

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**SUBFERTILIDAD EN VACAS PARA CARNE: CARACTERIZACIÓN DE LA
FUNCIONALIDAD OVÁRICA**

por

ALVEZ, Andrea

TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2014**

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS aprobada por:

Presidente de mesa: _____

Marcelo Rodríguez

Segundo miembro: _____

Dra. Carolina Viñoles Gil

Tercer miembro: _____

Ing. Agr. Graciela Quintans

Cuarto miembro: _____

Dra. Ana Meikle

Fecha: 29/09/2014

Autor: _____

Andrea Lorena Alvez Cerizola

A mi abuela Evangelina Müller por transmitirme sus fuertes convicciones de lucha por lograr una meta, simplemente gracias....

AGRADECIMIENTOS

A Carolina Viñoles por su contribución en mi formación profesional en destrezas prácticas y teóricas para realizar esta tesis, y orientarme, motivarme y exigirme lo necesario para cumplir con las obligaciones del caso y hacer posible la finalización del trabajo

A Ana Meikle por brindar su tiempo en corregir la tesis y orientarme.

A Serrana Guillén por el apoyo al trabajo de campo que fue fundamental y Milena Sequeira por el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de Facultad de Veterinaria.

Al personal de INIA Tacuarembó, especialmente a Daniel Parada que estuvo en la mayor parte del trabajo de campo.

A mi familia por apoyarme en el transcurso de mi carrera y formarme en valores.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	1
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	6
RESUMEN	7
SUMMARY	8
INTRODUCCIÓN	9
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
Relevancia de la cría en la ganadería.....	10
Eficiencia reproductiva	10
Síndrome de vaca repetidora	12
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO	14
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Selección de los animales.....	14
Sanidad en vacas	15
Animales y diseño experimental	16
Sincronización de estros.....	16
Ultrasonografía ovárica.....	16
Procesamiento de sangre y análisis de progesterona	17
Asignación de forraje	17
Determinaciones en los animales	17
Peso vivo.....	17
Condición corporal	18
Altura.....	18
Músculo y grasa	18

Análisis Estadístico	19
RESULTADOS.....	19
Peso vivo y ganancia diaria de peso.....	19
Condición corporal	22
Altura	23
Músculo y grasa.....	24
Dinámica folicular.....	24
Perfiles de progesterona.....	26
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1: Registro de altura de anca en vacas fértiles y subfértiles.....	24
Cuadro 2: Porcentaje de grasa intramuscular, AOB, grasa subcutánea y P8 en vacas fértiles y subfértiles.....	24
Cuadro 3: Número de ondas foliculares, área del cuerpo lúteo (CL), cantidad de folículos de 2 a 5 mm, duración del ciclo e intervalo celo-ovulación en vacas fértiles y subfértiles.....	26
Figura 1: Representación esquemática del diseño experimental.....	16
Figura 2: Posición para una correcta medición de la altura de la cadera.....	18
Figura 3: Evolución del peso vivo, corregido por peso a los 205 días de edad, desde el nacimiento hasta la culminación del experimento en vacas fértiles y subfértiles.....	21
Figura 4: Evolución de la condición corporal desde el inicio del período de servicios con 2 años de edad hasta la culminación del experimento para vacas fértiles y subfértiles.....	23
Figura 5: Perfiles de crecimiento de los folículos ovulatorios y sus subordinados, folículo dominante de la primer onda y su subordinado, folículo dominante de la segunda onda y su subordinado y folículo dominante de la primer onda del siguiente ciclo y su subordinado y folículos totales en vacas subfértiles y fértiles.....	25
Figura 6: Perfiles de progesterona durante la fase folicular inducida por la prostaglandina, fases luteales temprana y media-tardía y fase folicular espontánea del ciclo y fase luteal temprana del siguiente ciclo en vacas fértiles y subfértiles.....	27

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue caracterizar los patrones de crecimiento de los folículos y del cuerpo lúteo (CL) y la concentración de progesterona durante el ciclo estral en vacas adultas con diferente grado de fertilidad. Se utilizaron 11 vacas Hereford (fértiles $n = 5$; subfértiles $n = 6$) de 89 meses de edad. Las categorías fueron definidas basadas en la preñez luego de 5 servicios (3 después de inseminación artificial y 2 servicios naturales consecutivos) realizados a los 24 y 73 meses de edad (total de 10 servicios) en fértiles (si quedó preñada al primer servicio con 24 meses de edad, y quedó preñada ≥ 3 veces a los 73 meses de edad) y subfértil (si quedó preñada en el cuarto o quinto servicio o no quedó preñada a los 24 meses pero quedó preñada una o dos veces a los 73 meses de edad habiéndose realizado el servicio y posterior inducción de aborto en caso de que la vaca estuviera preñada). A los 89 meses el tracto reproductivo fue examinado por ultrasonografía para evaluar presencia de contenido uterino y todas las vacas fueron sincronizadas con dos dosis de prostaglandina (PG) con intervalo de 14 días y los signos de estros fueron observados cada 12 horas luego de la segunda dosis de PG. La ecografía ovárica comenzó el día de la segunda dosis de PG y continuó diariamente por un ciclo estral completo y cada 8 horas luego del segundo celo espontáneo hasta el día 7 del siguiente ciclo. Se evaluó el área de ojo de bife y depósitos grasos subcutáneo, intra e intermuscular por ultrasonografía al final del experimento. Las muestras de sangre fueron extraídas diariamente durante este período para determinar la concentración de progesterona por radioinmunoanálisis. No hubieron diferencias en la dinámica folicular, número de ondas foliculares, área del CL, número de folículos de 2 - 5 mm, número de folículos totales, duración del ciclo estral y el intervalo celo-ovulación entre grupos. Sin embargo, la concentración de progesterona fue menor en vacas fértiles ($5,19 \pm 1,08$ ng/ml) que en vacas subfértiles ($7,58 \pm 0,96$ ng/ml; $P < 0,01$) desde el día 8 al 18 del ciclo. Las vacas fértiles tuvieron mayor área de ojo de bife ($76,68 \pm 3,14$ cm²) que las vacas subfértiles ($66,93 \pm 2,87$ cm²; $P < 0,01$), asociada a una mayor tasa de crecimiento y peso vivo durante el período prepuberal. En conclusión, bajo las condiciones en que fue realizado este experimento observamos que las vacas fértiles tuvieron una mayor área de ojo de bife comparadas con las vacas subfértiles. Las vacas fértiles tuvieron menores concentraciones de progesterona del día 8 al 18 del ciclo estral respecto a las subfértiles, pero esta diferencia no tuvo efectos en el crecimiento y desarrollo folicular.

SUMMARY

The aim of this study was to characterize the pattern of follicle and corpus luteum (CL) development and progesterone concentrations during the oestrus cycle of cows in different fertility categories. Eleven seven-year old Hereford cows (fertile $n = 5$; sub-fertile $n = 6$) were used in this experiment. The categories were defined based on their pregnancy after 5 services (3 after artificial and 2 after natural consecutive services) at 24 and 73 months of age (10 services in total) in fertile (if being pregnant at first service with 24 months of age, got pregnant ≥ 3 times at five years old) and sub-fertile (if they got pregnant in the fourth or fifth service or did not get pregnant at 24 months of age and got pregnant one or two times at 73 months of age and considering the abortion was induced after each service). At 89 months of age, the reproductive tract was examined and all cows were synchronized with two prostaglandin (PG) injections given 14 days apart and signs of oestrous behaviour observed every 12 hours after the second prostaglandin injection. The ovarian ultrasonography examination started the day of the second PG injection and continued daily for a complete oestrous cycle and every 8 hours after second spontaneous oestrus up to day seven of the following cycle. Rib eye area and subcutaneous, intramuscular and intermuscular depot were evaluated by ultrasonography at end of the experiment. Blood samples were collected daily during this period to determine progesterone concentrations by radioimmunoassay. There were no differences in follicle dynamics, number of follicular waves, area of the CL, number of 2 - 5 mm follicles, total number of follicles, duration of the oestrous cycle and interval from oestrus to ovulation between groups. However, progesterone concentrations were lower in fertile (5.19 ± 1.08 ng/ml) than in sub-fertile cows (7.58 ± 0.96 ng/ml; $P < 0.01$) from Day 8 to 18 of the cycle. Fertile cows had a greater rib eye area (76.68 ± 3.14 cm²) than sub-fertile cows (66.93 ± 2.87 cm²; $P < 0.01$) that was associated with a greater average daily gain and live weight during the prepuberal period. In conclusion, under the conditions in which this experiment was conducted, a greater rib eye area was observed in fertile than sub-fertile cows. Fertile cows had lower progesterone concentrations from Day 8 to 18 of the cycle compared to sub-fertile cows, but this difference had no impact on follicle growth and development.

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva es un factor crítico en la rentabilidad de los sistemas de producción de carne (Oliveira y col., 2002). En Uruguay la baja eficiencia reproductiva ha afectado la cadena cárnica, ya que en las últimas décadas el porcentaje de preñez ha sido de 74,4 % y el de procreo 63 % (DIEA, 2013). Sin embargo, poco se conoce respecto a las pérdidas reproductivas previas al diagnóstico de gestación en el ganado para carne, que tradicionalmente se realiza por palpación rectal a los 60 días de retirado los toros. Las causas de éstas pérdidas se deben a fallas en la fertilización y a la mortalidad embrionaria temprana (Roche y col., 1981). La etiología es multifactorial, incluyendo al manejo y desordenes nutricionales, alteraciones fisiológicas, infecciones, disturbios hormonales, y factores genéticos (Boyd, 1965; Ayalon, 1978; Hawk, 1979; Levine, 1999; Båge y col., 2002). Las pérdidas embrionarias tempranas no son diagnosticadas por el productor, excepto por la repetición de celos a intervalos regulares de 19 a 23 días, lo que les ha dado el nombre de vacas repetidoras. Si estas vacas permanecen en el rodeo terminan siendo la cola de parición, lo que induce a una ineficiencia en el sistema al tener lotes desperejados de terneros de diferentes edades y pesos que muchas veces complica su comercialización. En nuestro sistema de producción de base pastoril, poco se conoce sobre la vaca repetidora, debido al carácter extensivo del mismo y los prolongados períodos de entore.

La vaca repetidora es usualmente definida como un animal subfétil, que recibe 3 o más servicios de inseminación artificial sin concepción, en ausencia de desórdenes patológicos en el tracto reproductivo (Noakes y col., 2009; El-Khadrawy y col., 2011) y tiene ciclos estrales regulares de 19 a 23 días (Dochi y col., 2008; El-Khadrawy y col., 2011). Las vacas repetidoras tienen patrones hormonales alterados alrededor del estro, caracterizados por concentraciones supra-basales de progesterona al momento del estro (día 0) y al día 1 (Gustafsson y col., 1986; Båge y col., 2002). Esto determina que el período de manifestación estral sea más prolongado, con un mayor intervalo desde el inicio del estro al pico preovulatorio de LH e inicio del estro a la ovulación (Gustafsson y col., 1986). Además la amplitud del pico de LH (LH total liberada) fue menor en vacas repetidoras (Gustafsson y col., 1986). Los modelos experimentales utilizados para investigar el síndrome de vaca repetidora, se han basado en el uso de vacas adultas como grupo "subfétil" y vaquillonas vírgenes como grupo "fétil" (Gustafsson y col., 1986; Båge y col., 2002). Estos grupos de vacas fértiles y repetidoras, tienen diferencias importantes de orígenes (tambos comerciales), edad (2 – 2,5 vs 2,4 - 4 años) y peso corporal (478 vs 580 kg); respectivamente. Los estudios publicados se han enfocado en la fase folicular y luteal temprana, pero no han considerado la dinámica folicular y luteal del ciclo completo, que comprende períodos clave como la llegada del embrión al útero (día 7) y el reconocimiento materno de la preñez (día 16; Senger, 2003).

