entre E y PI ( $p < 0,01$ ) y 7PO ( $p < 0,001$ ). En base a estos datos podemos inferir en forma preliminar que la inflamación se perpetuó a partir de la infección a lo largo del tiempo tanto en EE como EC y que la expresión de alfa actina podría tener un comportamiento diferente en ambas regiones del estroma endometrial. El incremento en el EE durante PO podría asociarse a la fase del ciclo en que se encontraban los animales. Si bien estos datos son preliminares indican una variación en el patrón de expresión de alfa actina que debería corroborarse en un número mayor de animales.

Palabras clave: yeguas, endometritis, Alfa actina

## EFFECTO DE UN INMUNOMODULADOR SOBRE EL ENDOMETRIO DE YEGUAS SANAS Y RESISTENTES A ENDOMETRITIS

E. Fumuso<sup>1</sup>M. Rivulgo<sup>1</sup>, R. Alzola<sup>1</sup>, A. Felipe<sup>1</sup>, D. Rogan<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias U.N.C.P.B.A. Tandil-Argentina  
<sup>2</sup>efumuso@vet.unicen.edu.ar, <sup>2</sup>Bioniche Animal Health-Canadá,

Se estudió el efecto de un inmunomodulador (complejo de pared celular de *Mycobacterium phlei* y DNA (MCC)) administrado por vía intrauterina, sobre el número leucocitos polimorfonucleares (PMN) y mononucleares (linfocitos y monocitos (L&M)) en biopsias endometriales de yeguas sanas y resistentes a endometritis (YSR). Las YSR se seleccionaron de un grupo de 16 cuando a las 48 hs post-inseminación artificial con semen muerto no presentaron fluido por ultrasonografía, con cultivo y citología exfoliativa negativa y biopsia endometrial normal (grado 1) de acuerdo a Kenney y Doig (1986). Las yeguas se consideraron en estro cuando presentaron folículos mayores de 30 mm y edema uterino. Las biopsias se colorearon con hematoxilina y eosina. El número de células se obtuvo del promedio de 12 campos con 1000 aumentos en el estrato compacto (EC) y en el estrato esponjoso (EE), de animales en estro (n=7, grupo E) sin EPCM. Las yeguas en estro (n=7), fueron tratadas con 1.500 ug de MCC intrauterino (MCC-V, Bioniche Animal Health, Canadá) y se tomaron biopsias 24 h pos-tratamiento (n=7, grupo 24hPT), en peri ovulación (n=7, grupo OvPT) y en diestro a los 6 días pos-tratamiento (n=7, grupo DPT). El número de células fue evaluado por dos observadores a doble ciegas y los resultados obtenidos (Fig 1) se analizaron por ANVA.



**Figura 1:** Para un mismo tipo celular y diferentes grupos, letras distintas indican  $p < 0,05$ .

Estudios previos permitieron detectar que el MCC actúa en el endometrio favoreciendo la producción de citoquinas pro y antiinflamatorias (Fumuso y cols, 2003, 2006) que favorecen la remodelación de tejidos y mejoran la condición uterina de yeguas susceptibles a endometritis persistente post-servicio. Sin embargo no se había probado en yeguas sanas sin someterlas a ningún estímulo inflamatorio. En este trabajo a las 24 hs pos inmunomodulación se observa un incremento significativo de PMN y L&M en el EC. A nivel del EE los L&M también se incrementaron, no detectándose diferencias entre el EC y el EE. Ambos tipos celulares volvieron a la normalidad pos ovulación y permanecieron bajos hasta el día 7 pos tratamiento. La presencia de linfocitos en endometrio de la yegua ha sido descrita previamente no difiriendo su presentación en estro o diestro (Watson, 1993). Luego de la IA o en casos de endometritis se ha visto incrementado el número de PMN y linfocitos (Tunon y cols, 2000, Watson, 1993). En este trabajo la respuesta al MCC fue más importante en el EC que en el EE probablemente por la administración intrauterina. Así mismo la respuesta al MCC se mostró acotada hasta la ovulación. Concluimos que el endometrio de las YSR genera una respuesta al MCC con un estímulo inflamatorio corto que podría favorecer la remodelación celular y las condiciones uterinas.

