

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE LA INCIDENCIA DE MORTALIDAD  
EMBRIONARIA PRECOZ (VACA FANTASMA) EN VACAS  
HOLANDO Y CRUZA JERSEY**

Por

Nicolás Cuelho Aceredo  
Marcelo Rocha Rebhan  
Ignacio Tedesco Cambón

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  
2012**

Tesis de grado aprobado por:

Presidente de mesa:

Dr. Eduardo Blanc.

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Daniel Cavestany.

Tercer miembro:

Dr. Jorge Gil.

Fecha:

22/11/2012

Autores:  
Aceredo

Nicolás Cuelho

Rebhan

Marcelo Rocha

Cambón

Ignacio Tedesco



## AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Daniel Cavestany por su tutoría, entera disposición y gran apoyo.
- Al Dr. Sebastián Cresci, a la Dra. Pia Antognazza y al personal del establecimiento “El Monasterio” por proporcionar el lugar físico y los animales.
- Al personal de la biblioteca, Hemeroteca y Referencia de la Facultad de Veterinaria por su ayuda, disposición, y proporción del material bibliográfico.
- A la Dra. Virginia López y Gensur por su colaboración.
- A la Facultad de Veterinaria y a cada uno de nuestros profesores por contribuir en nuestra formación.
- A nuestras familias, por su apoyo incondicional y a su confianza durante toda la carrera.
- A nuestros amigos, por estar siempre.
- A todos nuestros compañeros que hacen que nos llevemos los mejores recuerdos.
- Al Dr. Jorge Moraes, Dr. Eduardo Blanc y Dr. Pablo De Maria por compartir con nosotros sus conocimientos y experiencia, por estar siempre dispuestos y brindarnos todos sus apoyos.
- Al Dr. Alfredo Ferraris en especial por su cariño y apoyo constante que lo hacen más que un profesor un gran amigo.

## CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
RESUMEN.....	8
SUMMARY.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
Eficiencia Reproductiva.....	11
Porcentaje de Detección de celos (%DC).....	12
Porcentaje de Concepción (%C).....	12
Porcentaje de Preñez (%P).....	12
Preñez General o Total.....	12
Servicios Por Concepción (SC).....	12
Intervalo Parto a Concepción (IPC) o Días Abiertos (DA) .....	12
Intervalo Entre Servicios (IES).....	12
Eficiencia de la detección de celos.....	13
Intervalo Entre Partos (IEP).....	13
Refugos.....	13
Porcentaje de Refugos.....	13
Vacas Problemas (VP).....	13
Definiciones importantes:.....	13
Vaca Masa (VM): son vacas en ordeño (VO) y secas (VS).....	13
Determinación del número de “vacas masa”.....	14
Vaca Ofrecida:.....	14
CICLO ESTRAL.....	14
Dinámica folicular:.....	15

Hormonas uterinas.....	17
Progesterona:.....	18
PROGESTERONA EN LECHE (MP4).....	19
RADIOINMUNOANALISIS.....	20
COMPORTAMIENTO ESTRAL.....	21
Control artificial del ciclo estral.....	21
El uso de la PG en la sincronización de celos.....	22
Respuesta de las prostaglandinas.....	22
Protocolos de sincronización de celos con prostaglandina .....	23
Detección de celo:.....	24
Factores que afectan el comportamiento de la vaca en celo.....	26
Métodos de detección de celo.....	28
Métodos visuales.....	30
.....	30
Métodos no visuales.....	31
Mortalidad Embrionaria.....	31
Causas de muerte embrionaria.....	33
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	36
Hipótesis:.....	36
Objetivos:.....	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
RESULTADOS.....	39
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIÓN.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
Figura 1. Ondas foliculares del ciclo estral de 3 ondas (Senger, 2003)	16
Figura 2. Esquema del control hormonal del ciclo estral (Peters y Ball, 1991)	18
Figura 3: Intervalo (días) del tratamiento con Prostaglandina (CPG) al celo	37
Figura 4: Porcentaje de vacas en distintos rangos de intervalo parto a concepción.	38

## RESUMEN

El síndrome de “Vaca Fantasma” se utiliza para describir vacas que no retornan a una segunda inseminación entre 18 y 24 días de la primera y no se diagnostica preñez por ecografía o por tacto rectal. Con el objetivo de evaluar su incidencia en un sistema de producción pastoril, se utilizaron 150 vacas Holando y Cruzas Jersey, con más de 80 días de paridas y sin servicios previos, primíparas y multíparas, seleccionadas de un rodeo de 400 vacas. Se realizó ecografía para evaluar actividad ovárica previa al inicio del programa de inseminación. La mitad de los animales recibieron una dosis de un análogo de Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (PG) para sincronizar celos y la otra mitad no fueron tratados, se detectó celo dos veces por día (AM/PM), luego de cada ordeño durante 5 días. Se tomó una muestra de leche al momento de la inseminación y una segunda muestra entre los 22-24 días luego de la misma para determinar la concentración de progesterona (MP4). Entre los días 35-45 días pos inseminación se realizó diagnóstico de gestación por ultrasonografía. Al momento de la inseminación el 96,7% (150 vacas), presentaba menos de 1 ng/mL de MP4, y el 3,3 % de las vacas (5 vacas) presentaron más de 1 mg/mL. En la segunda muestra de leche el 40% (60 vacas) de las vacas tuvo más de 2 ng/mL de MP4, y el 60% (90 vacas) menos de 2 ng/mL. Un 18,7% de las vacas al momento de la inseminación tuvieron menos de 1ng/mL de MP4 y al día 23 más de 2ng/mL de progesterona en leche y se encontraban vacías a la ecografía fueron definidas como “vacas fantasma”. El porcentaje de preñez de las vacas tratadas con prostaglandina fue 82%, y las vacas no tratadas el porcentaje fue de 26% ( $P < 0,001$ ). Hubo diferencias significativas en la preñez de vacas con intervalo parto concepción menor de 60 días sobre 60 a 90 días y de 90 a 120 días, no observándose diferencias con el intervalo de mas de 120 días.



## **SUMMARY**

The "Phantom Cow" syndrome is used to describe cows that do not return to a second insemination between 18 and 24 days after the first and are not diagnosed pregnant by ultrasound or rectal palpation. With the objective of evaluating its impact on a pastoral dairy production system, 150 cows Holstein and Holstein\*Jersey, with more than 80 days postpartum and without previous services, primiparous and multiparous were selected from a herd of 400 cows. Ovarian ultrasonography was performed to evaluate ovarian activity prior to the start of the insemination program. Half of the animals received a dose of an analogue of prostaglandin F<sub>2</sub>α (PG) to synchronize estrus and the other half were not treated, estrus was detected twice a day (AM/PM), after each milking for five days; milk samples were obtained at the time of insemination and 22-24 days later to determine progesterone (MP4). Pregnancy diagnosis was done between 35-45 days post insemination by ultrasonography. At the time of insemination 96.7% (150 cows), had less than 1 ng/mL of MP4, and 3.3% of the cows (5 cows) had more than 1 mg/mL. In the second sample of 40% of the cows (60) had more than 2 ng/mL of MP4, and 60% (90) less than 2 ng/mL. 18.7% of the cows that at the moment of insemination had less than 1 ng/mL of MP4 and at days 22-24 more than 2 ng/mL of MP4 and were diagnosed open at the ultrasound were defined as a "phantom cows". The pregnancy rate of cows treated with prostaglandin was 82%, and non-treated cows 26% (P < 0.001). There were significant differences in pregnancy rate for cows with less than 60 days open on 60 to 90 days and 90 to 120 days, not noting differences with the range of more than 120 days.

## **INTRODUCCIÓN**

La eficiencia reproductiva es el factor más importante que afecta la producción y la economía en un rodeo lechero (Diskin y col., 2002). La eficiencia reproductiva en rodeos de leche es comúnmente medida mediante el intervalo entre partos (IEP), parámetro que afecta la producción de leche de la vaca durante su vida productiva y el ingreso asociado por las ventas, condicionando la rentabilidad del establecimiento (Becaluba, 2006).

Uno de los principales cuellos de botella que existen hoy en la producción lechera es una baja eficiencia reproductiva, dentro de las causas de ésta se destacan la falla en la detección de celo y la mortalidad embrionaria (vaca fantasma) (Cavalieri y col., 2003a y 2003b; Moore y Thatcher, 2006; Pino y col., 2006). La falla en la fertilización es ocasionada generalmente por un error en la detección del celo, un error en el tiempo o en la técnica de inseminación, mala calidad del semen y ovulación retardada (Nakao, 1998). Una inseminación temprana o tardía, infección uterina, mala nutrición y una deficiencia en la fase luteal se consideran como causantes de mortalidad embrionaria (Nakao, 1998). Otras causas de muerte embrionaria son factores genéticos, ambientales, efecto macho, fallas del reconocimiento materno-fetal, fallas en el ambiente materno.

La vaca fantasma es aquella que después del primer servicio no queda gestada, no muestra signo de estro y puede mostrar altos niveles de progesterona en los días 22-24 después del servicio. Sin embargo una vaca no gestada debería mostrar bajos niveles de progesterona y signo de estro, pero dichos animales presentaron al momento de la inseminación, menos de 1ng/mL de progesterona en leche, y al día 23 presentaban más de 2ng/mL de progesterona en leche y se encontraban vacía al momento de la ecografía o habían repetido el servicio, estas representaron la muerte embrionaria. Es considerada en la ganadería como un problema grave que causa pérdidas económicas, donde la causa más importante es el aumento del intervalo entre partos y el retorno al estro más allá del rango usual de 17-25 días (Macmillan, 2001).

La muerte embrionaria, “vaca fantasma” lleva a una gran incidencia económica en la industria lechera, la cual se deben a diferentes factores que actúan en forma inexplicable y no nos permite ni una sola medida de prevención o tratamiento. La única medida preventiva más importante es respetar un adecuado tiempo de Intervalo Concepción, la cual permita el tiempo suficiente para recuperarse antes del siguiente servicio.

La muerte embrionaria, “vaca fantasma” es uno de los problemas más difíciles de diagnosticar y corregir en reproducción bovina.