Considerando la falta de información acerca de la subfertilidad en vacas para carne, y las debilidades del modelo experimental usado en vacas lecheras, nos planteamos una estrategia experimental de largo plazo, que evalúe la fertilidad de las vacas en su fase de crecimiento y cuando han alcanzado la madurez fisiológica. Nos planteamos además realizar un seguimiento de la fase folicular, luteal temprana y

luteal media-tardía, caracterizando la dinámica folicular, el crecimiento del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en vacas con diferente grado de fertilidad en nuestro sistema de producción de base pastoril.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Relevancia de la cría en la ganadería

En Uruguay el sector agropecuario se caracteriza por ser parte importante del PBI (6,8 %), y dentro de ello los subsectores más relevantes son la pecuaria (47,4 %), la agricultura (46,3 %) y la silvicultura (6,3 %). La superficie destinada a la ganadería ha descendido de 71,3 % a 61,8 % sobre la superficie total del país en los últimos 10 años, y la cría representa el 51 % de dicha superficie (DIEA, 2013). Debemos destacar el importante rol que cumple la cría en la cadena cárnica (bovina y ovina), tanto económico como social a nivel nacional, ya que es el sustento de miles de familias (base 47.000 establecimientos), donde la mayoría son productores criadores, pequeños a medianos (84,4 % tiene menos de 500 ha; MGAP-DIEA, 2013).

En Uruguay, la cría se lleva a cabo en los suelos de menor productividad, fenómeno que se ha visto acentuado en los últimos 10 años, producto de la competencia con otros rubros como la agricultura y la forestación (Viñoles y col., 2012). El 24 % del rodeo nacional está en la región de basalto (Bervejillo, 2013). El sustento de estos sistemas criadores es el campo natural, donde la variabilidad climática determina la producción de forraje. El número de terneros destetados por vaca entorada varía anualmente (MGAP-DIEA, 2013) asociado a períodos de balance energético negativo, que generalmente ocurren en invierno y verano (Short y col., 1990; Viñoles y col., 2009; Carriquiry y col., 2012) lo que determina los bajos índices de procreo históricos de nuestro rodeo. Sin embargo, es importante destacar que la regionalización de los diferentes sistemas productivos, no ha perjudicado la rentabilidad de los productores criadores. Esto es consecuencia de los cambios en la relación de precios ternero/novillo o ternero/vaca gorda, conocido como relación flaco/gordo, que ha llegado a niveles de 1,5, estimulando a los criadores a aumentar el número de vientres entorados (Soares de Lima y col., 2013). Aunque ésta situación ha cambiado en el último ejercicio ganadero, la expectativa es que en el largo plazo, las relaciones de precios continúen siendo un estímulo para la cría.

Eficiencia reproductiva

La eficiencia reproductiva se puede describir como una medida de capacidad de una vaca para quedar gestante y destetar terneros de buen peso vivo (Peters y col., 1991). Es un factor importante, que afecta la eficiencia productiva y económica de sistemas de producción de carne y leche. La tasa de preñez (vientres preñados/vientres entorados) en ganado para carne en nuestro país, se ubica en

72,3 % y la tasa de procreo (terneros destetados/vientres entorados) adquiere valores de 63 % (MGAP-DIEA, 2013).

La baja eficiencia reproductiva del rodeo de cría en Uruguay tiene 2 componentes: la avanzada edad al primer servicio y la duración del anestro posparto (DIEA, 2013). La nutrición juega un rol clave en la eficiencia reproductiva de vaquillonas y vacas (Short y col., 1990; Mackey y col., 1999). Los mecanismos endócrinos que controlan el comienzo de la pubertad en las vaquillonas y el reinicio de la ciclicidad posparto en vacas, son el resultado del incremento de la secreción de LH en respuesta a una disminución al feed back negativo que ejerce el estradiol a nivel central (Day y col., 1998). La disminución del efecto negativo de bajas concentraciones de estradiol a nivel central, está controlado por las hormonas metabólicas (Knobil y col., 1994). El estatus energético neto, producto del nivel de reservas corporales y el nivel de energía de la dieta, determinan el éxito reproductivo en el largo plazo, lo que se ha denominado memoria metabólica (Grimard y col., 1995; Blache y col., 2007; Soca, 2014).

En condiciones pastoriles, las diferencias en el manejo realizado a terneras en etapas tempranas de su vida (2 - 5 meses), determinan diferencias en el peso al destete (otoño), que se mantienen hasta los 18 meses de edad, y repercuten en la edad a la pubertad (Guggeri y col., 2014). Terneras alimentadas en mayores planos nutricionales, tienen un mayor desarrollo y crecimiento corporal (mayor altura y deposición de tejido muscular), asociado a mayores concentraciones del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) (Guggeri y col., 2014). Por lo tanto una restricción alimentaria en la recría puede tener un impacto de largo plazo en el desarrollo y composición corporal en la etapa adulta (Owens y col., 1993). La subnutrición energética y proteica a la que están sometidas las terneras en su primer invierno de vida y sus consecuencias en la edad al primer entore han sido ampliamente estudiada a nivel nacional (Quintans y Vaz Martins, 1994) (Quintans, y col., 1994) . Se ha demostrado que la suplementación de las terneras en su primer invierno de vida permite ganancias de peso de 0,2 kg/día y un adecuado desarrollo para su entore con 24 meses de edad (Quintans y Vaz Martins, 1994). La composición corporal de las vaquillonas y por lo tanto su metabolismo energético puede ser modificado por la genética y la nutrición (Ferguson, 2011). Durante la curva de crecimiento de animales jóvenes existe un orden en la deposición de los tejidos en que el crecimiento de músculo y hueso preceden al depósito de grasa (Owens y col., 1993). Así mismo la deposición de grasa en el animal ocurre en el siguiente orden: abdominal, intermuscular, subcutánea y finalmente intramuscular (Vernon, 1981), y existe una alta relación entre la cantidad de grasa abdominal y subcutánea, por lo que la medición de éstos parámetros en el animal vivo puede ser un buen indicador de su desarrollo y crecimiento corporal. Reducciones en el plano nutricional a los que están sometidos animales en crecimiento pueden afectar su composición corporal en forma permanente, dependiendo del nivel de subnutrición y realimentación asociado al crecimiento compensatorio (Owens y col., 1993). Los cambios en la composición corporal podrían alterar la eficiencia reproductiva, debido a que la cantidad total de músculo y grasa están asociadas a la reproducción (Lambe y col., 2005).

En forma similar, la asignación de forraje afecta el consumo de energía y las concentraciones de hormonas metabólicas de vacas pastoreando campo natural a lo largo de su ciclo productivo (Chapman y col., 2007; Carriquiry y col., 2013). El estatus energético que alcanzan terneras y vacas al final del otoño, permite manipular su memoria metabólica, y su capacidad de recuperación luego del balance energético negativo invernal, lo que determina la respuesta reproductiva final (Soca, 2014; Guggeri y col., 2014). Sin embargo, a pesar de las similitudes que existen en las respuestas de largo plazo en diferentes categorías de animales, es evidente que vaquillonas y vacas adultas están en diferentes momentos de la curva de crecimiento y desarrollo, por lo cual su situación metabólica y requerimientos son muy diferentes, lo que hace imposible la comparación entre ambos grupos etarios en cuanto a su eficiencia reproductiva.

Aún en animales clínicamente normales es muy difícil lograr un 100 % de preñez (Båge, 2002). Normalmente las vaquillonas fértiles tienen un porcentaje de concepción de alrededor del 90 % (Roche y col., 1981; Båge, 2002), pero la muerte embrionaria temprana durante las primeras semanas de gestación disminuye el porcentaje de preñez a 60 % (Diskin y col., 1980). La pérdida reproductiva total en vaquillonas es de alrededor de 40 - 50 %. Estas pérdidas están compuestas por fallas en la fertilización (10 %) y muertes embrionarias (25 - 30 %), mientras que las muertes fetales y abortos solo representan el 5 - 10 % (Roche y col., 1981; Maurer y col., 1983; Sreenan y col., 1985; Sreenan y col., 2001; Båge, 2002). Variados factores ambientales como la nutrición, el clima y factores intrínsecos del animal han sido sugeridos como causas de las muertes embrionarias tempranas en el ganado (Ayalon, 1978; Pope, 1988; Gustafsson y col., 2002). También se ha propuesto que las muertes embrionarias tempranas sea consideradas como "normales" a causa de que se eliminan genotipos inviables (Bishop, 1964; Gustafsson y col., 2002).

Síndrome de vaca repetidora

La vaca repetidora es usualmente definida como un animal subfétil, que recibe 3 o más servicios de inseminación artificial sin concepción, en ausencia de desórdenes patológicos en el tracto reproductivo (Noakes y col., 2009; El-Khadrawy y col., 2011) y tiene ciclos estrales regulares de 19 a 23 días (Båge y col., 2002; Dochi y col., 2008; El-Khadrawy y col., 2011).

El síndrome de vaca repetidora es un problema sustancial que provoca importantes pérdidas económicas para los productores de leche debido a que se requieren más inseminaciones, incrementando el intervalo de parición e incrementando las tasas de descarte (Bartlett y col., 1986; Lafi y col., 1992). En el caso de la vaca repetidora, la causa de infertilidad puede ser la falla en la fertilización o muerte embrionaria temprana.

La vaca para carne repetidora puede reducir la eficiencia en la producción de carne por el incremento de días requeridos de entore para producir un ternero, que será más liviano al destete. La infertilidad durante la estación reproductiva reduce la probabilidad de que esa vaca pueda producir un ternero en la siguiente estación de cría (Warnick y col., 2010). Estas vacas que se preñan tarde terminan luego siendo

la cola de parición, y constituyen el núcleo de vacas difíciles de preñar cada año, porque no se recuperan al momento de retirar los toros y en muchos casos se terminan descartando del rodeo.

Las vacas repetidoras tienen patrones hormonales alterados alrededor del estro, caracterizados por concentraciones supra-basales de progesterona al momento del estro (día 0) y al día 1 (Gustafsson y col., 1986; Albiñ, 1991; Båge y col., 2002). Esto determina que el período de manifestación estral sea más prolongado, con un mayor intervalo desde el inicio del estro al pico preovulatorio de LH e inicio del estro a la ovulación (Gustafsson y col., 1986). Además del mencionado retraso en el pico de LH, la amplitud del mismo (LH total liberada) fue menor en vacas repetidoras comparadas con las vaquillonas vírgenes (Gustafsson y col., 1986).

La relevancia del hallazgo de niveles suprabasales de progesterona al estro en vacas repetidoras (Gustafsson y col., 1986), es debido a que estos niveles prolongan el desarrollo del folículo dominante, y por lo tanto ovula un folículo más viejo, de menor fertilidad (Sirois y col., 1990; Duchens y col., 1994; Duchens, 1995; Duchens y col., 1995; Revah y col., 1996; Viñoles y col., 1999; Viñoles y col., 2001). La baja fertilidad de folículos envejecidos se asocia con una menor tasa de recambio folicular, lo que determina una menor número de ondas por ciclo (Adams y col., 1992a). Durante el ciclo estral, los folículos se desarrollan en un patrón de 2 o 3 ondas, cuya emergencia es estimulada por un aumento en las concentraciones de FSH (Adams y col., 1992a). Una onda folicular involucra el reclutamiento inicial de un grupo de folículos sensibles a las gonadotropinas donde uno, en especies mono-ovulatorias, es seleccionado para continuar su desarrollo y se transforma en el folículo dominante. Dependiendo de si el cuerpo lúteo regresa o no, el folículo dominante ovula o se vuelve atrésico (folículo dominante anovulatorio; Sirois y col., 1988). El número de ondas que se desarrollan durante el ciclo, depende en parte de los niveles de progesterona circulantes. Altos niveles de progesterona tienen un efecto supresivo sobre el crecimiento del folículo más grande dando lugar a más ondas por ciclo, mientras que bajos niveles de progesterona tienen un efecto estimulador sobre el tamaño folicular (Adams y col., 1992b). Si las concentraciones de progesterona son significativamente menores a las normales durante la fase lútea, aumenta la frecuencia de pulsos de LH (Stock y col., 1993) y se produce la persistencia del folículo dominante (Mihm y col., 1994). Vacas con ciclos estrales de 2 ondas, tienen una menor duración del ciclo estral y ovulan un folículo más viejo comparadas con vacas de 3 ondas (Lucy, 2001; Townson y col., 2002). Se ha descrito que las vacas que desarrollan 2 ondas tienen menos fertilidad que las que desarrollan 3 ondas foliculares (Ahmad y col., 1997). A pesar de que las vacas repetidoras tienen niveles de progesterona y estradiol alterados, se desconoce si está asociado a cambios en la dinámica folicular y luteal durante el ciclo estral. La información con respecto a la concentración de progesterona durante la fase luteal en vacas fértiles y subfértiles es inconsistente. Båge y col., (2002) no observaron diferencias cuando las concentraciones de progesterona se midieron diariamente durante el ciclo estral, pero Båge (2002) observa mayores concentraciones en vacas fértiles respecto a las subfértiles, cuando las muestras se extrajeron a intervalos de cuatro a seis días durante el ciclo estral (Días 0, 6, 12 y 16). La progesterona es la hormona que estimula el desarrollo embrionario, y determina su capacidad de producir interferón tau (Ergene, 2012), por lo cual sus concentraciones en la fase

luteal temprana (llegada del embrión al útero), y fase luteal media-tardía (reconocimiento materno de la gestación) determinan el éxito reproductivo.