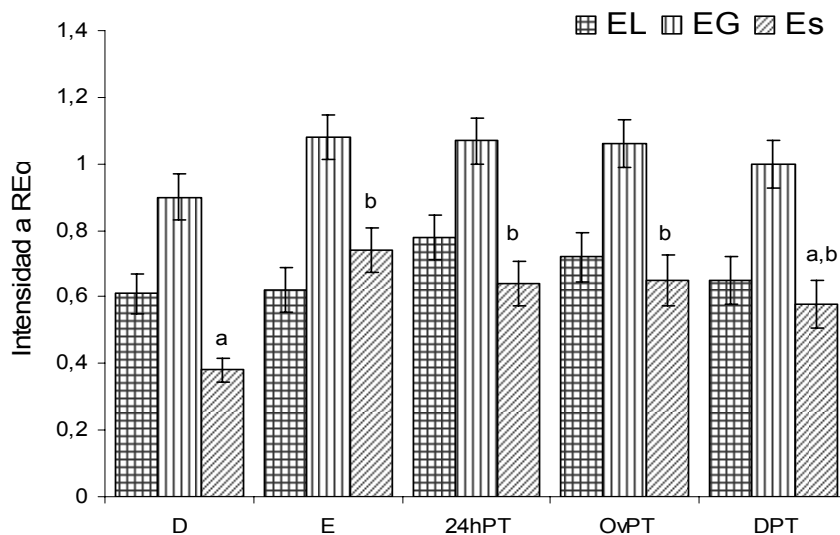
## EFFECTO DE UN INMUNOMODULADOR SOBRE EL CONTENIDO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE $\alpha$ ) EN UTERO DE YEGUAS SANAS Y RESISTENTES A ENDOMETRITIS DURANTE EL CICLO ESTRAL

S. Acuña<sup>1</sup>, C. Tasende<sup>1</sup>, M. Rivulgo<sup>2</sup>, R. Alzola<sup>2</sup>, A. Felipe<sup>2</sup>, D. Rogan<sup>3</sup> E. Fumuso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria, Montevideo-Uruguay, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias U.N.C.P.B.A., Tandil-Argentina, <sup>3</sup>Bioniche Animal Health-Canadá

E-mail: saap22@ adinet.com.uy

Se estudió el efecto de un inmunomodulador (complejo de pared celular de *Mycobacterium phlei* y DNA (MCC) intrauterino, sobre el contenido RE $\alpha$  en biopsias endometriales de yeguas sanas y resistentes a endometritis (YSR), durante el ciclo estral. Las YSR se seleccionaron de un grupo de 16 cuando a las 48 hs post-inseminación artificial con semen muerto no presentaron fluido intrauterino por ultrasonografía, con cultivo y citología exfoliativa negativa y biopsia endometrial normal (grado 1 de acuerdo a Kenney y Doig 1986). Las yeguas se consideraron en estro cuando presentaron folículos mayores de 30 mm y edema uterino. Los RE $\alpha$  fueron estudiados por inmunohistoquímica en: Epitelio Luminar (EL), Epitelio Glandular (EG) y Estroma (Es), de animales en diestro (n=3, grupo-D), en estro (n=7, grupo E) sin EPCM. Las yeguas en estro (n=7), fueron tratadas con 1.500 ug de MCC intrauterino (MCC-V, Bioniche Animal Health, Canadá) y se tomaron biopsias: 24 h pos-tratamiento (n=7, grupo 24hPT), en periovulación (n=7, grupo OvPT) y en diestro a los 6 días pos-tratamiento (n=7, grupo DPT). La intensidad de tinción de RE $\alpha$  (contenido de RE $\alpha$ ), fue evaluada por dos observadores independientes y analizada por ANOVA, incluyendo efecto de: observador, grupo y tipo celular. Se encontró efecto de grupo y de tipo celular, mientras que no hubo diferencias de observador ni interacción entre grupo y tipo celular sobre el contenido de RE $\alpha$ . (Figura).



Para un mismo tipo celular y diferentes grupos, letras diferentes difieren ( $p < 0,05$ ).

En relación a los tipos celulares estudiados, el contenido de RE $\alpha$  fue mayor en el EG que en EL y Es en todos los grupos ( $p < 0.001$ ). El contenido de RE $\alpha$  en el Es fue mayor al estro (E) que en diestro (D) en acuerdo con lo reportado por Hartt L. S. et al (2005), que encontraron mayores contenidos de RE al estro que en diestro. El contenido de RE $\alpha$  en el Es fue similar en los grupos luego del tratamiento con MCC (Grupos: 24hPT, OvPT y DPT), sugiriendo que el tratamiento con MCC no modifica la sensibilidad a los estrógenos en el endometrio de yeguas sanas y resistentes a endometritis.