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **Eficiencia Reproductiva**

La importancia de una buena eficiencia reproductiva en la rentabilidad de la empresa agropecuaria fue reconocida desde hace tiempo. (Cavestany, 2002). El objetivo de una buena eficiencia reproductiva es lograr el mayor número de animales preñados en el menor tiempo posible. Para medir esto se han desarrollado una serie de definiciones (Lemaire y col., 2011):

- **Porcentaje de Detección de celos (%DC)**

(Vacaciones servidas en 21 días / Vacaciones ofrecidas)\*100.

En servicios estacionales, el cálculo se hace a partir de los 21 días del inicio del periodo de servicio y se consideran todos los animales que estén en condiciones de ser servidos. En servicios continuos se consideran los animales que pasen el periodo de espera voluntario (PEV) luego del parto (PEV+21) y que estén ciclando.

- **Porcentaje de Concepción (%C)**

(Vacaciones preñadas/vacaciones servidas)\*100

- **Porcentaje de Preñez (%P)**

Porcentaje de detección de celos por porcentaje de concepción. (%P = %DC x %C)

El porcentaje de concepción toma en cuenta sólo las vacaciones servidas y el porcentaje de preñez considera todas las vacaciones ofrecidas al servicio.

- **Preñez General o Total**

(Vacaciones preñadas / Vacaciones ofrecidas)\*100

Mientras que el porcentaje de preñez se calcula en periodos determinados de tiempo, la preñez general se calcula al fin del año o al final del periodo de servicios.

- **Servicios Por Concepción (SC)**

Número total de servicios dados / número total de concepciones.

- **Intervalo Parto a Concepción (IPC) o Días Abiertos (DA)**

Intervalo entre el parto y la fecha del servicio en que la vaca quedo preñada.

- **Intervalo Entre Servicios (IES)**

Otro método de estimar la detección de celo y poder determinar posibles muertes embrionarias o abortos calculando el intervalo entre servicios. Los rangos entre servicios establecidos son:

- Menos de 17 días "corto"
- De 17 a 24 días "normal"
- De 25 a 35 días "extendido"
- De 36 a 48 días "2x normal"
- Más de 48 días "largo".

El cálculo del intervalo promedio entre todos los celos o servicios (IESP) es necesario para poder calcular la eficiencia de la detección de celos.

- ***Eficiencia de la detección de celos***

$(21/\text{IESP}) \times 100$ , donde IESP es el intervalo promedio entre servicios del rodeo.

- ***Intervalo Entre Partos (IEP)***

Intervalo en días desde un parto hasta el siguiente para una vaca individual.

- ***Refugos***

Deben separarse en dos categorías, las refugadas antes del servicio y las refugadas después del servicio a los efectos de poder evaluar la eficiencia reproductiva.

- **Porcentaje de Refugos**

El número de vacas que paren en un período definido (generalmente 12 meses) que son eliminados antes de iniciar otra lactancia.

- **Vacas Problemas (VP)**

Vacas con más de 100 días de paridas y sin celo observado o sin servicio o vaca con más de tres servicios y vacía.

### **Definiciones importantes:**

#### ***Vaca Masa (VM): son vacas en ordeño (VO) y secas (VS)***

- Las vaquillonas a medida que paren se suman a las vacas en ordeño
- Incluye vacas de refugio en ordeño
- Incluye vacas secas vacías
- Excluye vacas secas refugos

### ***Determinación del número de “vacas masa”***

**El número de VM varía durante el año por:**

- Ingreso de vacas (de otros campos o compras)
- Ingreso de vaquillonas paridas
- Salida de animales del rodeo (muertes, ventas)

### ***Vaca Ofrecida:***

- Todo animal que tuvo oportunidad de servirse.-
- Tiene que tener la oportunidad de evaluarse.-
- Si es descarte por cualquier razón y tuvo servicio también se considera
- Si se sirve y se vende o se muere antes de confirmar preñez, no se considera
- Si es monta natural con toro dentro del rodeo, todos los animales que están con él se consideran ofrecidos

### **CICLO ESTRAL**

El ciclo estral de la especie bovina tiene una duración de aproximadamente de 21 días con un rango de 17 a 24 días y se la clasifica como poliéstrica continua (Ungerfeld 2002).

En esta especie la ciclicidad estral se ve interrumpida por la gestación, durante las 3 a 6 semanas posteriores al parto, durante una alta producción láctea, cuando existen evidentes deficiencias nutricionales y en ciertas condiciones patológicas (Arthur, 1991; Marcantonio, 1998).

El ciclo estral se lo puede dividir en fase luteínica (o progesterónica) y fase folicular (o estrogénica) (Roberts, 1979). Dentro de la fase folicular tenemos el desarrollo folicular, la ovulación, y comienza la organización del folículo que ovuló en un nuevo cuerpo lúteo (Ungerfeld 2002). La fase lútea abarca el periodo desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo en esta fase abarca el 80 % del ciclo estral y la principal hormona reproductiva que gobierna esta fase es la progesterona (Senger, 2003). Otros autores (Peters y Ball, 1991) dividen estas dos fases en 4: dentro de la folicular tenemos el proestro que va

del día 18 al 21 y el estro que es el día 0 del ciclo y dentro de la lútea la divide en el metaestro que va del día 1 al 4 y luego el diestro. El estro es el período caracterizado por el deseo sexual y la aceptación del macho por la hembra (Roberts, 1979). Su duración tiene una media de 18 horas, con un rango de 6 a 24 horas (Ungerfeld, 2002). En esta fase el estradiol secretado por el folículo dominante En la vaca la ovulación se produce de manera espontánea una 12 horas después de finalizado el estro (Arthur, 1991). El período de máxima función lútea y secreción de progesterona corresponde al diestro, y finaliza cuando se produce la regresión del cuerpo lúteo (Senger, 2003). Es la etapa de mayor duración del ciclo pudiendo durar 16 a 17 días en la vaca (McDonald, 1991).

### ***Dinámica folicular:***

El proceso de crecimiento y degeneración de folículos, conocido como dinámica folicular, ocurre continuamente durante todo el ciclo estral (Senger, 2003) y es independiente de la fase del ciclo. La dinámica folicular se relaciona con el proceso de crecimiento y degeneración de folículos y esta involucra 4 procesos:

- 1) reclutamiento
- 2) selección
- 3) dominancia
- 4) ovulación o atresia

El reclutamiento es la fase donde un grupo de folículos comienzan a crecer y a producir estrógenos (Lucy, 2008; Senger, 2003) y crecen a través de ondas donde uno solo es seleccionado y al seguir su crecimiento se convierte en dominante inhibiendo el crecimiento del resto de los folículos los cuales sufren un proceso de atresia conduciendo a su regresión (Ungerfeld, 2002). En el 95% de los ciclos estrales de los bovinos hay dos o tres ondas independientemente

del desarrollo folicular, la primera onda comienza luego de la ovulación (día 0), la segunda (día 9 o 10) para los ciclos de dos ondas y para los de tres ondas la segunda va de (día 8 o 9) y la tercera onda va del (día 15 o 16), siendo las dos primeras anovulatorias (Figura 1). El folículo dominante presenta al momento de la luteólisis se convierte en el folículo ovulatorio y la emergencia de la siguiente onda folicular se retrasa hasta la próxima ovulación. Probablemente la proporción de bovinos con 2 y 3 ondas sea aproximadamente igual. Los bovinos alimentados con una ración baja de energía presentaron una mayor proporción de ciclos de 3 ondas que aquellos alimentados con una ración alta en energía (Murphy y col., 1991). En vaquillonas y durante el posparto precoz de vacas multíparas parecen más frecuentes los ciclos ováricos con dos ondas, mientras que vacas adultas presentan habitualmente ciclos de tres ondas (Fernández Tubino, 2003). El desarrollo folicular está controlado por la secreción de hormonas provenientes de la hipófisis, el cuerpo lúteo y los folículos. Se ha demostrado que hay incrementos de las concentraciones de FSH dos días antes de la emergencia de cada onda, esta descarga sería la responsable del reclutamiento de los folículos (Bó y col., 2000; Ungerfeld, 2002). Posteriormente, a medida que se produce el crecimiento de los folículos, los niveles de FSH van disminuyendo a consecuencia de la inhibina y el estradiol producidos por los mismos, a su vez el folículo de mayor tamaño secreta grandes cantidades de estradiol, lo que sumados a la inhibina generan un ambiente fuertemente inhibitorio sobre la secreción de FSH (Callejas, 2004). En cada onda, el folículo que primero adquiere receptores de LH se convierte en el folículo dominante, mientras que los subordinados (que siguen dependiendo de la FSH) sufren atresia (Adams y col., 1993; Adams y col., 1998). La supresión de la LH, como consecuencia de la secreción de P4 del cuerpo lúteo (CL) termina causando que el folículo dominante interrumpa sus actividades metabólicas lo cual lleva a la regresión, a un nuevo pico de FSH y a la emergencia de una nueva onda folicular (Adams y col., 1993).

La regresión luteal permite que aumente la frecuencia de pulsos de LH. El crecimiento del folículo dominante aumenta y se eleva la concentración de estradiol lo cual resulta en una retroalimentación positiva del eje hipotalámico



hipofisario, un pico de LH y la ovulación (Wiltbank, 1997).