El modelo experimental de vaca repetidora, ha comparado los parámetros reproductivos de vacas repetidoras con los de vaquillonas vírgenes, para eliminar la potencial presencia de enfermedades reproductivas (Båge, 2002). Sin embargo, esta comparación puede tener el efecto confundido de la edad, y por lo tanto del peso vivo, en las diferentes variables. Además, dado que las vaquillonas control nunca han sido servidas, se podrían estar utilizando como normales a vaquillonas potencialmente repetidoras. Considerando que las vaquillonas todavía no han alcanzado el tamaño adulto al momento del primer servicio, con 24 meses de edad, sería importante compararlas con vacas fértiles de la misma edad y poder evaluar la fertilidad de los mismos animales cuando han completado su desarrollo corporal (ej. 73 meses de edad; Arango y col.,2002). Por este motivo, la selección de las vacas para este experimento, se realizó basado en la fertilidad obtenida a los 24 y 73 meses de vida de los animales.

HIPÓTESIS

Las vacas subfértiles tendrán niveles suprabasales de progesterona durante la fase folicular y menores concentraciones de progesterona durante la fase luteal temprana y media-tardía, lo que determina un crecimiento más lento del folículo preovulatorio, prolongando su vida media y enlenteciendo el recambio folicular, comparadas con vacas fértiles de edad y desarrollo corporal similares.

OBJETIVO

Evaluar los patrones de crecimiento de las estructuras ováricas y los perfiles de progesterona durante el ciclo estral en vacas adultas con diferente grado de fertilidad y similar desarrollo corporal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue aprobado el día 29 de Febrero de 2012 por el Comité de Ética en el Uso de Animales de Experimentación de INIA (CEUA) con el número de Registro 0009/11.

Selección de los animales

La selección de los animales comenzó en Noviembre del año 2007, a partir de un grupo de 92 vaquillonas Hereford de 2 años de edad con un peso promedio de $309 \pm 9,4$ kg y una condición corporal de $4,8 \pm 0,1$ unidades (escala 1 a 8 unidades, Vizcarra y col., 1986). El tracto reproductivo de las vaquillonas fue evaluado previo al servicio por ultrasonografía, para evaluar la presencia de cuerpos lúteos y sincronizar los estros con dos dosis de prostaglandina (PG, Dalmaprost®, Fatro, Montevideo, Uruguay) con diferencia de 11 días. A las 12 horas de detectado el

estros, las vaquillonas fueron inseminadas con semen proveniente de dos toros Hereford de 24 meses de edad. El período de servicios abarcó 5 ciclos estrales consecutivos: los tres primeros con inseminación artificial y los 2 últimos con un solo toro. La aptitud reproductiva del toro y el estado del semen fueron evaluados antes de la inseminación y el servicio de monta natural. Se realizó ecografía para determinar la preñez cada 30 días, durante todo el período de servicios. Las vacas fueron clasificadas como: 1) fértiles, si se preñaron a la primera inseminación (n = 9); 2) repetidoras, si no concibieron luego de 3 servicios con inseminación artificial, mostrando estros a períodos regulares de 18 a 21 días, pero se preñaron con el servicio de monta natural (n = 8); y 3) infértiles, si no concibieron al final del período de servicios, pero se mantuvieron ciclando regularmente durante el mismo (n = 8). Luego del diagnóstico de gestación final (30 días de retirados los toros), las vaquillonas infértiles fueron separadas del resto del rodeo. A las vacas preñadas de los grupos fértiles y repetidoras se les aplicó destete precoz a los 120 días pos-parto y se les realizó un manejo nutricional para aumentar el peso vivo (fértiles: 429 ± 11 kg; repetidoras: 435 ± 7 kg) y la condición corporal (fértiles: $4,9 \pm 0,2$ unidades; repetidoras: $4,8 \pm 0,2$ unidades), a niveles similares a los de las vacas del grupo infértiles (459 ± 15 kg; infértiles y $4,9 \pm 0,1$ unidades) momento a partir del cual fueron manejadas en forma conjunta durante 6 meses. Luego de éste período de mantenimiento de peso y habiendo alcanzado 73 meses de edad (Setiembre de 2010), las vacas fueron sometidas a ciclos de sincronización de estros, y se realizaron tres servicios con inseminación artificial y dos con monta natural, con un toro apto desde el punto de vista reproductivo y con calidad seminal adecuada. Luego de cada servicio, se dejó pasar un lapso de 30 días, para realizar el diagnóstico de gestación por ultrasonografía transrectal. Al diagnóstico, todas las vacas (gestantes y no gestantes) fueron inyectadas con PG para inducir el aborto y la manifestación de estros. A las 2 semanas de inducido el aborto y el estros, el tracto reproductivo de las vacas fue evaluado por ultrasonografía, para confirmar la presencia del cuerpo lúteo y la ausencia de contenido uterino. Se permitió un descanso de 4 - 6 semanas entre la inducción del aborto y celo y el siguiente servicio, hasta culminar los 5 servicios planificados. Al final de los 5 servicios (Diciembre de 2011), las vacas fueron clasificadas como fértiles, si habiendo obtenido esta clasificación con 24 meses de edad, lograron 3 o más preñeces en los 5 servicios en su edad adulta, o como subfértiles, si se preñaron 1 o 2 veces, habiendo sido clasificadas como repetidoras o infértiles a los 24 meses de edad.

Sanidad en vacas

Se realizó la vacunación contra enfermedades reproductivas previo al primer servicio con 24 meses de edad y previo al inicio de los servicios con 73 meses de edad (Bioabortogen® H, Laboratorio BIOGÉNESIS-BAGÓ, primoinmunizados: dos dosis, la primera a los 45 días y la segunda 15 días antes del inicio del servicio; vacas adultas vacunadas 15 días antes de comenzar el período de servicios).

Se vacunó contra Fiebre Aftosa el 8 de Febrero de 2013 según reglamentación del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (Bioaftogen, Laboratorio BIOGÉNESIS-BAGÓ, dosis 2 ml, vía s/c).

Antes de comenzar el experimento el 11 de Marzo se aplicó un ectoparasiticida y insecticida pour on con 1 % de Fipronil (Actyl, Laboratorio CALIER, dosis 10 ml cada 100 kg de peso de uso tópico pour on).

Animales y diseño experimental

Se utilizaron 11 vacas Hereford (fértiles n = 5; subfértiles n = 6; la selección de las mismas fue explicada en el ítem "Selección de los animales") de 89 meses de edad, a las que se les realizó un examen ginecológico antes de comenzar el experimento y tenían un peso vivo fue $599 \pm 13,7$ kg y la condición corporal de $7,2 \pm 0,13$ unidades (escala 1 – 8 unidades, 1 = animal emaciado y 8 = animal con exceso de grasa; Vizcarra y col., 1986). El experimento se realizó en las instalaciones de la Sede de INIA Tacuarembó, ubicado en departamento de Tacuarembó (longitud $31^{\circ} 44' 17,87''$ S, longitud $55^{\circ} 58' 46,48''$ W a 150 metros de altitud), en Ruta 5, Km 386, sobre suelos de Areniscas, desde el 27 de Febrero al 3 de Abril de 2013.

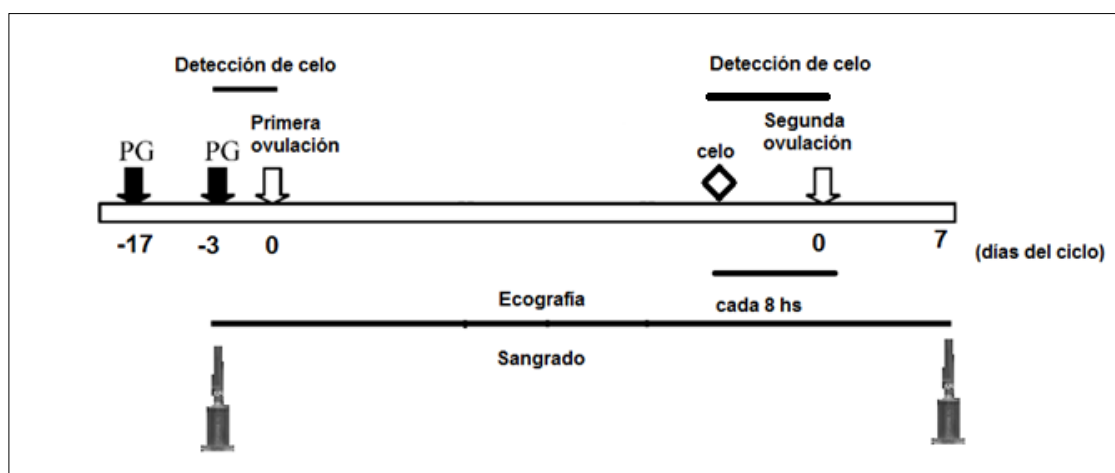


Figura 1. Representación esquemática del diseño experimental. PG = inyección de prostaglandina, sangrado y ecografía diaria. La ultrasonografía y el control de celo se realizaron cada 8 hs solo después el segundo celo hasta la ovulación.

Sincronización de estros

Los ciclos estrales fueron sincronizados utilizando dos dosis de PG con un intervalo de 14 días. En forma conjunta con la segunda dosis de PG, se pusieron parches (Kamar®, Kamar Products Inc, Zionsville, Estados Unidos) para la ayuda en la detección de estros, y se evaluaron los signos de manifestación estral cada 12 horas. La detección del estro se realizó diariamente monitoreando dos veces al día a las 7 am y 7 pm por 30 minutos. El criterio principal en la detección del estro fue la aceptación e inmovilidad de la vaca durante la monta.

Ultrasonografía ovárica

Las ultrasonografías ováricas se realizaron utilizando un equipo (Aloka SSD 500, Aloka Co., Ltd, Tokyo, Japón) con un transductor lineal de 7,5 MHz. El seguimiento folicular comenzó el día de la segunda PG, a los efectos de determinar la ocurrencia de la ovulación (Día 0, desaparición del folículo dominante) y continuaron en forma diaria durante 1 ciclo estral completo y hasta el día 7 posovulación del siguiente ciclo, para caracterizar el desarrollo folicular y luteal y los perfiles de progesterona. A los efectos de determinar el momento de la ovulación con mayor exactitud, se realizó ultrasonografía cada 8 horas desde la segunda manifestación estral hasta la desaparición del folículo dominante. Las estructuras ováricas (folículos y cuerpos lúteos) fueron evaluadas, medidas y dibujadas manteniendo su relación en mapas individuales, y se registraron en fotos y videos con la identificación de cada animal. Los ovarios fueron escaneados en los planos dorsoventral y latero medial para determinar el número de folículos totales, la posición y el diámetro de cada folículo, el área del cuerpo lúteo y otras estructuras presentes en su superficie. El tamaño folicular fue medido en su eje transversal, mientras que para evaluar el área del cuerpo lúteo (CL), se consideraron las dimensiones horizontal y vertical (Kastelic y col., 1990). Si el CL tenía una cavidad, la misma fue medida en sus dos dimensiones y el área sustraída del área total del CL.