## EVALUACION DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL IMPREGNADO CON PROGESTERONA PARA ACORTAR LA TRANSICIÓN EN YEGUAS

M. Azcurra<sup>1,2</sup>, S. Rodriguez<sup>1</sup>, J. Vlek<sup>1</sup>, M. Morete<sup>1,2</sup>, I. Videla Dorna<sup>3</sup> R.L. de la Sota<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, Instituto de Teriogenología, FCV-UNLP  
<sup>2</sup>Haras Llaveneras SA; <sup>3</sup>Syntex Argentina SA; <sup>4</sup>E-mail: [luzbel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:luzbel@fcv.unlp.edu.ar)

Se realizó un experimento con el objetivo de estudiar la dinámica folicular, los perfiles plasmáticos de progesterona (P<sub>4</sub>), y la tasa de ovulación en yeguas en transición luego de la utilización de un dispositivo intravaginal placebo (SP) o con de 1.38 g P<sub>4</sub> natural (CP; Syntex SA) durante 10 días con o sin luz artificial (CL, SL). El experimento se realizó en el Haras Llaveneras ubicada en Chascomús, BA y se utilizaron yeguas (n=35) de raza Warm Blood (salto). Se evaluaron ginecológicamente a las yeguas por ultrasonografía para determinar si estaban aptas para ingresar al experimento. Solo ingresaron aquellos animales que poseían signos de celo prolongado (10 días [d]) al retajeo y folículos en los ovarios mayores a 15 mm de diámetro. Los animales fueron asignados en forma aleatoria a cada uno de los 4 tratamientos (factorial de 2 x 2; TRT1 [SLSP], dispositivo intravaginal [Syntex, SA] que contenga 0.0 g P<sub>4</sub> con 12 h/d-luz artificial, n=13; TRT2 [SLCP], dispositivo intravaginal que contenga 1.38 g P<sub>4</sub> con 12 h/d-luz artificial, n=13; TRT3 [CLSP], dispositivo intravaginal que contenga 0.0 g P<sub>4</sub> con 16 h/d-luz artificial, n=5; TRT4 [CLCP], dispositivo intravaginal que contenga 1.38 g P<sub>4</sub> con 16 h/d-luz artificial, n=4). Luego de 10 d, se retiraron los implantes y las yeguas fueron retajeadas y ecografiadas en forma diaria. Cuando el folículo preovulatorio alcanzó un diámetro de 35 mm, se le inyectó a la yegua una dosis de 2500 UI de hCG (Ovusyn®, Syntex SA, Argentina) y se determinó el momento de ovulación. Se estudió la dinámica folicular mediante ultrasonografía. Para ello, los d 0, 2, 4, 6, 8, 10, 11-19 del protocolo se realizaron mapas de los folículos mayores 15 mm presentes en ambos ovarios. Se recolectaron muestras de sangre en tubos heparinizados los d 0, 2, 4, 6, 8, 10, 11 y 12 del protocolo. Todas las muestras de sangre (n=418) obtenidas fueron centrifugadas y almacenadas a -20°C® hasta que las concentraciones de P<sub>4</sub> fueron determinadas por RIA (Coat-A-Count® Progesterone, DPC, Los Angeles, CA). Las comparaciones entre tratamientos se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS® para mediciones repetidas en tiempo (SAS® User's Guide. 1989). Las yeguas con dispositivos con 1.38 g de P<sub>4</sub> alcanzaron perfiles superiores a 1 ng/ml durante los 10 del tratamiento comparado con los placebo (P<0.001). El diámetro del folículo dominante (DFD) el día de la inserción de los dispositivos (d0) y al día del retiro (d10) fue similar entre los cuatro tratamientos evaluados (P>0.35; P>0.35). El DFD en las yeguas SL fue menor al de las yeguas CL (28.2±2.02 vs. 35.9±2.7 mm, P<0.006). Por el contrario, el DFD fue similar entre los tratamientos SP y CP (32.2±2.3 vs. 31.8±2.4 mm, P>0.84). La tasa de ovulación (TO) sin tener en cuenta el DFD al momento de la colocación del implante, fue superior en los tratamientos CL comparado con los tratamientos SL (P<0.02; CL 100% [8/8] vs. SL 58% [14/24]). En las yeguas CL, no hubo diferencias significativas en la TO entre las yeguas CP y SP (100% [5/5] vs. 100% [3/3], P>0.99). Por el contrario, en las yeguas SL y SP, la TO fue numéricamente inferior aunque estadísticamente similar que en las yeguas SL y CP (45.4% [6/12] vs. 66.7% [8/12], P>0.30). Si al día 0, el DFD era entre 15 y 25 mm, la TO para las yeguas SL y SP fue numéricamente inferior aunque estadísticamente similar a la de las yeguas SL y CP (33.0% [1/3] vs. 75.0% [3/4], P>0.27). Por el contrario, si el DFD era superior a 25 mm el día de la colocación del implante, no se encontraron diferencias significativas en la TO entre yeguas SL, y SP y CP (100.0 [5/5] vs. 100.0 [4/4], P>0.99). Las yeguas CL tuvieron un intervalo retiro-ovulación y un momento de ovulación más corto que las yeguas SL (33.0±20.9 vs. 100.0±17.0, P>0.03; 30.0±12.0 vs. 72.0±9.8 h, P>0.01). No hubo diferencias significativas en el intervalo hCG-ovulación entre las yeguas SL y CL (44.0±3.9 vs. 36.0±5.6, P>0.25); y entre las yeguas SP y CP (37.3±4.5 vs. 45.3±4.5, P>0.22). En resumen, en las yeguas SL y CP que al día 0 tenían un folículo entre 15-25 mm, el dispositivo tendió a aumentar la tasa de ovulación en un 42%; pero el dispositivo no tuvo efecto cuando el folículo era mayor a 25 mm. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede utilizar un dispositivo en yeguas que poseen un DFD es entre 15 y 25 mm para acortar la transición.