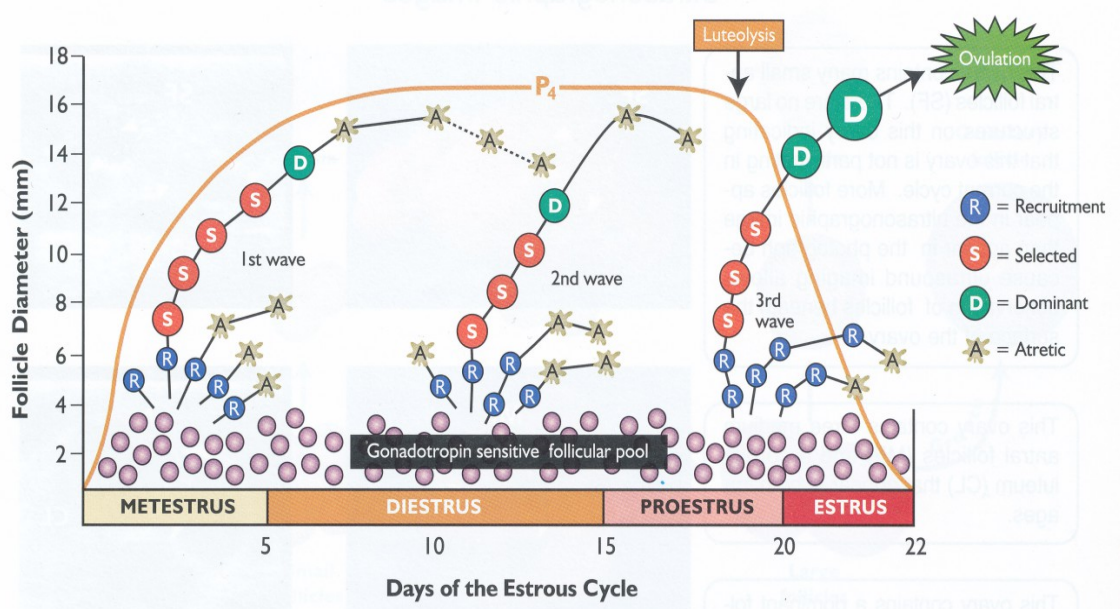


Figura 1. Ondas foliculares del ciclo estral de 3 ondas (Senger, 2003)

### **Hormonas uterinas**

Las prostaglandinas son ácidos grasos hidroxilados, no saturados de 20 carbonos. Son sintetizados en varios tejidos, y tienen una gran variedad de funciones. El ácido araquidónico es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular la  $PGF_{2\alpha}$  y la PGE (Hafez, 1989), las cuales son producidas en el útero (McDonald, 1991). En la vaca la PG es transportada desde el útero al ovario a través de un mecanismo vascular a contracorriente, entre la vena uterina y la arteria ovárica (Senger, 2003). La principal función de la prostaglandina es causar la luteolisis o regresión del cuerpo lúteo en el animal no preñado. La capacidad de la PG para inducir luteolisis ha sido explotada extensivamente como una herramienta para manipular el ciclo estral de los animales domésticos (Morrow, 1986). Los requerimientos para que esto se lleve a cabo son: presencia de receptores de

oxitocina en las células endometriales, presencia de un nivel crítico de oxitocina y síntesis PG por el endometrio (Senger, 2003). Se ha demostrado que la PG se libera desde el día 17 del ciclo, de una manera pulsátil y que la secreción continúa durante un período de 2 o 3 días o al menos hasta que la concentración de progesterona sea mínima (Peters y Ball, 1991).

La administración exógena de prostaglandina entre los días 7 y 18 del ciclo provoca la manifestación de celo en las vacas, 60-80 horas post-inyección. Cabe destacar que en esta especie el cuerpo lúteo es refractario a la acción de las hormonas en los primeros días del ciclo (Senger, 2003).

***Progesterona:***

Es producida por el cuerpo lúteo, siendo necesaria para el mantenimiento de la gestación. (McDonald, 1991). Su secreción es estimulada por la hormona LH principalmente (Hafez, 2002). Las concentraciones plasmáticas de la progesterona comienzan a elevarse desde el día 4 del ciclo, alcanzan un pico alrededor del día 8 y permanecen altas hasta el día 17; luego adquieren niveles basales antes del próximo estro y ovulación (Peters y Ball, 1991). Las funciones que tiene esta hormona son: preparación del endometrio para la implantación del embrión y mantenimiento de la preñez, aumenta la actividad de las glándulas secretorias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio. En concentraciones altas, inhibe el estro y la liberación de gonadotrofina de la glándula hipófisis. La administración exógena de esta hormona suprime la ovulación, actuando como un cuerpo lúteo artificial (Senger, 2003).

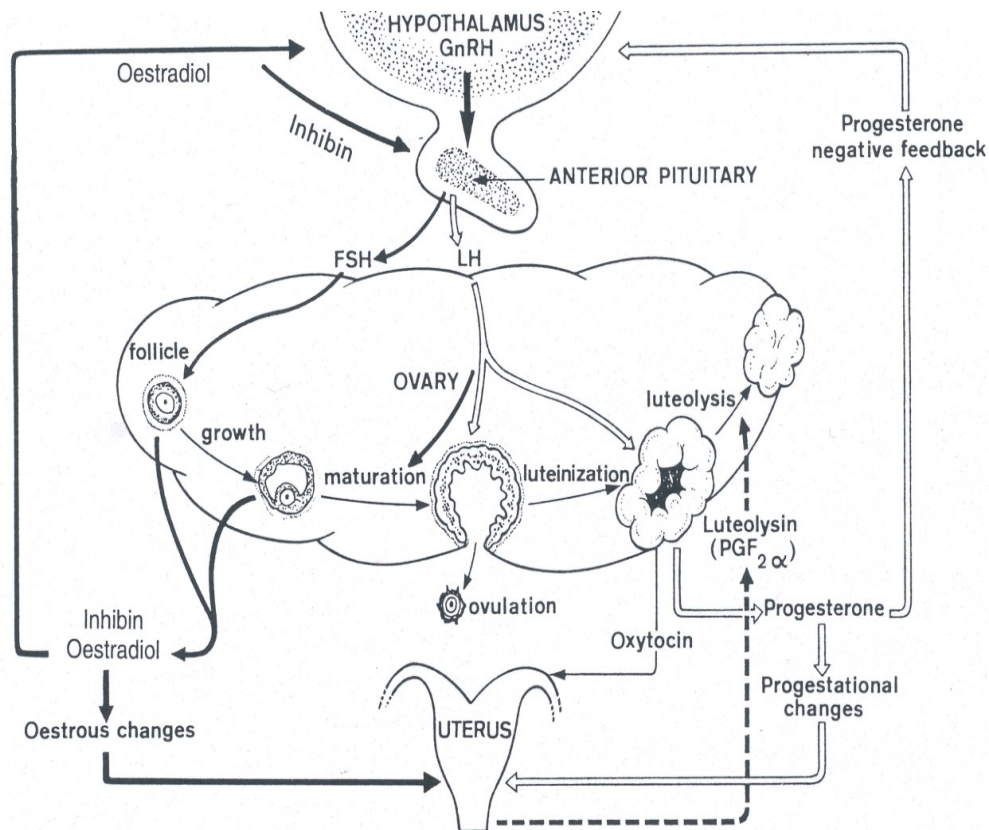


Figura 2. Esquema del control hormonal del ciclo estral (Peters y Ball, 1991)

### PROGESTERONA EN LECHE (MP4)

La primera demostración que podía ser obtenida en leche fue realizada por Williams en 1962. Laing y Heap (1971) fueron los primeros en visualizar esto como una ayuda potencial en programas de manejo reproductivo, al notar que los valores de progesterona en leche que obtenían eran muy similares a valores previamente reportados en plasma. El 75% de la progesterona presente en leche está asociada a la fracción grasa y la leche obtenida al final del ordeño tiene un contenido en grasa más alto que aquella colectada al principio del mismo. La correlación entre el porcentaje de grasa de la leche y su contenido en progesterona es 0.98, por lo que los niveles de progesterona pueden aumentar en dos y hasta tres veces entre muestras obtenidas pre y post ordeño.

El análisis de progesterona en leche es uno de los métodos para evaluar la

performance reproductiva del rodeo, ya que perfiles irregulares de progesterona se asocian con bajas tasas de concepción (Bulman y Lamming, 1978). La mayor ventaja de MP4 es la facilidad con que un gran número de muestras pueden ser obtenidas. Aunque al principio fue pensado solamente como un método de diagnóstico precoz de gestación, rápidamente se ha convertido en una valiosa ayuda para controlar otros componentes de la performance reproductiva, tales como:

- 1) Actividad ovárica postparto.
- 2) Confirmación de estro.
- 3) Detección de mortalidad embrionaria temprana.
- 4) Ayuda al veterinario en el diagnóstico de algunos tipos de patología ovárica.
- 5) Control y evaluación de experimentos, pruebas de campo o manipulaciones biotécnicas.

## **RADIOINMUNOANALISIS**

El RIA es una técnica de laboratorio que permite medir cantidades extremadamente pequeñas de una sustancia, siendo además altamente específico en la identificación de la misma. Teóricamente el RIA es un híbrido. Como su nombre lo indica es una combinación de radioquímica e inmunología. La técnica radioquímica empleada es cuantitativa, altamente sensitiva y es una variante de la técnica de dilución isotópica. La técnica inmunológica es simplemente una reacción antígeno-anticuerpo que utiliza anticuerpos específicos contra la hormona que se desea medir.

En términos generales, el proceso de RIA comprende:

- Una reacción química especial
- Separación y medida del producto de esa reacción.
- Comparación de la muestra medida con una conocida (estándar).

## **COMPORTAMIENTO ESTRAL**

Las vacas pueden ser detectadas en celo debido a que durante este período muestran un comportamiento específico y signos físicos que pueden verse en el animal (Marcantonio, 1998; van Eerdenburg, 2009). El alto nivel de estrógenos en sangre y la caída de los niveles de progesterona son los que llevan a la expresión del celo. Estos altos niveles de estrógeno y baja concentración de progesterona son considerados prerequisites para la expresión de celo, pero no son los que en última instancia inducen el comportamiento clásico de celo.

### ***Control artificial del ciclo estral***

La regulación de la actividad ovárica se ha convertido en una herramienta muy útil y de creciente uso en las explotaciones lecheras comerciales. Los objetivos que se persiguen son programas de reproducción controlada (sincronización de celos); regulación de ondas foliculares para mejorar la precisión de la sincronización de celos; reducción de la incidencia de los celos no detectados; y mejorar la eficiencia de la inseminación artificial (Cavestany, 2002).

La sincronización de celos y la ovulación es un tratamiento que se realiza a un grupo de animales con el objetivo de producir ambos fenómenos en un corto periodo de tiempo, el resultado entonces es un agrupamiento de los celos (Alberio, 2003). En una población de animales sexualmente activos, ciclando en forma normal, la frecuencia diaria de celos manifestados oscilara entre un 3% y un 4% (Smalley, 1981). El empleo de tratamientos hormonales que permiten controlar el ciclo estral resulta una herramienta, facilita la incorporación de técnica de mejoramiento genético como la inseminación artificial (Marcantonio, 2003).