Procesamiento de sangre y análisis de progesterona

Se extrajeron muestras de sangre en forma diaria durante el seguimiento folicular. La extracción de sangre se realizó utilizando tubos vacutainers de 8 ml (Vacutest®, Vacutest Kima, Arzergrande, Italia) con agujas estériles, mediante venopunción yugular. Las muestras fueron mantenidas a 4°C hasta que fueron centrifugadas por 10 minutos a 1500 g y el plasma fue almacenado y mantenido a -20°C hasta el momento de su procesamiento. Las concentraciones de progesterona fueron analizadas en el Laboratorio de Técnicas Nucleares en Facultad de Veterinaria, utilizando un radioinmunoensayo de fase sólida (COAT-A-COUNT Progesterone, SIEMENS, Los Angeles, USA). La sensibilidad del ensayo fue de 0,02 ng/ml con un coeficiente de variación intraensayo para el control bajo de 17,1 % con concentración de 0,52 ng/ml y para el control alto de 12,0 % con concentración de 18,2 ng/ml , mientras que los coeficientes de variación interensayo para el control bajo y alto fueron 16,6 % y 13,4 %; respectivamente.

Asignación de forraje

Durante el experimento, los animales pastorearon campo natural con una disponibilidad promedio de 7393 kg MS/ha. Los animales estuvieron en régimen de pastoreo continuo. La asignación de forraje fue de 0,91 kg MS/kg PV en ambos grupos de animales durante todo el experimento. Todos los animales tuvieron libre acceso al agua.

Determinaciones en los animales

Peso vivo

Los registros de peso vivo se realizaron con una frecuencia mensual o cada 3 semanas, desde el nacimiento hasta finalizar el experimento y con ese dato se calculo la ganancia de peso por día, utilizando una balanza electrónica TRU-TEST XR 3000.

Condición corporal

La medición de la condición corporal se realizó por apreciación visual con una frecuencia mensual o cada 3 semanas, desde los 29 meses de edad hasta finalizar el experimento, utilizando la escala de 1 – 8. (Vizcarra y col., 1986)

Altura

Se realizó la medición de la altura de los animales a partir de los 42 meses de edad hasta la culminación del experimento. La medición de la altura se realizó con una regla específica para ese propósito. Esta regla de medición tenía marcada una escala de alturas y sobre ella se deslizaba un brazo que contenía un nivel de burbuja. Para hacer la medición, la regla fue colocada verticalmente al costado de la cadera del animal y el brazo deslizante ubicado, controlando su nivelación, sobre la cadera. La medida se leyó sobre la escala de la regla vertical. El piso debió ser plano, para que el animal se encontrara bien parado, determinando un rectángulo con sus puntos de apoyo, y con la cabeza en posición normal, sin encepar (Bavera, 2005; BIF, 2010; Figura 2).

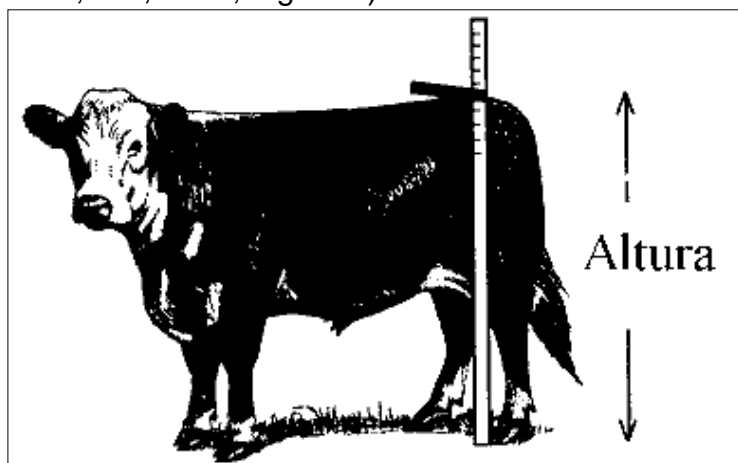


Figura 2. Posición para una correcta medición de la altura de la cadera (Adap. de BIF, 2010).

Músculo y grasa

La determinación de la cantidad de músculo y grasa fue realizada a los 89 meses de edad, utilizando un equipo Aloka 500 con una sonda lineal de 3,5 MHz. Las variables evaluadas fueron marmóreo (%), área de ojo de bife (AOB; cm^2), grasa subcutánea (mm) y deposición de grasa en el anca (P8; mm). Para determinar el AOB se colocó aceite vegetal en la superficie del animal y la sonda se posicionó en paralelo, con una profundidad de imagen de 6 o 15 cm, entre la costilla 12^a y 13^a. El marmóreo se tomó entre la costilla 11^a, 12^a y 13^a (escala USDA; Tatum, 2007). En la misma imagen que se obtuvo para evaluar el AOB en las 3/4 parte hacia el borde lateral del mismo, se midió el espesor de grasa subcutánea.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de las variables continuas con medidas repetidas en el tiempo (peso vivo, ganancia diaria de peso y condición corporal, concentraciones de progesterona, tamaño del folículo dominante y subordinado, número de folículos de 2 - 5 mm y folículos totales, área del cuerpo lúteo) se utilizó el procedimiento mixto de SAS (Statistical Analysis System, 2007). Para evaluar el peso vivo y ganancia diaria de peso se definieron tres períodos. El período 1 abarcó desde el nacimiento hasta la culminación del primer período de servicios (0 a 28 meses de edad); el período 2 se extendió desde el final del primer período de servicios hasta el final del segundo período de servicios (29 a 74 meses de edad) y el período 3 comenzó al finalizar el segundo período de servicios hasta el final del período experimental. Dado que la condición corporal se comenzó a evaluar a partir de los 29 meses, esta información fue analizada solamente en los períodos dos y tres. Durante el experimento, que tuvo una duración de 32 días, se evaluaron dos fases foliculares, dos fases luteales tempranas y una fase luteal media-tardía por animal. Para analizar las concentraciones de progesterona, el ciclo estral fue dividido en 3 fases: 1) la fase folicular, que abarcó desde el día -3 al 0; 2) la fase luteal temprana, desde el día 1 al 7, y 3) la fase luteal media-tardía, desde el día 8 al 18 del ciclo. Se analizaron solamente los folículos de 2 a 5 mm de diámetro y los folículos totales, debido a que las clases foliculares de 6-9 mm, 10 - 15 mm y > 15 mm no estuvieron presentes en todos los días evaluados. Para analizar el perfil de crecimiento de los folículos dominantes, se utilizó la información de la primer onda y última onda del ciclo en todas las vacas, ya que la onda del medio está ausente en las vacas que desarrollan dos ondas foliculares durante el ciclo estral. Para analizar la dinámica folicular se utilizó solamente la información colectada a las 8 am. Para evaluar el intervalo celo-ovulación y el tamaño máximo alcanzado por el folículo ovulatorio correspondiente al estro espontáneo, se usaron los datos de la ultrasonografía realizada cada 8hs. En el modelo estadístico se consideraron al grupo, día del ciclo estral y la interacción entre ambos factores como efectos fijos, y la identificación del animal como efecto al azar. Para las variables peso vivo, ganancia diaria de peso y condición corporal se utilizó la edad al destete como covariable. Se utilizó la estructura de covarianza que mejor se adaptó al modelo estadístico de acuerdo a la información del criterio Akaike, siendo las utilizadas más frecuentemente AR(1) y CS (Littell y col., 1998). La normalidad de los residuales fue evaluada mediante el Proc univariate de SAS, eliminándose los valores extremos. Para analizar las variables continuas sin mediciones repetidas en el tiempo, se utilizó el procedimiento GLM de SAS. Estas variables fueron la tasa de crecimiento, vida media y tamaño máximo del folículo ovulatorio y dominante de la onda 1, número de ondas por ciclo, duración del ciclo estral e intervalo celo-ovulación. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas si $P < 0,05$ y tendencia para valores de P entre 0,09 y 0,06.

RESULTADOS

Peso vivo y ganancia diaria de peso

En la Figura 3 se muestra la evolución de peso vivo de las vacas fértiles y subfértiles en los tres períodos estudiados. En el período 1, se observó un efecto significativo del grupo ($P < 0,05$), siendo las vacas fértiles ($140 \pm 8,6$ kg) más pesadas al destete

que las subfértiles ($106 \pm 7,8$ kg). La observación y la interacción grupo*observación fueron significativas ($P < 0,05$; Figura 3 A), pero la edad al destete no fue significativa ($P = 0,98$). En la ganancia en este período se observó un efecto significativo del grupo ($P < 0,05$), las vacas fértiles tuvieron mayores ganancias de peso ($0,537 \pm 0,03$ kg / animal / día) que las subfértiles ($0,456 \pm 0,02$ kg / animal / día). La observación y la interacción* grupo fueron significativamente diferentes ($P < 0,05$), pero no la edad al destete.

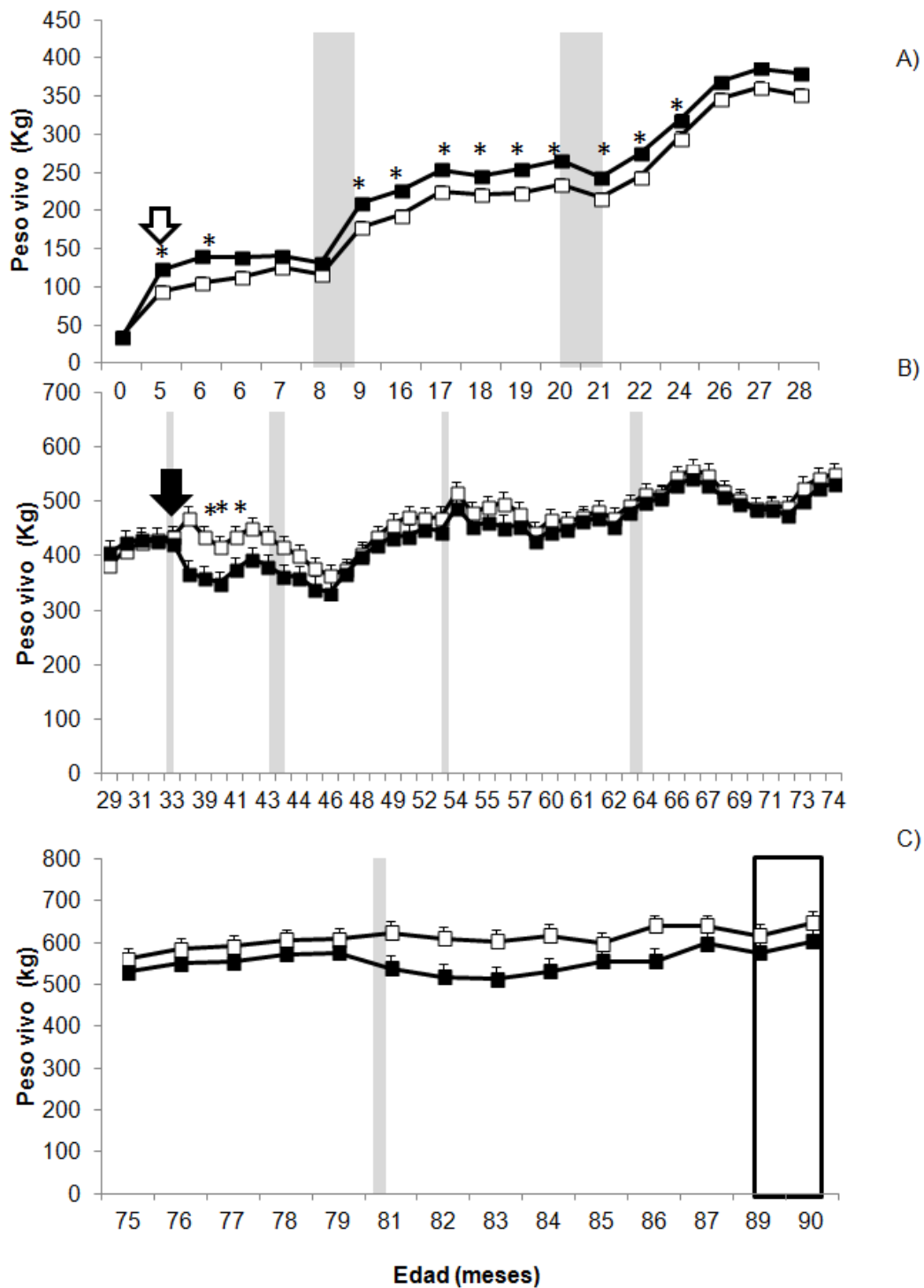


Figura 3. Evolución del peso vivo en tres etapas desde el nacimiento hasta culminación del experimento de vacas fértiles (■) y subfértiles (□). A) Período 1: desde el nacimiento al final de primer período de servicios. El área sombreada gris representa el período invernal y la flecha blanca representa el destete. B) Período 2: Desde el diagnóstico de preñez hasta finalizado el segundo período de servicios. La flecha negra representa el comienzo de los partos) C) Período 3: comenzó al finalizar el segundo período de servicios hasta el final del período experimental. El

área enmarcada indica el período en que se llevó a cabo el experimento. * = $P > 0,05$

En el período 2, no fueron significativos el efecto grupo ni edad al destete, pero se observó un efecto significativo para la interacción grupo*observación (Figura 3 B). Esta interacción se explica por el aumento en los requerimientos metabólicos de última tercio de gestación y lactancia, que ocurrió antes en las vacas fértiles ($n = 5$, partos 5 al 9 de Agosto de 2008) respecto a las subfértiles ($n = 3$, partos 24 de Setiembre y 10 de Octubre de 2008).