## PERFILES PLASMÁTICOS DE PROGESTERONA EN EQUINOS TRATADOS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES IMPREGNADOS CON DISTINTAS DOSIS DE PROGESTERONA

S. Rodriguez<sup>1</sup>, M. Azcurra<sup>1,2</sup>, J. Vlek<sup>1</sup>, M. Morete<sup>1,2</sup>, I. Videla Dorna<sup>3</sup> R.L. de la Sota<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, Instituto de Teriogenología, FCV-UNLP

<sup>2</sup>Haras Llanereras SA; <sup>3</sup>Syntex Argentina SA, <sup>4</sup>E-mail: [luzbel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:luzbel@fcv.unlp.edu.ar)

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los perfiles plasmáticos de progesterona (P<sub>4</sub>) en yeguas ovariectomizadas luego de la utilización de un dispositivo intravaginal con placebo o con tres concentraciones diferentes de progesterona colocado durante 10 d. Se utilizaron yeguas (n=4) de raza Warm Blood (salto) del haras Llanereras SA, ubicado en Chascomús, Buenos Aires; en un diseño de cuadrados latinos de 4 x 4. Todos los animales fueron ovariectomizados por el flanco 7 d antes de comenzar el experimento, y luego fueron asignados en forma aleatoria a cada uno de los 4 tratamientos, realizando 4 repeticiones consecutivas de 10 d cada una. A todos los animales experimentales del grupo placebo (PLA) se les insertó un dispositivo intra-vaginal que contenía 0 g P<sub>4</sub> (PLA); mientras que a todos los animales experimentales del grupo TRT1, TRT2 y TRT3 se les insertó un dispositivo intra-vaginal sin uso (nuevo) que contenía 1.0 g, 1.38 y 1.9 g P<sub>4</sub> respectivamente. El periodo de tiempo entre la finalización y el inicio de una repetición fue de 10 días. Se recolectaron, diariamente, muestras de sangre en tubos heparinizados, a las 08:00 h desde el d0 al d10. Además, en los d 0 y 10 de cada repetición se les realizó a todas las yeguas una ventana de sangrado para estudiar la dinámica de la P<sub>4</sub> plasmática al momento de la inserción y del retiro de los implantes intravaginales respectivamente. Para ello se obtuvieron muestras de sangre cada 2 h entre las 08:00 y las 20.00 h. Todas las muestras de sangre (n=368) obtenidas fueron centrifugadas y almacenadas a -20°C hasta que las concentraciones de P<sub>4</sub> fueron determinadas por RIA (Coat-A-Count® Progesterone, Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA). Para el pool bajo (0.7 ng/ml), el coeficiente de variación intra-ensayo fue de 7.3 % y el coeficiente de variación inter-ensayo fue de 9.6%. Para el pool alto (4.7 ng/ml), el coeficiente de variación intra-ensayo fue de 5.8 % y el coeficiente de variación inter-ensayo fue de 6.8 %. Las concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> fueron analizadas mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS® para un diseño de cuadrados latinos de 4 x 4 en parcelas divididas. El modelo matemático incluyó los efectos de hilera, columna, tratamiento, y las interacciones de hilera por horas, columna por horas, y tratamiento por horas. Se utilizaron los siguientes contrastes ortogonales para determinar si las diferencias entre las medias de los tratamientos eran significativas: PLA vs. TRT1, TRT2 y TRT3, TRT1 vs. TRT2 y TRT3, TRT2 vs. TRT3. Los dispositivos con P<sub>4</sub> alcanzaron perfiles superiores a los placebo (P<0.001). No hubo diferencias significativas entre los dispositivos de 1.0, 1.38 y 1.9 g en los perfiles plasmáticos de P<sub>4</sub> durante las 12 h posteriores a la inserción (P>0.23), durante los 10 días que estuvieron colocados (P>0.16) o durante las 12 h posteriores al retiro (P>0.37). Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> bajaron por debajo de 1 ng/ml al día 6 post inserción con el dispositivo de 1.0 g y al día 9 con el dispositivo de 1.38 g; pero se mantuvieron por arriba de 1 ng/ml durante los 10 días que el dispositivo de 1.9 g estuvo colocado. Cuando se evaluó el área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> logradas con los dispositivos estudiados, estas fueron inferiores con los dispositivos de 1.0 g que con los de 1.38 y 1.9 g (P<0.01). En resumen, el dispositivo de 1.38 g de P<sub>4</sub> fue capaz de liberar una concentración superior a 1 ng/ml durante 9 días y el dispositivo de 1.90 g de P<sub>4</sub> fue capaz de liberar una concentración superior a 1 ng/ml durante los 10 días que duró el protocolo.