Uno de los principales objetivos de los sistemas de manejo con pariciones y períodos de servicios estacionales es obtener el mayor número de animales preñados en el menor tiempo posible (Cavestany, 2002). Para lograr esto se han desarrollado biotecnologías reproductivas que son las que actualmente están en uso en la producción de bovinos para el control del ciclo estral

(Alberio, 2003).

La sincronización del estro es una excelente herramienta dentro de un programa de control reproductivo que debe cumplir algunos requisitos mínimos tales como: identificación de los animales y registros precisos, buen nivel nutricional del rodeo, sanidad óptima, manejo, instalaciones y personal apropiados, eficiencia en la detección de celo, semen de alta calidad, planificación de los servicios, planificación de los futuros partos, examen ginecológico previo y uso correcto de diferentes drogas (Blanc, 1994).

Las hormonas usadas para controlar el ciclo estral son idénticas (análogas) a las hormonas reproductivas que se encuentran en la vaca. Dentro de las principales que se utilizan para manipular el ciclo estral se encuentran la PG, GnRH, Estrógenos y Progesterona, nosotros hablaremos de la PG en dosis única, ya que fue la que utilizamos en dicho trabajo.

### ***El uso de la PG en la sincronización de celos***

La prostaglandina es la sustancia natural producida por el útero de la vaca para causar la regresión normal del cuerpo lúteo. Por lo tanto una inyección de PG es una manera de inducir selectivamente la regresión del cuerpo lúteo de forma similar al proceso normal (Cavestany, 2002). Algunos de los análogos sintéticos que existen en el mercado son Cloprostenol, Delprostenate, Alfaprostol, Etiproston, Fenprostaleno, etc.

### ***Respuesta de las prostaglandinas***

Como es sabido, dependiendo del momento en que se administra la PG será la respuesta que se obtenga. Del día 1 al 4 (metaestro) no se observa respuesta dado que se ha producido la ovulación y el cuerpo lúteo está en desarrollo. En los días 5 y 6 (diestro temprano), la respuesta es parcial, se está llegando al final del desarrollo del cuerpo lúteo. Entre los días 7 y 17 (diestro), el cuerpo lúteo está desarrollado y es sensible al efecto luteolítico de la PG y, por último, entre los días 18 a 21 (proestro), el cuerpo lúteo no es funcional y no hay respuesta a la acción de la PG (Callejas, 2004).

Una de las desventajas de esta hormona es la variabilidad en la distribución de presentación de celo en un período hasta de 5 días, debida al estado folicular al momento del tratamiento (Huanca, 2001). En vacas de leche en producción la respuesta a esta hormona es más errática que en vaquillonas ya que mientras en esta categoría un 73% presenta estro dentro de los 5 días luego del tratamiento, en vacas en producción el porcentaje de celos en los primeros 5 días oscila entre un 12% y un 35% (Cavestany, 2002). El promedio más bajo del intervalo al estro en vacas cíclicas, se da cuando se inyecta PG de manera temprana (días 7 a 9), o de manera tardía (día 14 a 16) en el ciclo estral.

Otra de las restricciones de la sincronización de celos es que no se puede aplicar en rodeos con bajos porcentajes de celo diario, ya que su única función es agrupar éstos en las hembras que se encuentran en condiciones de manifestarlos; la sincronización no aumenta la fertilidad de los celos ni la efectividad de una inseminación artificial (IA) (Bavera, 2000).

Cuando se inyecta en los días 10 a 12 del ciclo se pueden observar 3 a 7 días de intervalo al estro, ya que el folículo dominante de la primera onda está sufriendo la atresia y el folículo dominante de la segunda onda es inmaduro aún (Lucy, 2008). La variación en el intervalo al estro luego de la inyección de PG puede verse disminuida si las inyecciones son administradas en series (intervalos de 11 a 14 días) o si la sincronización folicular se lleva a cabo 7 días antes de la inyección de PG (Lucy, 2008).

### ***Protocolos de sincronización de celos con prostaglandina***

El tratamiento con PGF<sub>2</sub>α puede ser empleado con distintos protocolos, que incluyen 1 o 2 dosis por animal seguidas por la inseminación con o sin previa detección de celo (Marcoantonio, 2003).

#### Protocolo a dosis única:

Este método de sincronización se recomienda para vacas en lactancia, realizando previa palpación de un cuerpo lúteo funcional y detección de celo 1 a 7 días post-inyección. Se dice que la precisión de la detección de la presencia de un cuerpo lúteo funcional, mediante palpación rectal ha oscilado

entre 71% y 96%, y que la respuesta a la inyección única de PG de esas vacas fue de 64% a 72% hasta los 8 días posteriores a ésta. La precisión de la palpación rectal para determinar funcionalidad ovárica está sujeta a errores los cuales son debidos fundamentalmente a la presencia de cuerpos lúteos no funcionales o a cuerpos lúteos pequeños ubicados en el interior del ovario, los cuales pueden no detectarse fácilmente a la palpación. Por lo que se estudió que la determinación de progesterona en leche previo a la inyección de PG mejora significativamente los resultados en términos de inseminación y porcentaje de preñez (Cavestany, 2000). La utilización del tratamiento con una dosis de PG permite ahorrar la mitad del sincronizante empleado que en los tratamientos convencionales de 2 inyecciones.

#### Ventajas y desventajas del uso de prostaglandinas para la sincronización de celos:

Permite obtener un mayor número de animales en celo y por lo tanto, un mayor número de animales a inseminar y aumenta la eficiencia reproductiva de los establecimientos. Una desventaja para la aplicación de este método de sincronización es la falla en la interpretación correcta de los signos de celo. Además, la totalidad del rodeo deberá estar ciclando si no, no habrá una respuesta adecuada al tratamiento.

#### ***Detección de celo:***

La detección de celo es una técnica de gran importancia en los programas de inseminación artificial, pero una serie de factores que la afectan producen una importante pérdida económica. La expresión de la conducta del estro puede ser nula o variar en su intensidad y duración, por factores como clima, nutrición, amamantamiento y raza. El criterio más confiable para determinar que una vaca o vaquillona está en celo es la pasividad a la monta por otra vaca (Williamson y col., 1972; Foote, 1975). Es el único indicador fidedigno de que la vaca este en celo. Este comportamiento constituye el denominado “reflejo de aceptación de macho”, es específico y consiste en la inmovilidad de la vaca



durante 5 a 7 segundos cuando es montada por el toro u otra vaca (Marcantonio, 1988). Los signos secundarios son característicos del comportamiento que acompaña al celo, antes, durante y después de producido el mismo. Ellos son: actividad de monta, inquietud, mugidos, nerviosismo, rozamiento de cabeza y cuello, olfateo y lamido de genitales, actitud de topar, apoyo del mentón en la grupa o reflejo de papada, flehmen, aumento en la frecuencia de micción, disminución del consumo y disminución de la producción.

Los signos físicos son la consecuencia de las manifestaciones del celo, ellos son vulva inflamada y rojiza, descarga vulvar de moco límpido y transparente (filante) que a menudo se adhiere a la cola, pelos parados, peladuras en la cola y suciedad en anca y flancos (Peters y Ball, 1991; Cavestany y Méndez, 1993). Se produce también una pequeña elevación de la temperatura corporal (0,3 a 1,1 °C), la cual puede verse reflejada en la leche (0,2 a 0,4 °C), aunque es muy variable y de corta duración. Estas características secundarias las manifiestan las hembras durante el celo, pero también algunas horas antes o después de finalizado el estro (Marcantonio, 1998).

Hay una tendencia a formar los grupos sexualmente activos, en los cuales hay una disminución en los tiempos de pastoreo, descanso, rumia y frecuentemente en la producción de leche. Hay un aumento en el tiempo de caminata, así como también la frecuencia de micción se incrementa (Morrow, 1986).

Williamson y col. (1972) realizaron un estudio en un rodeo comercial grande de vacas lecheras para describir el comportamiento del estro. Describieron los principales signos del comportamiento durante el estro y ordenaron de acuerdo a su exactitud, aunque algunos se manifiestan en otras etapas del ciclo:

- 1) Dejarse montar permaneciendo parada inmóvil. Ésta era la actitud más importante y fue observada en el 79% de vacas en estro. El comportamiento de inmovilidad fue observado en 4,5% de vacas no en estro y 7,3% en vacas preñadas.
- 2) Montar otras vacas en varias ocasiones; exhibición de actividad homosexual.

- 3) Rizado, raspado, de grupa y/o base de la cola frotada. Estos signos eran engañosos pues persistieron por 4 a 6 días.
- 4) Formación de un grupo sexualmente activo. La actividad del grupo de vacas sexualmente activas era importante especialmente en la noche. Estas vacas están paradas a menudo juntas o muy cercanas a algunos metros de distancia.
- 5) Nerviosismo o inquietud. Si es en sistema pastoriles se produce la interrupción del pastoreo (disminución del consumo) y caminatas produciendo un aumento de la actividad.
- 6) Vulva hinchada, edematosa y relajada. Esto fue visto solamente en algunas vacas y no es confiable.
- 7) Flujo mucoso por la vulva, especialmente después de la monta o de acostarse.
- 8) Olfateo y lamido de la vulva, flehmen, apoyo del mentón en la grupa, signos también vistos en vacas en diestro.
- 9) Levantamiento y movimientos de la cola, orina frecuente y mugidos. Esto también fue visto por vacas en diestro por otras causas.

### ***Factores que afectan el comportamiento de la vaca en celo***

#### El macho

El coito acorta la duración del periodo de celo. También puede acelerar el momento de la ovulación (Hafez, 1989; Cavestany y Méndez, 1993).

#### La época del año y el clima

Una temperatura ambiente elevada puede reducir no solamente la duración, si no también la intensidad del celo. Puede incluso aumentar la frecuencia de anestro o celo no detectado. Las lluvias intensas provocan una disminución de la actividad sexual (Ahmed, 2007; De Silva y col., 1981; Sanders, 2005; Van Eerdenburg, 2009; White y col., 2002; Youngquist y Threlfall, 2007). El climas templados o moderados la duración del estro puede ser de 20 a 30% más duradero que vacas de ambiente muy calurosos o fríos (Sepúlveda y Rodero, 2003).