En el período 3 no se observaron diferencias para peso vivo entre grupos, ni en la interacción grupo*observación, pero fue significativo el efecto observación (Figura 3 C).

El efecto significativo de la observación para peso vivo y ganancia de peso ($P < 0,05$) en todos los períodos, se debió a las fluctuaciones en la disponibilidad de forraje que ocurrieron durante todo el seguimiento (Figuras 3 A, B y C).

Condición corporal

En el período 2 se observó efecto significativo de la observación, la interacción grupo*observación y edad al destete ($P > 0,05$; Figura 4 A). Estas diferencias están asociadas a la pérdida de condición corporal producto de la pérdida de reservas corporales posparto y diferente mes de parición para vacas fértiles y subfértiles.

En el período 3 no se observan diferencias entre grupos, ni en la interacción grupo*observación, como tampoco en la edad al destete (Figura 4 B).

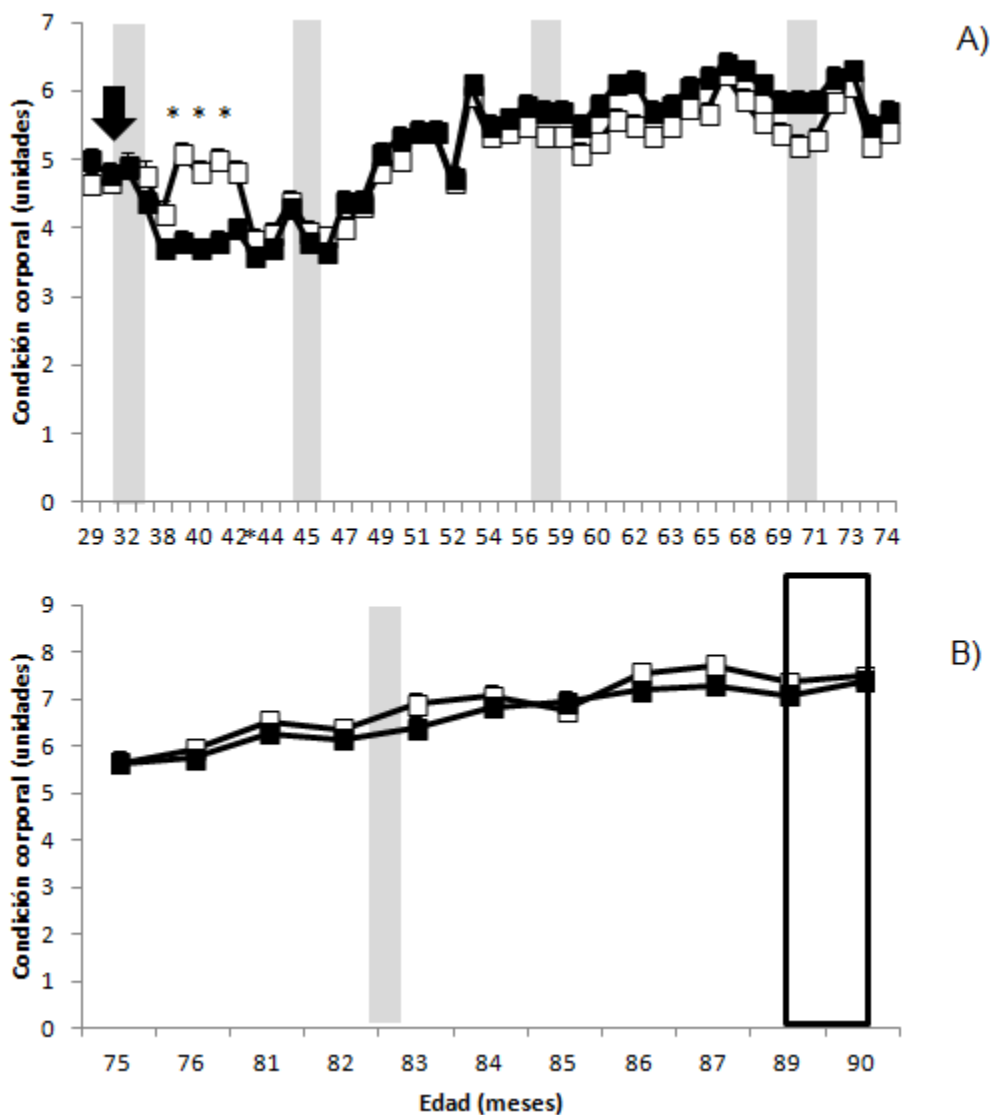


Figura 4. Evolución de la condición corporal para vacas fértiles (■) y subfértiles (□) durante el periodo 1 (A: Desde el diagnóstico de preñez hasta finalizado el segundo período de servicios). El área sombreada gris representa el período invernal y la flecha negra representa el comienzo de los partos. El período 2 (B: comenzó al finalizar el segundo período de servicios hasta el final del período experimental. El área enmarcada indica el período en que se llevó a cabo el experimento. * = $P < 0,05$

Altura

No se observaron diferencias en altura entre el grupo de vacas fértiles y subfértiles, registrándose un aumento en éste parámetro entre la primera medición, y todas las siguientes, siendo similar entre los tres últimos registros (Cuadro 1).

Cuadro 1. Altura de anca (cm) en vacas fértiles y subfértiles en diferentes fechas (Media \pm Error Estándar).

Edad	Altura de anca (cm)			
	42 meses	59 meses	89 meses	94 meses
Fechas	30-Apr-09	16-Sep-10	14-Mar-13	29-Aug-13
Fértiles	124,24 \pm 1,62 ^a	128,20 \pm 1,63 ^b	127,90 \pm 1,63 ^b	127,90 \pm 1,63 ^b
Subfértiles	124,60 \pm 1,48 ^a	129,58 \pm 1,48 ^b	127,68 \pm 1,48 ^b	130,17 \pm 1,48 ^b

^{a vs b} dentro de la misma fila difieren estadísticamente (P < 0,05).

Músculo y grasa

No se observaron diferencias significativas en cantidad de grasa intramuscular (marmóreo), grasa subcutánea y deposición de grasa en el anca entre grupos, pero el área de ojo de bife fue mayor para las vacas fértiles respecto a las subfértiles (P < 0,05; Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de grasa intramuscular (marmóreo), área ojo de bife (AOB), grasa subcutánea y deposición de grasa en anca (P8) en vacas fértiles y subfértiles (Media \pm Error Estándar).

	Marmóreo	AOB	Grasa subcutánea	P8
	(%)	(cm ²)	(mm)	(mm)
Fértiles	5,9 \pm 0,45 ^a	76,7 \pm 3,14 ^a	11,1 \pm 2,51 ^a	18,0 \pm 4,68 ^a
Subfértiles	6,3 \pm 0,41 ^a	66,9 \pm 2,87 ^b	8,7 \pm 2,29 ^a	15,5 \pm 4,28 ^a

^{a vs b} dentro de la misma columna difieren estadísticamente (P < 0,05).

Dinámica folicular

No se observaron diferencias significativas para el efecto grupo y la interacción grupo*día del ciclo para ninguna de las variables de dinámica folicular evaluadas. El diámetro máximo del folículo inducido a ovular por la segunda dosis de PG fue similar para las vacas fértiles (8,8 \pm 0,76 mm) y subfértiles (10,0 \pm 0,69 mm; P > 0,05). Tampoco se observaron diferencias significativas en el tamaño máximo alcanzado por el folículo que ovuló espontáneamente entre vacas fértiles (13,2 \pm 0,48 mm) y subfértiles (12,3 \pm 0,53 mm; P > 0,05). La mayoría de las variables evaluadas variaron a lo largo del ciclo estral, excepto el tamaño de los folículos subordinados de todas las ondas analizadas (Figura 5). La Figura 5 muestra la evolución del número de folículos totales y los perfiles de crecimiento de los folículos dominantes y subordinados durante el ciclo estral en vacas fértiles y subfértiles.

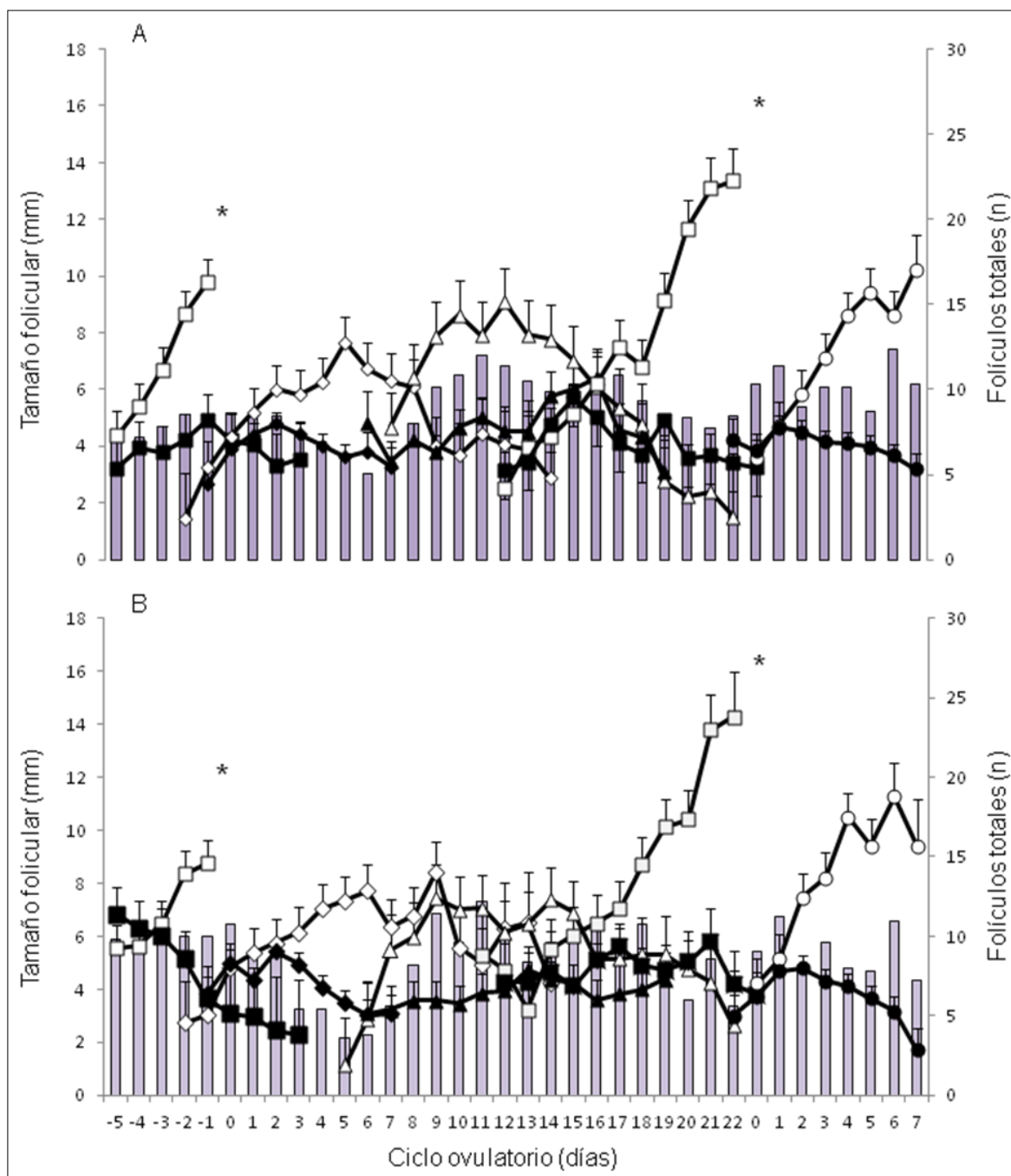


Figura 5. Perfiles de crecimiento de los folículos ovulatorios (□) y sus subordinados (■), folículo dominante de la primer onda (◇) y su subordinado (◆), folículo dominante de la segunda onda (△) y su subordinado (▲) y folículo dominante de la primer onda del siguiente ciclo (○) y su subordinado (●) y folículos totales (barras grises) en vacas subfértiles (A) y fértiles (B). * = Ovulación

El número de ondas foliculares, el área de cuerpo lúteo, el número de folículos de 2 a 5 mm, la duración del ciclo inter-ovulatorio, el intervalo celo-ovulación, fueron similares en vacas fértiles y subfértiles (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número de ondas foliculares, área del cuerpo lúteo (CL), número de folículos de 2 a 5 mm, duración del ciclo e intervalo celo - ovulación en vacas fértiles y subfértiles (Media \pm error estándar).