Palabras claves: dispositivo intravaginal, progesterona, yegua.



**TEMA E**

---

**REPRODUCCION EN PEQUEÑOS ANIMALES Y ANIMALES DE LABORATORIO**





## ESTRUCTURA TESTICULAR EN RATONES SELECCIONADOS POR PESO DURANTE 50 GENERACIONES

Bernardi, S.<sup>(1)</sup>; Brogliatti, G.<sup>(2)</sup>; Oyarzabal, M. I.<sup>(3)</sup>

(1)Cát.de Histología I y Embriología Básica, Fac. Cs. Veterinarias, UNR. (2)Centro Genético Bovino EOLIA S.A. (3)Cát.de Producción Animal II y CIC, UNR.

La selección genética intensa sobre caracteres productivos puede deteriorar la reproducción y, así disminuir la posibilidad de diseminación de los genotipos buscados por su mayor eficiencia productiva. Para evaluar estos efectos en el largo plazo es conveniente utilizar modelos experimentales en animales de laboratorio. A partir de una población de *t* de ratones de la cepa CF1 sin selección, se fundaron un par de líneas de selección divergente para peso (P) a los 49 días de edad (*s*: línea seleccionada para bajo P, *s'*: línea seleccionada para alto P), en la Facultad de Ciencia Veterinarias (UNR). La respuesta a la selección realizada durante 50 generaciones estuvo acompañada de un deterioro de la fertilidad en las líneas seleccionadas al compararlas con *t*, observado en variables tales como: tamaño de camada, intervalo entre partos, porcentaje de pariciones, etc. (Bernardi, S., 2000). Para analizar estas diferencias se realizaron diversos estudios sobre la hembra encontrando diferencias significativas, por ej. en el número y tamaño de folículos ováricos, y en el número de cuerpos lúteos, embriones y sitios de implantación (Bernardi, S., 2005). Otro factor fundamental al hablar de fertilidad, es el macho que dará servicio; por ello, en el presente trabajo se propuso comparar la estructura testicular de estos animales. Se eligieron al azar 15 animales adultos (75-90 días) de cada una de las líneas, se extirparon los testículos y luego de pesarlos (Ptest) se fijaron en formol buffer (pH 7.4), se incluyeron en parafina y los cortes se colorearon con hematoxilina y eosina. Sobre los mismos se estimó el diámetro del túbulo seminífero (DTS) y el espesor del epitelio (EES) utilizando regla graduada para M.O. Se calculó el promedio y error estándar para cada variable y mediante pruebas de comparaciones múltiples HSD de Turkey-Kramer, se probó si existían diferencias entre líneas, los resultados obtenidos fueron:

Línea	P (grs)	Ptest (grs)	DTS ( $\mu\text{m}$ )	EES ( $\mu\text{m}$ )
<i>t</i>	32,75 $\pm$ 0,85 ab	0,21 $\pm$ 0,01 b	190,86 $\pm$ 0,77 a	59,67 $\pm$ 0,74 ab
<i>s</i>	28,64 $\pm$ 0,96 b	0,18 $\pm$ 0,01 b	183,83 $\pm$ 3,49 a	58,21 $\pm$ 0,20 b
<i>s'</i>	34,39 $\pm$ 2,09 a	0,25 $\pm$ 0,01 a	186,14 $\pm$ 3,53 a	60,35 $\pm$ 0,12 a

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Además, para cada línea se estimó el coeficiente de determinación de Ptest en P, de DTS en Ptest y de EES en Ptest:

	<i>t</i>	<i>s</i>	<i>s'</i>
R <sup>2</sup> (Ptest-P)	0,677	0,791	0,669
R <sup>2</sup> (DTS-Ptest)	0,933	0,665	0,778
R <sup>2</sup> (EES-Ptest)	0,221	0,028	0,052

La selección por peso diferenció a las líneas en el mismo sentido de la selección practicada, excepto para el DTS; así los machos de la línea más pesada (*s'*) presentan testículos de mayor peso y el epitelio seminífero es más alto si se los compara con los de la línea *s* y con los de la línea *t*. Probablemente, esto se deba a un mayor índice mitótico en el epitelio, lo que resultaría en un mayor número de espermatozoides influyendo así sobre la fertilidad. Finalmente, se observó que el DTS varía en función del Ptest, fundamentalmente en la línea sin selección (*t*).

**EFFECTO DEL INHIBIDOR DE LA AROMATASA, ANASTRAZOLE, EN LA PRÓSTATA  
Y SEMEN CANINO: RESULTADOS PRELIMINARES**

González,G<sup>1</sup>; Guendulain,C<sup>1</sup>; Flores, MF<sup>1</sup>; Gobello,C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria UNRC,

<sup>2</sup>Facultad de Veterinaria UNLP, Argentina

E-mail: [ggonzalez@ayv.unrc.edu.ar](mailto:ggonzalez@ayv.unrc.edu.ar)

El anastrozole (DZ1033) es un potente y selectivo inhibidor de la aromatasa, enzima de 4<sup>a</sup> generación que permite la conversión de andrógenos en estrógenos en los tejidos periféricos. En trabajos previos en perros y monos, los inhibidores de esta enzima han sido usados para antagonizar el sobrecrecimiento producido por los estrógenos en la glándula prostática. Para testear el efecto y la seguridad de esta droga en la próstata y calidad seminal, se administró a 6 perros con quistes, 0.75 ( $\geq 10 < 25$  kg), 1 ( $\geq 25$  kg) mg/día vía oral durante 60 días con un seguimiento posterior de un mes de duración. Los perros fueron evaluados antes del tratamiento y luego mensualmente. Esta evaluación incluyó el examen físico general, hemograma y perfil bioquímico sérico, ecografía prostática, diámetro escrotal, consistencia testicular, libido y parámetros seminales. Los datos fueron analizados por ANOVA usando un Modelo General Lineal que incluyó el efecto principal de la observación (-1, 1, 2 y 3 meses). El volumen prostático disminuyó significativamente durante el primer ( $31.6 \pm 6.9$ ) y segundo ( $21.8 \pm 3.7$ ) mes de tratamiento en relación al encontrado antes de iniciar el tratamiento ( $41.0 \pm 9.6$ ;  $P < 0.04$ ). El parénquima prostático se tornó más homogéneo y los quistes desaparecieron en el segundo mes de tratamiento. La consistencia testicular y el diámetro escrotal disminuyeron levemente ( $P > 0.05$ ), la libido y la erección no fueron alteradas y el volumen seminal disminuyó levemente en algunos perros durante el tratamiento ( $P > 0.05$ ). La concentración espermática, motilidad y anormalidades morfológicas se mantuvieron inalteradas ( $P > 0.05$ ). Ningún animal presentó alteraciones hematológicas, bioquímicas, ni efectos sistémicos colaterales. Se concluye que este inhibidor de la enzima aromatasa, anastrozole produce una rápida disminución del volumen prostático sin producir efectos adversos, clínicos, hematológicos ni seminales. Estos resultados justifican futuros estudios con este grupo de drogas en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna en los perros, que podrían contribuir al conocimiento de la evolución y bases endócrinas de esta enfermedad que presenta características similares a las que acontecen en el hombre.