### El momento del día

La mayoría de los autores apuntan a que el comienzo del celo se produce durante la noche o a primera hora de la mañana (Sepúlveda y Rodero, 2003). Cavestany describe que la ocurrencia de celos es mayor en horas de la noche, encontrando el 70% entre las 18:00 y las 06:00 horas (Cavestany, 2005).

### Razas y líneas genéticas

La duración del estro en ganado cebú y sus cruas es menor que en razas europeas y en ambos tipos la duración es menor en vaquillonas que en vacas (Mukasa-Mugerwa, 1989; King, 1990).

### El número de población sexualmente activa

Cuando el número de vacas en celo aumenta, el número de montas (actividad sexual) por períodos de celo aumenta (Cavestany y Méndez, 1993). Además se ha reportado que al introducir una vaca en celo a un grupo de animales se estimula el comportamiento estral (aumentando las montas) (Van Eerdenburg, 2002).

### El número de celo posparto

A medida que aumenta los celos posparto la actividad de monta también aumenta (Cavestany y Méndez, 1993).

### Nutrición

La subnutrición lleva a una alta incidencia de inactividad ovárica, disminución de la expresión de celo y bajas tasas de ovulación (Ahmed, 2007).

### Producción de leche

Hay autores que encontraron una correlación negativa entre producción de leche y fertilidad (Ferguson y col., 1990; Inostroza y Sepúlveda, 1999; Butler, 2000), por lo que opinan que la mejora de los niveles de producción está derivando en un detrimento de las tasas reproductivas. Mientras que otros autores no encontraron ninguna relación entre estos parámetros, rechazando

esta teoría (Spicer y col., 1990; Van Vliet y Van Eerdenburg, 1996; Heres y col., 2000; Van Eedenburg y col., 2002).

#### Edad de la vaca

En vaquillonas la duración del celo es menor que en vacas adultas (McDonald, 1991). Por otro lado estudios demuestran que vacas de más edad presentan mayor actividad de monta que las más jóvenes, (Gwazdauskas y col., 1983), pudiendo ser por una mayor dominancia y experiencia de las primeras sobre las segundas (De Silva y col., 1981).

#### Superficie donde se encuentran los animales

La superficie donde montan las vacas influye en la duración del celo y en la actividad de monta y aceptación de ella. Superficie de cemento, mojudas y pisos de los corrales disminuyen la exteriorización e intensidad del celo (Ahmed, 2007; Fernández y col., 2006). Son preferibles pisos de tierra o una cama de paja espesa (Van Eedenburg, 2009). Esto concuerda con estudios realizados por Britt y col., (1986), quienes describieron que el factor que más afectaba la manifestación de celo era la superficie donde se observaba a los animales en celo.

#### ***Métodos de detección de celo***

La técnica de detección de celo determinan la eficiencia o la exactitud del diagnostico, por lo cual se han desarrollado diversos métodos de ayuda, dentro de los cuales se incluyen métodos visuales, la utilización de animales marcadores, pintura en grupa, capsula detectora de monta, etc.

#### Observación visual

Este método consiste en que una persona responsable de la tarea observe el rodeo para identificar aquellas hembras que presenten el único indicador específico de celo: la pasividad a la monta. La manera más precisa para detectar celos sería la detección de celos las 24 horas. Esto no es práctico ni

muchas veces posible, por lo que hay que buscar la manera más adecuada y a la vez más efectiva. Un programa de detección de celo 3 veces por día (al amanecer, mediodía, y atardecer) o 2 veces por día al (amanecer y al atardecer) por un período de 1 hora puede detectar el 90% de los celos que ocurren (Cavestany y Méndez, 1993).

Durante la detección deben crearse las condiciones para que el celo se manifieste, uno de los aspectos fundamentales en este sentido es considerar el lugar donde se va a llevar a cabo la observación. El lugar ideal es el propio potrero en una esquina del mismo juntando o rodeando los animales a fin de favorecer la interacción del grupo sexualmente activo. Es muy importante que este juntos pero no apretados, para interpretar correctamente la pasividad a la monta. El mejor momento es cuando el animal no tiene otra actividad como prioritaria, como por ejemplo comer (Marcoantonio, 1998).

Las vacas deben de estar perfectamente identificadas para que no existan dudas de cual entró en estro. Se deben también registrar las vacas que estén en el grupo sexualmente activo para prestarle especial atención.

Los principales factores que dificultan la detección de celo incluyen, que la mayoría de los celos comienzan en la noche (entre la 18:00 y 6:00 horas; McDonald, 1991) y los celos cortos o débiles. Las vacas son detectadas erróneamente en celo, debido a la mala identificación de los animales o a una incorrecta interpretación de los signos. La pasividad a la monta, único signo a tener en cuenta como indicador de celo, es una manifestación muy breve y no se presenta en forma permanente.

#### Métodos de ayuda:

Dentro de los diferentes métodos que nos pueden ayudar a la detección de celo, tenemos:

- 1) métodos visuales: pintar la base de la cola; animales detectores; dispositivos detectores de la presión de monta

2) métodos basados en la medición de la actividad física: podómetros; collares, y

3) métodos no visuales como cambios de la temperatura corporal, cambios a nivel cérvico-vaginal y cambio en los perfiles de progesterona.

- ***Métodos visuales***

#### Pintar la base de la cola

Este método está basado en pintar una franja de 20 a 30 cm de largo por 5 cm de ancho en la base de la cola. Con las sucesivas montas que recibe el animal pierde gradualmente la pintura evidenciando la pasividad a la monta. El punto crítico de este método es aprender que grado de pintura es compatible con el celo ya que se producen falsos positivos, por animales que son montados moviéndose, o apretados en caminos o sala de ordeño y espera.

#### Dispositivos detectores de de la presión de monta

Este método se basa en un tubo de plástico que contiene un colorante el cual se encuentra dentro una pequeña bolsa plástica transparente y el conjunto esta adosado a una tela adhesiva que adhiere a la grupa, una vez que el animal es montado, se rompe el tubo y el colorante queda contenido en la bolsa plástica (Arthur, 1991). En un estudio se determino que existe un 11% animales que fueron detectados en celo por medio de la capsula detectora de monta y que presentan altos niveles de progesterona, lo que permite deducir que pueden registrarse falsos positivos; así mismo, se indico que el porcentaje de pérdidas fue alto superando 40% (Gwazdauskas y col., 1990).

#### Animales Detectores

Pueden utilizarse toros, novillos y hembras androgenizadas o estrogenizadas, dichos animales deben de tener adecuado estado sanitario y genital. También se puede colocar un bozal marcador (chin ball), que tiene en su parte inferior

un recipiente con tinta, que al ser presionado sobre el lomo del animal, lo deja marcado (Marcantonio, 2003).

#### Métodos basados en la medición de la actividad física:

Se basa en la utilización de dispositivos automatizados detectores del incremento de la actividad de la vaca, dicho animales en estro tienden a aumentar su actividad. Se pueden utilizar dos tipos de dispositivos, unos son los podómetros que miden y registran automáticamente la cantidad de pasos, y collares que miden y registran los movimientos de cuello.

Cuando la vaca entra en la sala de ordeño, la computadora automáticamente lee y registra la cantidad de movimientos del animal en el período de tiempo comprendido entre los ordeños. Este dato es comparado con los datos propios de los días anteriores y los del rodeo (Marcoantonio, 1998).

- ***Métodos no visuales***

#### **Detección de progesterona**

Otra alternativa es la medición de la concentración de la progesterona en sangre o leche, basándose en que comienza a descender 2 o 3 días antes y se mantiene baja por 6 días después de la ovulación (Dieleman y col., 1986). Si los valores son altos estamos seguros que no esta en celo pero si son bajos no podemos asegurar que este en celo, ya que estos bajan por 5 a 6 días.

#### **Mortalidad Embrionaria**

La mortalidad embrionaria se define como la pérdida del embrión entre la fertilización y el periodo final de diferenciación de las estructuras fetales. También se puede definir como la pérdida de la fertilidad durante el periodo embrionario, es decir, el periodo que se extiende desde la concepción hasta la finalización de la etapa de diferenciación, que en la vaca se produce aproximadamente al día 45, (Comité de Internacional de Nomenclatura Reproductiva, 1972).

La pérdida de preñes se caracteriza por la muerte embrionaria temprana, que ocurre antes del periodo de cuerpo lúteo (CL) de mantenimiento en la vaca en días 15 al 17 del ciclo, y muerte embrionaria tardía, que se produce de mantenimiento CL hasta el final de la etapa de diferenciación, en aproximadamente 42 días de gestación. Después de 50 días de gestación, los abortos son menos frecuentes (Santos y col., 2004)

Es considerada en la ganadería como un problema grave que causa pérdidas económicas, donde la causa más importante es el aumento del intervalo entre partos y el retorno al estro más allá del rango usual de 17-25 días.

En bovinos se puede considerar hasta un 40% de muerte embrionaria, (Sreenan y Diskin, 1986). La muerte embrionaria del día 8 al 18 posterior a la inseminación es de 75 a 80% del total de las muertes embrionarias (Diskin y Sreenan, 1980; Roche y col., 1981).



Según Mcmillan (2001) el síndrome de " vaca fantasma " es un término usado para describir a vacas que no vuelven a una segunda inseminación a los días 18 a 24 luego de la primera inseminación. Los perfiles de progesterona de estas vacas son similares a los vistos en vacas preñadas de inseminaciones con fechas similares. Las vacas fantasmas pueden presentar un largo ciclo estral después de la inseminación y se detecta el celo a los 25 a 49 días después de la misma, otras presentan largo ciclo estral y no se observa celo por segunda vez dentro de los 49 días posteriores a la primera inseminación, estos grupos son los que representan la muerte embrionaria. Hay una menor proporción de vacas fantasmas que se debe a vacas con una infección del tracto reproductivo, quistes ováricos o adhesiones importantes. El periodo crítico parece ser poco después de que el embrión llega al útero, 6-7 días después del servicio, cuando la mórula se está desarrollando en blastocito (Ayalon 1973). Las pérdidas van de 25% a 40%, la mayoría retorna al celo entre los días 20 y 22, la cual presentan un comportamiento estral regular, se supone que la mayoría de las pérdidas se originan entre el día 15 y 17, es decir en el momento en que se adhiere el embrión y se produce el reconocimiento materno de la preñez, es en este periodo en la cual aumenta las perdidas, (27 a 31%).