	Ondas foliculares (n)	Área del CL (mm)	Folículos 2 - 5 mm (n)	Duración del ciclo (días)	Intervalo celo-ovulación (días)
Fértiles	3,0 \pm 0,1	261,7 \pm 18,2	7,7 \pm 0,5	20,4 \pm 0,9	2,6 \pm 0,5
Subfértiles	2,8 \pm 0,1	278,6 \pm 17,0	7,9 \pm 0,4	21,2 \pm 0,8	2,5 \pm 0,5

Perfiles de progesterona

Las concentraciones de progesterona en la fase folicular inducida por la PG y la fase folicular espontánea no fueron estadísticamente diferentes entre grupos (Figura 6). Sin embargo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,001$) para los efectos día de la ovulación, fase folicular (inducida vs espontánea) y para las interacciones Grupo*día ovulación ($P < 0,05$), fase folicular*grupo ($P < 0,05$) y ciclo*grupo*día ($P < 0,001$). Las concentraciones de progesterona en la fase folicular inducida por la PG fueron más bajas en el primer muestreo (Día -3) respecto a las de la fase folicular espontánea. Se observó que en la fase folicular inducida, ambos grupos de vacas tuvieron menores concentraciones de progesterona con respecto a la fase folicular espontánea. Las vacas fértiles, tuvieron mayores concentraciones de progesterona al Día -3 de la fase folicular espontánea respecto a las vacas subfértiles (Figura 6).

En la fase luteal temprana no se observan diferencias significativas para las variables grupo, y la interacción grupo*día, pero se observó un efecto significativo del día de la ovulación (Figura 6).

En la fase luteal media-tardía, se observó un efecto significativo del grupo ($P < 0,05$), día de la ovulación ($P < 0,001$), y una tendencia para la interacción grupo*día ovulación ($P = 0,09$). En la figura 6 se observa que las vacas fértiles tienen menores concentraciones de progesterona entre el día 8 y 18 del ciclo que las vacas subfértiles. Se observa una marcada caída en los niveles de progesterona el día 18 para las vacas fértiles, que no se observa en las subfértiles (Figura 6).

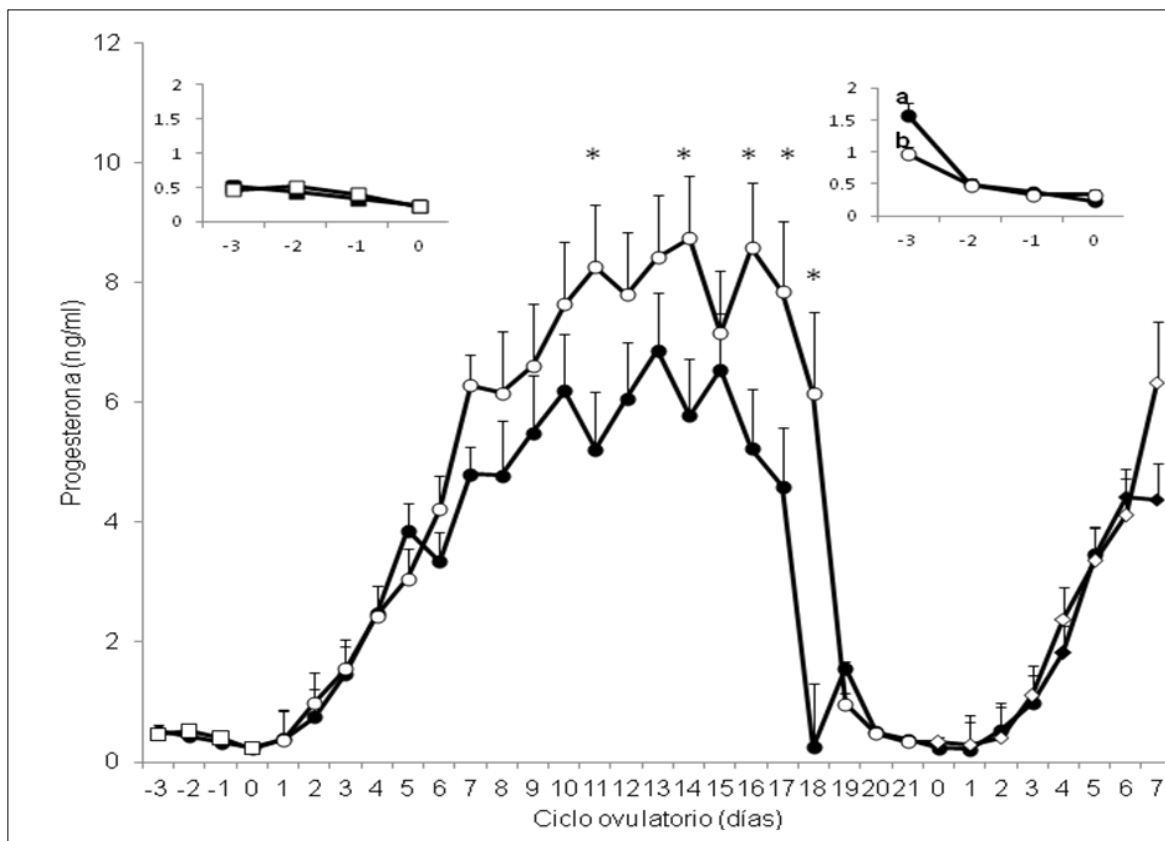


Figura 6. Perfiles de progesterona durante la fase folicular inducida por la prostaglandina (□ y ■), fases luteales temprana y media-tardía y fase folicular espontánea del ciclo (○ y ●) y fase luteal temprana del siguiente ciclo (◇ y ◆) en vacas fértiles (símbolos negros) y subfértiles (símbolos blancos). La figura incluida en la parte superior izquierda corresponde a una ampliación del día -3 a 0 del ciclo inducido y la figura incluida en la parte superior derecha corresponde a una ampliación del día -3 a 0 de la fase folicular espontánea. * = $P < 0,05$.

DISCUSIÓN

La hipótesis de que vacas subfértiles tendrían niveles alterados de progesterona durante las fases luteal y folicular del ciclo estral, lo que determinaría alteraciones en el número de ondas y en las características del folículo preovulatorio, comparadas con vacas fértiles de similar edad y peso vivo, fue rechazada. El hallazgo más importante de este experimento está relacionado al impacto de la nutrición en etapas temprana de la vida de las terneras sobre su posterior performance reproductiva. Las vacas fértiles tuvieron una mayor tasa de ganancia y peso vivo en la fase de crecimiento prepuberal comparada con las subfértiles, lo que habría generado una mayor deposición de tejido muscular que fue evidenciada a los 89 meses de edad, cuando ya no existían diferencias en peso vivo y desarrollo corporal. En este experimento se observaron mayores concentraciones de progesterona el día -3 de la fase folicular espontánea en vacas fértiles con respecto

a las subfértiles. Sin embargo, las características del folículo preovulatorio y el intervalo celo-ovulación fueron similares entre vacas fértiles y subfértiles. En la fase luteal temprana no se observaron diferencias entre grupos, pero en la fase luteal media-tardía las concentraciones de progesterona fueron menores en las vacas fértiles que en las subfértiles. Sin embargo, no se observaron diferencias en el número de ondas entre grupos durante el ciclo estral.

Las vacas fértiles tuvieron mayores tasas de ganancia y peso vivo en el período 1 comparadas con las subfértiles. Es conocido (Owens y col., 1993) que la curva de crecimiento en los animales es sigmoide, consistiendo de una fase de crecimiento acelerado prepuberal y luego un crecimiento desacelerado pospuberal. En el período prepuberal es cuando la deposición de músculo alcanza su tasa máxima y disminuye con la madurez, momento en que se acelera la deposición de tejido adiposo (Guenther y col., 1965). Estos hallazgos pueden explicar la mayor área de ojo de bife observada al final del experimento en las vacas fértiles con respecto a las subfértiles. Estudios anteriores han revelado una asociación positiva entre el área de ojo de bife y los niveles de IGF-I en terneras en crecimiento (Guggeri y col., 2014). El rol de IGF-I modulando la función reproductiva a diferentes niveles del eje reproductivo es ampliamente aceptado (Scaramuzzi y col., 1999, Wathes y col., 2003) y puede ser el factor que vincule las diferencias en el desarrollo corporal y el diferente desempeño reproductivo de las vacas de este experimento (ver discusión debajo).

En el período 2 las diferencias en la evolución de peso vivo de las vacas fértiles comparadas con las subfértiles queda restringidas a momentos específicos. El peso vivo y la condición corporal disminuyeron un mes y medio antes en las vacas fértiles respecto a las subfértiles, consecuencia del estado de lipomovilización inducido por los mayores requerimientos del último tercio de gestación e inicio de lactancia (Quintans y col., 2010; Astessiano y col., 2012; Soca, 2014). Sin embargo, las diferencias desaparecen en el período 3 donde solamente se observan fluctuaciones de peso y condición corporal asociadas al balance energético negativo invernal característico de vacas pastoreando campo natural (Quintans y col., 2010; Soca, 2014). Los datos de altura de anca obtenidos a los 42 meses de edad confirman que los animales subfértiles ya habían compensado las diferencias en crecimiento y desarrollo corporal observadas inicialmente comparadas con las subfértiles. La estabilización en la altura de anca a los 59 meses de edad de los animales demuestra por primera vez en nuestras condiciones pastoriles que estos habrían alcanzado su máxima estatura, similares a los resultados reportados por Arango y col., (2002) en diferentes razas bovinas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Guggeri y col., (2014) quienes reportan que las diferencias en peso vivo y ganancia de peso generadas en etapas tempranas de desarrollo desaparecen a partir del año y medio de edad.

En éste experimento, el desarrollo folicular fue similar entre vacas fértiles y subfértiles. No se observaron diferencias en el número de ondas, en el número de folículos totales, ni en el perfil de crecimiento de los folículos preovulatorios entre grupos. Estos resultados fueron diferentes a los observados por Båge y col., (2002),

quienes observaron que en las vacas subfértiles se prolongó la vida del folículo preovulatorio, el cual produjo estradiol por más tiempo dando lugar a la liberación de un ovocito envejecido, lo que explicó la menor fertilidad de estos animales. Las diferencias pueden ser debidas a que en el caso de Båge y col., (2002) se observaron concentraciones suprabasales de progesterona que afectaron la frecuencia de pulsos de LH y el desarrollo del folículo ovulatorio. Por el contrario, en nuestro experimento no se observaron diferencias en las concentraciones promedio de progesterona durante la fase folicular, por lo que no se habría modificado la frecuencia de pulsos de LH, el desarrollo folicular, ni el intervalo celo-ovulación.