### ***Causas de muerte embrionaria***

Factores genéticos: los embriones pueden ser anormales por defectos heredados, errores de meiosis y fertilización, o variaciones en el número y estructura cromosómica como la poliploidía.

La mortalidad embrionaria hasta el día 10 posterior a la inseminación artificial es alrededor de un 6% (Sreenan y Diskin, 1986). Según King (1990) las anomalías cromosómicas hasta el día 7 fueron del 13,3% y solo un 1,3% hasta el día 12 pos inseminación. Las anomalías cromosómicas pueden ser clasificadas como Haploidías, Poliploidías y Aneuploidía. Estudios realizados por King (1990) determinaron que 49 embriones con defectos cromosómicos un 74% eran Haploidía o Poliploidía y solo un 26% Aneuploidía. También existen otras anomalías cromosómicas como genes letales recesivos, mutaciones letales y genotipos incompatibles.

Efecto de óvulos y espermatozoides viejos: una inseminación muy temprana y una ovulación muy tardía puede ser posible que exista una fecundación con gametos envejecidos, produciéndose fallas cromosómicas que hacen que el embrión no sean viables (O.Farrel y col., 1983).

Efecto de fallas en el ambiente materno: para que el embrión llegue al útero y se desarrolle es necesario una adecuada secreción de Progesterona por parte del cuerpo del lúteo, niveles bajo de progesterona lleva que el útero sea incapaz de mantener la gestación y el embrión moriría.

Efecto en las fallas en el reconocimiento embrio-materno: una falla en la secreción del interferón tau que bloquea la producción de prostaglandina por el endometrio que evita la regresión del cuerpo del lúteo y el retorno a la ciclicidad, lleva a que el mecanismo lúteo lítico se haga efectivo y ocurra la mortalidad embrionaria.

Efecto macho: luego de la fecundación el gameto masculino tiene un rol en el posterior desarrollo del embrión y para cumplirlo el espermatozoide debe de estar en condiciones adecuadas de maduración.

En los bovinos se han determinado que existen toros con buena fertilidad y con baja fertilidad, los primeros fallan principalmente en la fecundación, mientras que los de baja fertilidad fallan por mala fecundación y mortalidad embrionaria (Kidder 1954, Ayalon 1984).

Efecto de la infecciones uterinas: el ambiente uterino puede estar afectado por infecciones, pueden ser específicas o inespecíficas como por ejemplo metritis pos parto, y las específicas son por agentes microbianos como Trichomoniasis, Campilobacteriosis y Diarrea Viral Bovina (Bavera, 2000).

Factores ambientales: la temperatura corporal es un mecanismo fisiológico regulado por el hipotálamo, cualquier efecto de estrés calórico en ganado lechero produce un aumento de la temperatura uterina, produciendo la muerte del embrión durante la etapa de implantación, reduce un 72% la secreción del interferón  $\tau$ , la cual repercute en el mantenimiento del cuerpo lúteo y viabilidad del embrión (Tovio y col., 2006)

El stress térmico puede ser un desastre en vaquillonas, un experimento con vaquillonas expuestas a 32 °C durante 72 h. después de ser inseminadas, resultó en que ninguna de las vaquillonas estuviera preñada, si obtuvieron un 48% de preñez a 21 °C, (Dunlap y Vincent, 1971).

Factores nutricionales: Muchos estudios evaluaron posibles causas nutricionales de la baja fertilidad en ganado lechero, incluyendo: balance energético negativo evidenciando por la pérdida de score de condición corporal (Nebel y McGilliard, 1993; Ruegg y Milton, 1995; Domecq y col., 1997; Loeffler y col.,1999; Moreira y col., 2000; Butler, 2001; López-Gatius y col., 2002), efecto toxico de la urea y nitrógeno (Ferguson y Chalupa, 1989; Butler, 1998; Sinclair y col., 2000; Dawuda y col., 2002) y deficiencias de vitamina y/o minerales (Ingraham y col., 1987; Arechiga y col.,1994; 1998).

Se ha determinado que los niveles de progesterona son menores en vacas subalimentadas que en vacas con alimentación balanceada (Hill 1970, Ayalon 1978, Pereira y Linares 1986). La falta de energía es entonces la principal causa de los problemas de infertilidad, y la proteína no parece ser importante, incluso un exceso puede ser negativo.

Factores patológicos: agentes infecciosos como Leptospira spp, Campylobacter Fetus y Trichomona fetus pueden causar muerte embrionaria. También Micoplasmas spp y Ureoplasmas spp se asocian a desordenes reproductivos.

Los virus son los más importantes en afectar la viabilidad del embrión, estos son el virus de la Diarrea Viral Bovina, el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (Tovio y col., 2006)

Existen estudios en animales con mastitis infecciosa que mostraron reducción en la tasa de preñez, no se sabe mucho el mecanismo por la cual la respuesta inmune e inflamatoria conduce a la pérdida del embrión, aunque la citoquinas jueguen un papel importante, (Hansen y col., 2004).

Otros factores: deficiencia luteal (muy difícil de demostrar), desequilibrio endocrino, enfermedad hígado graso, etc.

Los factores que intervienen en la mortalidad embrionaria son múltiples y complejos.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### ***Hipótesis:***

La incidencia de la vaca fantasma es un 10% en vacas Holando en el país.

### ***Objetivos:***

Evaluar la incidencia del síndrome de la vaca fantasma en un rodeo lechero comercial, en un sistema de producción basada en pasturas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el establecimiento “El Monasterio”, en el paraje “Los Indios” ubicado al norte del departamento de Rocha. Dicho establecimiento se dedica a la producción de leche. De un rodeo de 400 vacas Holando y Holando x Jersey, se seleccionaron 150, con  $86,6 \pm 3,2$  días posparto (DPP). El 15% eran vacas de primera lactancia (primíparas), y el resto eran vacas de dos o más lactancias (multíparas). La condición corporal fue  $3,2 \pm 0,8$  (escala 1-5). Las vacas se ordeñaban dos veces al día a las 5 y 15 horas, el resto del día se encontraba pastoreando. En la sala de ordeño se administraba el concentrado que consistía en 2,5 kg de maíz quebrado por vaca. El agua era ad libitum en las parcelas.

Formulas de evaluación reproductivas: Porcentaje de concepción (%C): (vacas preñadas/vacas servidas)\*100.

Porcentaje de preñez: %DC\*%C

Preñez general: (vacas preñadas/vacas servidas)\*100

Intervalo parto a concepción: Intervalo entre el parto y la fecha del servicio en que la vaca quedo preñada.

El día 12 de octubre del 2011 se realizó ecografía para evaluar actividad ovárica (presencia del Cuerpo Lúteo o folículo en crecimiento) y descartar posibles preñeces. A las vacas que se encontraban vacías y ciclando se les colocaron dispositivos para la ayuda de detección de celo; estos fueron de tres diferentes tipos, dos Kamar diferentes (autoadhesivos y con pegamento) (Kamar Products, Inc., Zionsville, IN 46077, EE.UU) y uno denominado Estrotec® (Rockway Inc. Spring Valley,WI, 54767, EE.UU).

El 14 de octubre se le administró a 60 vacas una dosis de Prostaglandina F2alfa (800 µg de Delprostenate, Glandinex, Universal Lab., Montevideo, Uruguay) vía intramuscular, para sincronizar celos. A las 48 h del tratamiento se comenzó a detectar celo dos veces por día de mañana y de tarde, hasta el

día 20 de octubre inclusive. La inseminación se realizó después de cada ordeño, por dos inseminador. Al momento de la misma se extrajo una muestra de leche. Entre los 22-24 días luego de la inseminación se obtuvo una segunda muestra de leche y se registraron las vacas que habían recibido un segundo servicio.

Las dos muestras de leche se obtuvieron en tubos con azida de sodio como conservante, se mantuvieron refrigeradas hasta su centrifugación, la cual se realizó dentro de la semana de obtenida. Se obtuvo el suero el cual fue utilizado para determinar el contenido de progesterona. Dicho análisis se realizó a través de la técnica de Radioinmunoanálisis (RIA), el cual fue realizado por el laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria en fase sólida (<sup>125</sup>I Progesterona CAC, Siemens SA, Montevideo, Uruguay). La sensibilidad del ensayo fue de 0,02 ng/mL y los coeficientes de variación intraensayo para controles bajo (0,8 ng/mL), medio (8,0 ng/mL) y alto (15 ng/mL) fueron de 7,6%, 10,3% y 5,9%, respectivamente. La varianza interensayo fue de 9,3%, 11,8% y 6,3% para los mismos controles.

Entre los 35-45 días pos inseminación se realizó diagnóstico de gestación por ultrasonografía.

El análisis estadístico se realizó por un modelo general lineal (Proc GLM, SAS); para analizar el porcentaje de gestación se realizó previa conversión de las variables discretas a continuas. El modelo utilizó como variable de respuesta la concepción al servicio y los efectos considerados fueron paridad, raza, condición corporal, días de lactancia y tratamiento con prostaglandina. La comparación entre medias se realizó por el método LSD, con un nivel de significancia del 5%.

## RESULTADOS

La figura 3 muestra el intervalo en días de la administración de Prostaglandina y el porcentaje de vacas en celo. Como se observa el porcentaje de las vacas tratadas (CPG) fue más alto que el de las no tratadas (SPG) hasta el día 4 inclusive, mientras que el día 5 el porcentaje de las vacas no tratadas fue mayor.



Figura 3: Intervalo (días) del tratamiento con Prostaglandina (CPG) al celo; el intervalo para las vacas no tratadas (SPG) se obtuvo desde que comenzó la detección de celos al celo, para los animales seleccionados

El porcentaje de preñez de las vacas tratadas con prostaglandina fue de 82%, las vacas no tratadas el porcentaje fue 26%. ( $P < 0,0001$ ).

Progesterona: al momento de la inseminación el 96,7% (150 vacas), presentaba menos de 1 ng/mL de Progesterona en leche, y el 3,3% de las vacas (5 vacas) presentaron más de 1 mg/mL. La segunda muestra de leche extraída el día 23 el 40% (60 vacas) de las vacas presentó más de 2 ng/mL de Progesterona en leche, y el 60% (90 vacas) presentó menos de 2 ng/mL.

El porcentaje de Concepción al primer servicio es del 46% (69 vacas), mientras que al segundo servicio es del 37,33% (56 vacas).

Intervalo Parto Concepción: se dividió en cuatro Periodos, el Periodo 1 que va de menos de 60 días, Periodo 2 entre 60 y 90 días; Periodo 3 de 90 a 120 días, y Periodo 4 más de 120 días. La concepción presentó diferencias significativas entre el periodo 1 (37,4%) y el periodo 2 (83,9%) ( $P < 0,0001$ ), y con el Periodo 3 (67,3%) ( $P = 0,0035$ ), mientras que con el Periodo 4 (51,4%) no hubo diferencia ( $P = 0,2399$ ). El Periodo 2 no presentó diferencia con el Periodo 3 ( $P = 0,1425$ ), mientras que sí con el Periodo 4 ( $P = 0,0190$ ). El Periodo 3 no tuvo diferencia con el Periodo 4 ( $P = 0,1065$ ) (figura 4).

Figura 4: Porcentaje de vacas en distintos rangos de intervalo parto a concepción IPC = Intervalo parto concepción, rango).



Muerte Embrionaria: Tomamos las vacas que al momento de la inseminación presentaban menos de 1ng/mL de progesterona en leche, al día 23 presentaban más de 2ng/mL de progesterona en leche y se encontraban vacía al momento de la ecografía o habían repetido el servicio. Esto represento un 18,7% (28 vacas).

## **DISCUSIÓN**

La prostaglandina F2 $\alpha$  se ha demostrado que es un fármaco que controla el estro en el ganado pero que no influye en la fertilidad según los trabajos descritos por (Gibson CD, Morrow D, Marteniuk J, Gerloff B, Melancon J, 1983), y también a través de dichos trabajos afirman que las tasas de preñez de servicios, tasa global de preñez y servicios por concepción fueron similares en comparación con los grupos tratados con prostaglandinas vs control. Sin embargo en el presente ensayo obtuvimos diferencias con respecto a la preñez. A nuestra consideración esto se podría deber a un error humano en primer lugar, con respecto a la detección de celos, por no haber detectado los animales en estro. Deberíamos tener en cuenta que el proceso de inseminación (detección de celo, descongelado, inseminación propiamente dicha, etc.) fue realizado por dos inseminadores diferentes. Se trabajó con distintos lotes de animales (se le administró prostaglandina a un lote solo), en diferentes lugares, pudiendo estar influenciado un efecto de rodeo.

Algo a destacar en el momento de la inseminación el 97% del rodeo tenía una concentración de progesterona en leche menor a 1ng/mL y solo el 3% (5 vacas) presentaban mas de 1ng/mL. Basándose en lo descrito por Dieleman y col. (1986), la progesterona en sangre o leche comienza a descender 2 o 3 días antes y se mantiene baja por 6 días después de la ovulación, lo que determina si los valores son altos seguramente los animales no se encuentra en estro.

Con respecto al tratamiento con Prostaglandina el 60% de las vacas no recibieron tratamiento y el 40 % recibieron tratamiento. En lo referido a nuestro

trabajo obtuvimos que entre los días 3 y 4 fueron los picos de celo con el uso de la prostaglandina al igual que un trabajo descrito por Callejas, (2004).

Con lo referido a la muerte embrionaria del lote tratado con prostaglandina y no tratado, se observó una menor incidencia a favor de las tratadas con prostaglandina (5,3% vs. 11,3% respectivamente). Al contrario con los trabajos realizados en Australia, la cual sostienen que vacas tratadas con prostaglandinas para sincronizar celos, presentan mayor incidencia de vaca fantasma que las vacas que presentaron ciclos normales (17% vs. 13%), (Nation y Macmillan, 2001).

La pérdida de preñez se caracteriza por la muerte embrionaria temprana, que ocurre antes del periodo de cuerpo lúteo (CL) de mantenimiento en la vaca en días 15 al 17 del ciclo, y muerte embrionaria tardía, que se produce de mantenimiento (CL) hasta el final de la etapa de diferenciación, en aproximadamente 42 días de gestación. Después de 50 días de gestación, los abortos son menos frecuentes (Santos y col., 2004).

Diskin y Sreenan (1986), consideran que existe hasta un 40% de muerte embrionaria en bovinos, al igual que Santos y col (2004), han determinado a través de un ensayo en vacas lecheras que una de las causas más importantes de baja fertilidad es la muerte embrionaria temprana. Cerca del 40% de las preñeces fallan alrededor del momento del reconocimiento materno de la gestación (primer mes), resultado de un "diálogo" ineficiente entre el ambiente materno y el embrión (Santos y col., 2004).

Con respecto a nuestro trabajo obtuvimos el 18,7% de mortalidad embrionaria antes del día 42 de gestación. En un rodeo de vacas frisonas británicas y alemanas estudiado en Australia en la década de 1970, determinaron en una población de 777 animales que el 44% estaban preñadas al primer servicio, el 34% regreso a un segundo servicio dentro de los 24 días post servicio y el 20% no estaban preñadas y no habían regresado al servicio dentro de los 24 días, estas vacas fueron definidas como "vacas fantasma" (Bulman y Lamming, 1977).

Humblot (2001) evaluó las pérdidas de embriones en vacas Holstein en 44 rebaños en Francia y señaló que la muerte embrionaria temprana y tardía después de la primera inseminación artificial fue 31,6 y 14,7%, respectivamente.

Intervalo Parto Concepción: se dividió en cuatro Periodos, hubo diferencias significativas con el intervalo menor de 60 días sobre 60 a 90 días y de 90 a 120 días, no observándose diferencias con el intervalo de más de 120 días. El periodo de 60 y 90 días no presento diferencias significativas con el periodo de 90 y 120 días, mientras se observo diferencias con el intervalo de más de 120 días. El intervalo de 90 a 120 días no tuvo diferencias con el de más de 120 días. Podemos decir que los resultados obtenidos están dentro de las metas de un programa de manejo reproductivo (menor a 60 días, Morrow, 1980). Esta determinado que la disminución en el intervalo parto concepción aumenta la incidencia de "vaca fantasma", esto demuestra que una de las oportunidades para evitar la vaca fantasma es permitir un suficiente tiempo de recuperación ante de la próxima temporada de apareamiento (Nation y Macmillan, 2001).

## **CONCLUSIÓN**

La incidencia de muerte embrionaria (vaca fantasma) en dicho trabajo fue de 18.7%, valor este similar a los trabajos ya citados, lo que conlleva a una gran incidencia económica en la industria lechera, la cual se deben a diferentes factores que actúan en forma inexplicable y que no nos permiten medidas eficaces de prevención.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Adams GP, Kot K, Smith CA, Ginther OJ. (1993). Selection of dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim Reprod Sci* 30:259-271.
- 2) Adams GP. (1998). Control of ovarian follicular wave dynamics in mature and prepuberal cattle for synchronization and superstimulation. *Proc XX Congress of the World Association of Buiatrics*; Sydney, Australia; p. 595-605.
- 3) Ahmed WM. (2007). Overview on some factors negatively affecting ovarian activity in large farm animals. *Global Vet.* 1:53-66.
- 4) Alberio R. (2003). Nuevas biotecnologías reproductivas. Aspectos biológicos y económicos. V Simposio Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Argentina, pp. 293-322.
- 5) Arechiga CF, Ortiz O, Hansen PJ. (1994). Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 41:1251-1258.
- 6) Arechiga CF, Vazquez-Flores S, Ortiz O, Hernandez-Ceron J, Porras A, McDowell LR, Hansen PJ. (1998). Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 65-76.
- 7) Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1991). *Reproducción y Obstetricia Veterinaria*. 6a ed. Madrid, Interamericana-Mc. Graw Hill. 702 p.
- 8) Ayalon N. (1973). A Reiew of embryonic Mortality in cattle. Department of Reproduction, Kiron Veterinary Intitute, Beit Dagan, Israel. Pag: 1-
- 9) Ayalon, (1984). Síndrome de vaca repetidora. Disponible en [www.softwreganadero.com/articulos/articulo19.html](http://www.softwreganadero.com/articulos/articulo19.html), Fecha de consulta 6/10/12.
- 10) Bavera GA. (2000a). Curso de Producción Bovina de Carnes, FAVUNRC, [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar). Fecha de consulta 6/10/12.
- 11) Bavera GA. (2000b). El sitio de la producción bovina de carne. [www.produccionbovina.com](http://www.produccionbovina.com); Fecha de consulta: 08/07/12.
- 12) Becaluba, F, Becaluba, H. (2006). Nuevas tecnologías para el manejo de la

detección de celo. Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar). Fecha de consulta: 6/10/12.

- 13) Blanc J, Moraes J, Ferraris A. (1994). Respuesta a la sincronización de celo con un análogo sintético de la prostaglandina F2alfa (Delprostenate) en vacas en ordeño. XXII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay; pp: C.C.2.1-C.C.2.5
- 14) Bó G, Mapletoft R, Adams G. (2000). Actualización sobre el control del ciclo estral y la dinámica folicular en el ganado bovino. Simposio Intervet de Reproducción Bovina. Punta del Este, Uruguay, p. 13.
- 15) Britt JH, Scott, RG, Armstrong JD, Whitacre, MD. (1986). Determinants of estrous behavior in lactating Holstein cows. J Dairy Sci 69:2195-2202.
- 16) Bulman, DC, Lamming G E. (1978). Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing aciclicity in dairy cows. J Reprod Fert 54:447-458.
- 17) Butler WR. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J Dairy Sci 81:2533-2539.
- 18) Butler WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. Anim Reprod Sci 60:449-457
- 19) Butler WR. (2001). Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. Occasional Publication N°26 Br Soc Anim Sci (ed) Fertility in the high producing dairy cow. p. 133-145.
- 20) Callejas S. (2004). Control farmacológico del ciclo estral bovino: Bases fisiológicas, protocolos y resultados. Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar) , Fecha de consulta: 19/08/12
- 21) Catalano R, Callejas S. (2001). Oestrus Detection in Bovine Factors That Affect in and Help Methods. Revista de Medicina Veterinaria, 82:17-22.
- 22) Cavalieri J, Morton J, Nation DP, Hepworth G, Pino S, Rabiee A, Macmillan KL. (2003a). Phantom cows: predisposing factors, causes and treatment strategies that have been attempted to reduce the prevalence within herds. Soc. Dairy Cattle Vet of New Zealand Vet Assoc 20: 365-388.