En éste experimento, la vacas fértiles tuvieron niveles suprabasales de progesterona solamente al día -3 de la fase folicular espontánea comparadas con las vacas subfértiles, pero esta diferencia no se asoció con cambios en el tamaño folicular (morfología), lo que induciría a pensar que no ocurrieron cambios funcionales (producción de estradiol). Sin embargo, las concentraciones circulantes de estradiol no fueron evaluadas en este experimento, para descartar diferencias en la funcionalidad del folículo. Por lo tanto, en las condiciones en que fue realizado este experimento, con un número reducido de animales, la subfertilidad de las vacas no podría ser explicada por diferencias en el tamaño folicular y potencial calidad del ovocito. En la fase luteal temprana, definida como Día 1 al 7 posovulación, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de progesterona entre vacas fértiles y subfértiles. Estos resultados difieren de los reportados por Carter y col., (2008), quienes describen que una alta concentración de progesterona sistémica inmediatamente luego del periodo de concepción, está asociado con un avance en la elongación del concepto (Garrett y col., 1988; Carter y col., 2008; Satterfield y col., 2009;; Forde y col., 2014), un incremento en la producción de interferón tau (Mann y col., 2001; Mann y col., 2006; Forde y col., 2011) y mayor porcentaje de preñez en vacas y ovejas (Ashworth y col., 1989; Stronge y col., 2005; McNeill y col., 2006; Forde y col., 2011). Las diferencias en fertilidad observadas en éste experimento, no pueden ser atribuidas a las concentraciones circulantes de progesterona durante la fase luteal temprana, desde el momento esperado de la concepción hasta la llegada del embrión al útero. Por el contrario, señales que ocurrieron posteriormente a ésta fase podrían explicar la capacidad de supervivencia embrionaria en ambos grupos de vacas.

Las vacas fértiles tuvieron menores concentraciones de progesterona del día 8 al 18 del ciclo estral respecto a las subfértiles. Estos resultados son opuestos a los observados por Båge (2002), ya que las vacas repetidoras tuvieron menores concentraciones de progesterona del día 6 al 12 del ciclo estral respecto a vaquillonas vírgenes. La importancia de los mayores niveles de progesterona para que ocurra la elongación del embrión y promueva el reconocimiento materno de la preñez son conocidos (Wathes y col., 2003) y explican que un 40 % de las pérdidas embrionarias ocurran entre los días 8 y 16 posconcepción (Thatcher y col., 1995; Forde y col., 2011). Los menores niveles de progesterona de las vacas fértiles pueden ser explicados por 3 mecanismos. El primero podría estar asociado a la capacidad del cuerpo lúteo de producir progesterona. En este trabajo solamente se evaluó morfología de cuerpo lúteo por imágenes ultrasonográficas, encontrándose que el área fue igual en ambos grupos de animales. Sin embargo estas mediciones no permiten evaluar la funcionalidad del cuerpo lúteo que a un mismo tamaño podría

tener células con menor capacidad esteroideogénica. Sin embargo Kastelic y col., 1990 encontraron que la medición del cuerpo lúteo por ultrasonografía es una alternativa viable para la determinación de los niveles circulantes de progesterona para estimar la función luteal en vaquillonas. El segundo mecanismo podría estar asociado a mayor retención del esteroide en tejido graso del animal (Rodríguez y col., 2011). En este experimento las vacas fértiles tuvieron 27 % más de depósito de grasa subcutánea, aunque el número reducido de animales por grupo impidió visualizar una diferencia significativa en éste y otros parámetros (marmóreo y grasa intermuscular) que estiman la cantidad de grasa en la carcasa. Schröder y col., (2006) encontraron que los diferentes parámetros de estimación de grasa evaluados por ultrasonografía podrían no ser un buen indicador de la grasa total del animal, por lo que sería necesario usar otra metodología como la prueba de dilución de la urea para testear esta hipótesis (Schröder, 2006). El tercer mecanismo podría estar asociado con la tasa de remoción sanguínea de la progesterona, determinada por el metabolismo hepático (Sangsritavong y col., 2002). Planos nutricionales extremos en etapas tempranas del desarrollo determinan cambios irreversibles en la división celular, el crecimiento y diferenciación de órganos metabólicamente tan importantes como el hígado (Desai y col., 1997). Esto ocurre a pesar de que animales malnutridos pueden manifestar un crecimiento compensatorio posterior, reflejado por un mayor tamaño del hígado (Koong y col., 1985). Por lo tanto podemos especular que las vacas fértiles que tuvieron una mayor tasa de ganancia y peso vivo temprano en su desarrollo, tendrían una tasa metabólica hepática más elevada lo que podría explicar las menores concentraciones circulantes de progesterona. Esta hipótesis deberá ser testada en futuros experimentos.

Es interesante destacar que las vacas fértiles presentaron mayor peso vivo y ganancia durante el período 1, mayor área de ojo de bife y mejor desarrollo reproductivo. Guggeri y col., 2014 reportaron una asociación positiva entre estas variables y concentración de IGF-I en plasma. Si bien en esta tesis no se ha determinado IGF-I, se podría sugerir un ambiente endocrino más favorable para la función reproductiva en vacas fértiles respecto a las subfértiles (por ejemplo IGF-I estimula el desarrollo embrionario Wathes y col., 2003).

Finalmente, es importante destacar que las concentraciones circulantes de progesterona no son un buen indicador de su acción en útero. Trabajos publicados en ovinos por Sosa y col., (2004) demuestran que existe una relación inversa entre las concentraciones circulantes de progesterona y la expresión de receptores en el útero y la fertilidad.

CONCLUSIONES

Se encontró que las vacas fértiles tuvieron una mayor área de ojo de bife asociado a un mayor peso y ganancia diaria de peso en el período prepuberal comparadas con las vacas subfértiles. Las vacas fértiles tuvieron menores concentraciones de progesterona del día 8 al 18 del ciclo estral respecto a las subfértiles. Sin embargo, no se observó un efecto de las concentraciones de progesterona en el crecimiento y desarrollo folicular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, G. P.; Matteri, R.; Ginther, O. (1992a) Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 96: 627–640
2. Adams, G.; Dierschke, D. (1992b) Ultrasonic imagine of ovarian dvnamics during the menstrual cycle in rhesus, monkeys. *American Journal of Primatology*. 27: 13.
3. Ahmad, N.; Townsend, E.; Dailey, R.; Inskoop, E. (1997) Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Animal Reproduction Science*. 49: 13–28.
4. Albihn, A. (1991) Standing oestrus, ovarian function and early pregnancy in virgin and repeat breeder heifers. *Zentralblatt fur Veterinarinarmedizin*. 38 (3) 212–221.
5. Arango, J.; Cundiff, L.; Van Vleck, L. (2002) Breed comparisons of Angus, Charolais, Hereford, Jersey, Limousin, Simmental, and South Devon for weight, weight adjusted for body condition score, height, and body condition score of cows. *Journal of Animal Science*. 80: 3123–3132.
6. Ashworth, C.; Sales, D.; Wilmut, I. (1989) Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility*. 87: 23–32.
7. Astessiano, A. L., Pérez-Clariget, R., Quintans, G., Soca, P., & Carriquiry, M. (2012). Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(3)535–44. doi:10.1111/j.1439-0396.2011.01178.x
8. Ayalon, N. (1978) A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. 54: 483–493.
9. Ayalon, N. (1984) The repeat breeder problem. *Proceedings Xth International Congress Animal Reproduction and Artificial Insemination*. Illinios, USA. p. 41–50.
10. Båge, R. (2002) On repeat breeding in dairy heifers. With especial focus on follicular dynamics, ovulation, and oocyte quality. Doctor's dissertation. Department of Obstetrics and Gineacology. Tesis de Doctorado. Universidad de Uppsala. 44p.
11. Båge, R., Gustafsson, H., Larsson, B., Forsberg, M.; Rodríguez-Martínez, H. (2002) Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle

- characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology* .57: 2257–2269.
12. Bartlett, P.; Kirk, J.; Mather, E. (1986) Repeat insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology*. 26: 309–322.
 13. Baroni, L. (2000) Ganadería en busca del camino. Bajos porcentajes de gestación, o de procreo? *Revista Plan Agropecuario* N° 92. Disponible en: <http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R92/R92_26.htm> Fecha de consulta: 16-07-2014.
 14. Bavera, G. A. (2005). Escala de tamaño, estructura corporal o frame score. Río Cuarto. Facultad de Veterinaria y Agronomía. Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. 9p.
 15. Bervejillo, T. (2013) Anuario OPYPA. Variabilidad regional en la productividad ganadera .Ed. MGAP. p. 277-288. Disponible en <<http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,7,758,O,S,0,,>>. Fecha de consulta: 16-07-2014
 16. BIF. (2010). Guidelines For Uniform Beef Improvement Programs. Eds.Ninth. Edit North Carolina State University: Beef Improvement Federation. pp. 28–34.
 17. Bishop, M. (1964) Paternal contribution to embryonic death. *Journal of Reproduction and Fertility*. 7: 383–396.
 18. Blache, D.; Chagas, L.; Martin, G. (2007) Nutritional inputs into the reproductive neuroendocrine control system--a multidimensional perspective. *Journal of Reproduction and Fertility supplement*. 64: 123–39.
 19. Boyd, H. (1965) Embryonic death in cattle, sheep and pigs. *The Veterinary bulletin*. 35: 251–266.
 20. Bruyas, J. F., Fieni, F.; Tainturier, D. (1993) Le syndrome “repeat-breeding”: analyse biblio- graphique 1^o partie: Étiologie. *Revue Medicine Veterinaire*.144, 385–398.
 21. Carriquiry, M.; Espasandin, A.; Astessiano, A.; Casal, A; Claramunt, M.; Genro, C.; Gutierrez, V. (2012) IV Congreso AUPA. La cría vacuna sobre campo nativo: un enfoque de investigación jerárquico para mejorar su productividad y sostenibilidad. Sociedad Medica Veterinaria del Uruguay. Montevideo, Uruguay. Editorial Hemisferio Sur. 1(48) 41–48.
 22. Carriquiry, M.; Espasandín, A.; Soca, P.; Astessiano, A.; Bielli, A.; Casal, A.; Guitérrez, V.; Laporta, J.; López-Mazz, C.; Meikle, A.; Naya, H.; Quintans, G.; Scarsi, R.; Pérez- Clariget, R.; Viñoles, C.; Guilherme, J.; Rosa, C. (2013) Metabolismo de la vaca de carne y su cría en pastoreo de campo nativo : un enfoque endócrino-molecular. Serie. FPTA N° 43. INIA. 88p

23. Carter, F.; Forde, N.; Duffy, P.; Wade, M.; Fair, T.; Crowe, M.; Evans, A.; Kenny, D.; Roche, J.; Lonergan, P. (2008) Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, fertility, and development*. 20: 368–375.
24. Casida, L. (1961) Present Status of the Repeat-Breeder Cow Problem. *Journal of Dairy Science*. 44: 2323–2329.
25. Chapman, D. y Parsons, A. (2007) Impacts of spatial patterns in pasture on animal grazing behavior, intake, and performance. *Crop Science*. 47: 399–415.
26. Day, M., Anderson, L. (1998) Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle¹. *Journal of Animal Science*. 76: 1–15.
27. Desai, M., & Hales, C. N. (1997). Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 72(2) 329–48.
28. DIEA (2013) ANUARIO ESTADÍSTICO AGROPECUARIO. Montevideo, Uruguay. Ed. MGAP. 270p.
29. Diskin, M. y Sreenan, J. (1980) Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of Reproduction and Fertility* 59: 463–468.
30. Do Carmo Corujo, M. (2013) Efecto de la oferta de forraje y genotipo vacuno sobre la productividad de la cría vacuna en campos de Uruguay. Tesis de maestría. Montevideo, Uruguay. 85p.
31. Dochi, O.; Takahashi, K.; Hirai, T.; Hayakawa, H.; Tanisawa, M.; Yamamoto, Y.; Koyama, H. (2008) The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy cattle. *Theriogenology*. 69: 124–128.
32. Duchens, M.; Forsberg, M.; Edqvist, L.-E.; Gustafsson, H.; Rodriguez-Martinez, H. (1994) Effect of induced suprabasal progesterone levels around estrus on plasma concentrations of progesterone, estradiol-17 β and LH in heifers. *Theriogenology*. 42: 1159–1169.
33. Duchens, M. (1995) Influence of suprabasal progesterone on preovulatory follicle development in heifers. *Clinical, endocrinological and morphological studies*. Tesis doctoral, Uppsala. 30p.
34. Duchens, M.; Forsberg, M.; Gustafsson, H.; Edqvist, L.; Rodr, H. (1995) Reproductive performance of heifers induced oestrous asynchrony by suprabasal plasma progesterone levels. *Animal Reproduction Science*. 39: 171–182.

35. El-Khadrawy, H.; Ahmed, W.; Hanafi, M. (2011) Observations on Repeat Breeding in Farm Animals with Emphasis on its Control. *Journal of Reproduction and Infertility*. 2: 1–7.
36. Ergene, O. (2012) Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination PRID and GnRH treatments *. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Science*. 36: 283–288.
37. Ferguson, M. (2011). Selection for growth, muscling and fatness alters the maternal performance and intermediary metabolism of Merino ewes. Tesis de doctorado. Murdoch University. 330 p
38. Forde, N.; Beltman, M.; Duffy, G.; Duffy, P.; Mehta, J.; O'Gaora, P.; Roche, J.; Lonergan, P.; Crowe, M. (2011) Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biology of Reproduction*. 84: 266–278.
39. Forde, N.; McGettigan, P.; Mehta, J.; O'Hara, L.; Mamo, S.; Bazer, F. W.; Lonergan, P. (2014) Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. *Reproduction (Cambridge)*. 147(5) 575–87.
40. Garrett, J.; Geisert, R.; Zavy, M.; Morgan, G. (1988) Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Reproduction*. 84: 437–446.
41. Guenther, J.; Bushman, D.; Pope, L. ; Morrison, R. . (1965). Growth and development of the major carcass tissues in beef calves from weaning to slaughter weight, with reference to the effect of plane of nutrition. *Journal of Animal Science*. 24: 1184–1191.
42. Greiner, S. P., Rouse, G. H., Wilson, D. E., Cundiff, L. V, & Wheeler, T. L. (2003). The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 81 (3) 676–682.
43. Grimard, B.; Humblot, P.; Ponter, A.; Mialot, J.; Sauvant, D.; Thibier, M. (1995) Influence of postpartum energy restriction on energy status , plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 104: 173–179.
44. Guggeri, D. ; Meikle, A.; Carriquiry, M.; Montossi, F.; De Barbieri ,I.; Viñoles, C. (2014) Effect of different management systems on growth, endocrine profiles and puberty in Hereford female calves grazing Campos grassland. *Livestock Science*. p. 1–41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2014.06.026>

45. Gustafsson, H.; Larsson, K.; Kindahl, H.; Madej, A. (1986) Sequential endocrine changes and behaviour during estrus and metestrus in repeat breeder and virgin heifers. *Animal Reproduction Science*. 19: 261–273.
46. Gustafsson, H. y Emanuelson, U. (2002) Characterisation of the Repeat Breeding Syndrome in Swedish Dairy Cattle. *Acta veterinaria scandinavica*. 43: 115–125.
47. Hanly, S. (1961) Prenatal mortality in farm animals. *Journal of Reproduction and Fertility*. 2: 182–194.
48. Hawk, H. (1979) Infertility in dairy cattle. *Beltsville Symposia in Agricultural Research*. 3: 19–29.
49. Kastelic, J.; Bergfelt, D.; Ginther, O. (1990). Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*. 33: 1269–1278
50. Koong, L.J.; Ferrell, C. L.; Nienaber, J.(1985). Assessment of interrelationships among levels of intake and production, organ size and fasting heat production in growing animals. *The Journal of Nutrition*, 115(10)1383–90.
51. Knobil, E., Neill, J. (1994) *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. 1011–1059.
52. Lafi, S.; Kaneene, J. (1992) Epidemiological and economic study of the repeat breeder syndrome in Michigan dairy cattle. I. Epidemiological modelling. *Preventive Veterinary Medicine*. 14: 87–98.
53. Laing, J. (1952) Early embryonic mortality. *Proceedings II International Congress on Physiology and Pathology in Animal Reproduction*. Copenhagen, Denmark. 2: 17–34.
54. Lambe NR, Brotherstone S, Young MJ, Conington J and Simm G (2005) Genetic relationships between seasonal tissue levels in Scottish Blackface ewes and lamb growth traits. *Animal Science* 81: 11-21
55. Levine, H. (1999) The repeat breeder cow. *The Bovine Practitioner* 33: 97–105.
56. Littell, R., Henry, P., & Ammerman, C. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science*. 76: 1216–1231.

57. Lucy, M. C. (2001) Physiological Mechanisms Linking Reproduction to Nutrition in High-Producing Dairy Cows. In: Proceedings of the Mid-South Ruminant Nutrition Conference. Arleington, Texas, USA. p. 39–48.
58. Mackey, D.; Sreenan, J.; Roche, J.; Diskin, M. (1999) Effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biology of Reproduction*. 61: 1601–1607.
59. Mann, G.; Lamming, G. (2001) Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*. 121: 175–180.
60. Mann, G.; Fray, M.; Lamming, G. (2006) Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Veterinary journal*. 171: 500–503.
61. Maurer, R. & Chenault, J. (1983) Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *Journal of Animal Science* 56:1186–1189.
62. McNeill, R. E.; Diskin, M.; Sreenan, J.; Morris, D. (2006) Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*. 65: 1435–1441.
63. Mihm, M.; Baguisi, A.; Boland, M.; Roche, J. (1994) Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 102: 123–130.
64. Noakes, D.; Parkinson, T. (2009) *Veterinary Reproduction and obstetrics . The repeat breeder syndrome* (Elsevier., 2009). 463–466.
65. Oliveira, J.; Neves, J.; Moraes, J.; Gonçalves, P.; Bahr, J.; Hernandez, A.; Costa, L. (2002) Follicular development and steroid concentrations in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress. *Animal Reproduction Science*. 73 (2) 1–10.
66. Owens, F. N.; Dubeski, P.; Hanson, C. F. (1993). Factors that alter the growth and development of ruminants. *Journal of Animal Science*. 71(11) 3138–3150.
67. Peters, A., Ball, P. (1991) *Reproducción Del Ganado Vacuno*. Zaragoza, España. Acribia. 222p.
68. Pope, W. F. (1988) Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss. *Biology of Reproduction*. 39: 999–1003.

69. Quintans, G., & Vaz Martins, D. (1994). Efecto de diferentes fuentes de suplemento sobre el comportamiento de terneras. In *Bovinos para carne. Avances en la Suplementación en la Recría e Invernada Intensiva. Resultados Experimentales . Serie Técnica INIA No 33.* pp. 2–8.
70. Quintans, G., Vaz Martins, D., & Carriquiry, E. (1994). Alternativas de suplementación de vaquillonas. In *Avances en la suplementación de la recría e invernada intensiva. Resultados experimentales. Actividades de difusión INIA* (pp. 8–12).
71. Quintans, G., Banchemo, G., Carriquiry, M., López-Mazz, C., & Baldi, F. (2010). Effect of body condition and suckling restriction with and without presence of the calf on cow and calf performance. *Animal Production Science.* 50(10) 931.
72. Revah, I.; Butler, W. R. (1996) Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility.* 106: 39–47
73. Roche, J.; Bolandl, M.; McGeady, T. (1981) Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. *Veterinary Record.* 109: 401–404.
74. Rodrigues, R. O.; Trevisanuto, C.; Cooke, R. F.; Vasconcelos, J. L. M. (2011). Effects of body weight loss on serum progesterone concentrations of non-lactating dairy cows. *Theriogenology.* 75(1)131–7.
75. Satterfield, M.; Song, G.; Kochan, K.; Riggs, P.; Simmons, R.; Elsik, C.; Adelson, D.; Bazer, F.; Zhou, H.; Spencer, T. (2009) Discovery of candidate genes and pathways in the endometrium regulating ovine blastocyst growth and conceptus elongation. *Physiological Genomics.* 39: 85–99.
76. Sauerwein, H.; Miyamoto, A.; Günther, J.; Meyer, H.; Schams, D. (1992). Binding and action of insulin-like growth factors and insulin in bovine luteal tissue during the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility.* 96(1)103–15.
77. Scaramuzzi RJ, Murray JF, Downing JA, Campbell BK. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*, 1999. 17: 269–277.
78. Senger, P. L. (2003) *Pathways to Pregnancy and Parturition.* 2^a ed. Whashington, USA. Ed. Current Conceptions. 368p.
79. Schröder, U. J., & Staufienbiel, R. (2006). Invited review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to

ultrasonographic measurement of backfat thickness. *Journal of Dairy Science*. 89(1) 1–14.

80. Short, R.; Bellows, R.; Staigmiller, R.; Berardinelli, J.; Custer, E. (1990) Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*. 68: 799–816.
81. Sirois, J.; Fortune, J. (1988) Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction*. 39: 308–317.
82. Sirois, J.; Fortune, J. (1990) Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology*. 127: 916–925.
83. Soares de Lima, J.; Montossi, F. (2013) Propuesta tecnológica de intensificación de la cría vacuna. INIA Seminario Actualización Técnica Cría vacuna. (Editado por Quintans, G. y Scarsi, A.). p. 7–14.
84. Soca, P. (2014) La condición corporal al parto afecta las respuestas reproductiva y metabólica al destete temporario y flushing en vacas primíparas. Montevideo, Uruguay. Tesis de Doctorado. 130p.
85. Sosa, C.; Lozano, J. ; Viñoles, C.; Acuña, S.; Abecia, J. (2004) Effect of plane of nutrition on endometrial sex steroid receptor expression in ewes. *Animal Reproduction Science*. p. 1–12.
86. Sreenan, J. y Diskin, M. (1985) The Extent and Timing of Embryonic Mortality in the Cow. *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Dordrecht, Boston. p. 1–11.
87. Sreenan, J.; Diskin, M.; Morris, D. (2001) Embryo survival rate in cattle: a major limitation to the achievement of high fertility. *BSAS Occasional Publication*. p. 93–104.
88. Statal Analysis System. (2007). *Statal Analysis System*.
89. Stock, A.; Fortune, J. (1993) Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*. 132: 1108–1114.
90. Stronge, A.; Sreenan, J.; Diskin, M.; Mee, J.; Kenny, D.; Morris, D. (2005) Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 64: 1212–1224.
91. Tatum, D. (2007). *Beef Grading*. Department of Animal Science, Colorado State University, USA. 4p.

92. Thatcher, W.; Meyer, M.; Danet-Desnoyers, G. (1995) Maternal recognition of pregnancy. *Journal of reproduction and fertility. Supplement.* 49: 15–28.
93. Townson, D.; Tsang, P.; Butler, W.; Frajblat, M; Griel, L; Johnson, C.; Milvae, R.; Niksic, G.; Pate, J . (2002) Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows . *Journal of Animal Science.* 80: 1053–1058.
94. Vernon, R (1981) Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminants. En: *Lipid Metabolism in ruminant animals.* (Ed. W. W. Christie) Oxford: Pergamon Press. pp. 279-362
95. Viñoles, C.; Meikle, A.; Forsberg, M.; Rubianes, E. (1999) The effect of subluteal level of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology.* 51: 1351–1361.
96. Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchemo, G.; Rubianes, E. (2001) Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology.* 55: 993–1004.
97. Viñoles, C.; Banchemo, G.; Quintans, G.; Pérez-Clariget, R.; Soca, P.; Ungerfeld, R.; Bielli, A.; Fernández Abella, D.; Formoso, D.; Pereira Machín, M.; Meikle, A. (2009) Estado actual de la investigación vinculada a la Producción Animal Limpia, Verde y Ética en Uruguay. *Agrociencia.* 13: 59–79.
98. Viñoles, C.; Soares de Lima, J.; De Barbieri, I.; Cuadro, R. (2012) Dia de campo. Propuestas tecnológicas para sistemas ganaderos de Basalto. Serie actividades de difusión n 693. El entore precoz como alternativa para aumentar la competitividad de la cría. INIA. p. 4–8.
99. Vizcarra, J.; Ibañez, W.; Ocasberro, R. (1986) Repetibilidad y reproductividad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agrónomicas.* 7: 45-47.
100. Warnick, A.; Hansen, P. (2010) Comparison of ovulation, fertilization and embryonic survival in low-fertility beef cows compared to fertile females. *Theriogenology.* 73: 1306–1310.
101. Wathes, D.; Taylor, V.; Cheng, Z.; Mann, G. (2003) Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction Supplement .* 61: 219–237.