- 23) Cavallieri, J, Eagles VE, Ryan M, Macmillan KL. (2003b). Role of the sensitivity of detection of oestrus in the submission rate of cows treated to resynchronise oestrus. *Aust Vet J* 81:416-412.
- 24) Cavestany D. (2000a). Eficiencia reproductiva. Manejo reproductivo en vacas lecheras. INIA Serie Técnica N<sup>o</sup> 115. La Estanzuela, Uruguay, p. 1-11.
- 25) Cavestany D. (2000b). Sincronización de celos en vacas Holando en producción con una esponja intravaginal impregnada con acetato de medroxiprogesterona (MAP). *Temas de lechería: Reproducción*. INIA Serie Técnica N<sup>o</sup> 116. La Estanzuela, Uruguay, p. 33-54.
- 26) Cavestany D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de Uruguay. *XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay*, p. 143-163.
- 27) Cavestany D. (2005). Manejo Reproductivo en vacas de leche. Producir o no producir? *Revista INIA* 4: 2-5.
- 28) Cavestany D, Méndez J. (1993). Manual de Inseminación Artificial en Bovinos. *Boletín de Divulgación No. 39*. INIA La Estanzuela. 86 pp.
- 29) Dawuda PM, Scaramuzzi RJ, Leese HJ, Hall CJ, Peters AR, Drew SB, Wathes DC. (2002). Effect of timing of urea feeding on the yield and quality of embryos in lactating dairy cows. *Theriogenology* 58:1443-1455.
- 30) De Silva AW, Anderson GW, Gwazdauskas FC, McGilliard ML, Lineweaver JA. (1981). Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle. *J Dairy Sci* 64:2409-2418.
- 31) Dieleman SJ, Bevers MM, Tol HTM, Wiliemse AH, (1986). Peripheral plasma concentrations of estradiol, progesterone, cortisol, Lh and prolactin during the oestrus cycle in the cows, with emphasis on the peri-oestrus period. *Anim Reprod Sci* 10:275-292.
- 32) Diskin, M, Austin, E, Roche, J. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Anim. Endocrinol*, 23: 211-228.
- 33) Diskin, M.G., Sreenan, J.M., 1980. Fertilisation and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J Reprod. Fertil.* 59, 463-468.

34) Domecq JJ, Skidmore AL, Lloyd JW, Kaneene JB. (1997). Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J Dairy Sci* 80:113-120.

- 35) Dunlap, S.E.; Vincent, C.K. (1971). Influence of postbreeding thermal stress on conception rate in beef cattle. *J Anim Sci.* 32:1216-1218.
- 36) Farnel O (1983), Ferguson JD, Chalupa W. (1989). Impact of protein nutrition on reproduction in dairy-cows. *J. Dairy Sci.* 72:746-766.
- 37) Ferguson JD, Skan D, Chalupa WV, Kronfeld DS. (1990). Effects of hard facts on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci.* 73:2864-2879
- 38) Fernández M, Pérez M, Sánchez A. (2006). Determinación de la duración, intensidad y conducta de celo en vacas en ordeño y vaquillonas Holando. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, 48 p.
- 39) Fernández Tubino A. (2003). Ondas foliculares: Su importancia en los métodos de sincronización de celos en bovinos. Montevideo, AEV,. Facultad de Veterinaria Uruguay. /3/p.
- 40) Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.* 58:248-256.
- 41) Gibson, C.D., Morrow, D., Marteniuk, J., Gerloff, B., Melancon J. (1983). Use of prostaglandin F2 alpha in the treatment of unobserved estrus in lactating dairy cattle. *Am J Vet Res.* 44:1084.
- 42) Gwazdauskas FC, Lineweaver JA, McGilliard ML. (1983). Environmental and management factors affecting estrous activity in dairy cattle. *J Dairy Sci* 66:1510-1514.
- 43) Hafez ESE. (1989). Reproducción e inseminación artificial en Animales. 5º ed. México Interamericana MC Graw-Hill. 677 p.
- 44) Hafez ESE. (1989). Reproducción e inseminación artificial en animales, 5a. ed. México Interamericana, 677p.
- 45) Hafez ESE. (2002). Reproducción e Inseminación Artificial. 7ª ed. México. Mc. Graw- Hill, 519 p.
- 46) Hansen PJ, Soto P, Natzke RP. (2004). Mastitis and fertility in cattle –possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality, *Am. J Reprod Immunol* 51:294-301.
- 47) Heres L, Dieleman SJ, Van Eerdenburg FJCM, (2000). Validation of a new method of visual oestrus detection on the farm. *Vet Q* 22:50-55



- 48) Hill, 1970; Ayalon, 1978; Pereyra y Linares, 1986. Síndrome de vaca repetidora. Disponible en [www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html](http://www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html), fecha de consulta: 6/10/12.
- 49) Huanca W. (2001). Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Vacas Lecheras. Rev. In. Vet. Perú 12:161-163.
- 50) Humblot, 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.
- 51) Ingraham RH, Kappel LC, Morgan EB, Srikandakumar A. (1987). Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. J Dairy Sci 70: 167-180.
- 52) Inostroza MA, Sepúlveda NG. (1999). Actividad reproductiva posparto en vacas lecheras frisonas. Arch. Zoot. 48:429-432
- 53) Kidder, (1954). Síndrome de vaca repetidora. Disponible en [www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html](http://www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html), Fecha de consulta 6/10/12.
- 54) King GJ. (1990). Sexual behavior in cattle. En: Studies of reproductive efficiency of cattle using RIA techniques. IAEA. Vienna, Austria. Pp 59-66.
- 55) Lemaire C, Grela C, de María P, Cavestany D. (2011). Indicadores reproductivos en predios lecheros en Uruguay: resultados de dos años de evaluación. Veterinaria (Montevideo); 48:15-20.
- 56) Loeffler SH, de Vries MJ, Schukken YH, de Zeeuw AC, Dijkhuizen AA, de Graaf FM, Bran A. (1999) Use of AI technician scores for body condition, uterine tone and uterine discharge in a model with disease and milk production parameters to predict pregnancy risk at first AI in Holstein dairy cows. Theriogenology 51: 1267-1284.
- 57) López-Gatius F, Santolaria P, Yaniz J, Rutllant J, López-Bejar M. (2002). Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. Theriogenology 57:1251-1261.

- 58) Lucy M. (2008a). Fuentes de infertilidad y soluciones para corregir la infertilidad en las vacas de tambo al postparto. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 70-74.
- 59) Lucy, M. (2008b). Tratamientos para sincronización de celo en vacas de tambo en lactación en sistemas de pastoreo o de feedlot. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 30-34.
- 60) Macmillan J. (2001). The effect of the "Phantom Cow" Syndrome in Victorian dairy herds. Australia, Department of Veterinary Science, University of Melbourne, total de páginas.
- 61) Marcantonio S. (1998) Reproducción y detección de celo. Buenos Aires Romage; total de páginas.
- 62) Marcantonio S. (1998). ¿Cómo y porqué una vaca entra en celo? Disponible en: [www.produccionbovina.com](http://www.produccionbovina.com), Fecha de consulta: 06/09/12.
- 63) Marcantonio S. (2003). [www.supercampo.com.ar/edicion](http://www.supercampo.com.ar/edicion) 0108/nota 03.htm Fecha de consulta:08/07/12
- 64) McDonald LE. (1991). Endocrinología Veterinaria y Reproducción. 4ª ed. México. Interamericana, 551 p.
- 65) Moore K, Thatcher WW. (2006). Major advances associated with reproduction in dairy cattle. J Dairy Sci. 89: 1254-1266.
- 66) Moreira F, Risco C, Pires MFA, Ambrose JD, Drost M, De Lorenzo M, Thatcher WW. (2000). Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving timed insemination. Theriogenology 53: 1305-1319.
- 67) Morrow DA. (1986). Current Therapy in Theriogenology. 2º ed. Philadelphia, Saunders; 1104 p.
- 68) Mukasa-Mugerwa E. (1989). A review of reproductive performance of female. Bos indicus (Zebu) cattle. Monograph N<sup>o</sup>6 International Livestock Centre for Africa. ILCA Addis Abeda, Etiopía, 134pp.
- 69) Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP, Roche JF. (1991). Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the estrus cycle in beef heifers. J. Reprod. Ferti. 92:333-338.

- 70) Nakao, T. (1998). El uso de GnRH y la PGF2alfa para mejorar la eficiencia reproductiva en los bovinos. XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 30-32.
- 71) Nebel RL, McGilliard ML. (1993). Interactions of high milk-yield and reproductive-performance in dairy-cows. J. Dairy Sci. 76:3257-3268.
- 72) Peters RA, Ball PJH. (1991). Reproducción del ganado vacuno. Zaragoza. Acribia, 222 p.

- 73) Pino CS, Macmillan KL, Anderson GA, (2006). Effects of artificial insemination on the incidence of long return intervals. Proc New Zealand Soc Anim Prod 64:325-328.
- 74) Roberts SJ. (1979). Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción. Buenos Aires. Hemisferio Sur, 1021 p.
- 75) Roche, J.F., Boland, M.P., McGeady, T.A., (1981). Reproductive wastage following artificial insemination in cattle. Vet. Rec. 109, 95-97.
- 76) Ruegg PL, Milton RL. (1995). Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island. Canada. Relationships with yield, reproductive performance, and disease. J. Dairy Sci. 78:552-564.
- 77) Sanders D. (2005). Troubleshooting Poor Reproductive Performance in Large Herds. Vet Clin North Amer, Food Anim. Pract. 21:289-304.
- 78) Santos JE, Thatcher WW, Chebel RC, Cervi RL, Galvao KN. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Anim Reprod Sci 82-82:51-32.
- 79) Senger PL (2003). Pathways to Pregnancy to Parturition. 2<sup>a</sup> ed. Washington. Current Conceptions, 373 p.
- 80) Sepúlveda N, Rodero E. (2003). Comportamiento sexual durante el estro en vacas lecheras. Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar). Fecha de consulta: 07/08/12.
- 81) Sinclair KD, Kuran M, Gebbie FE, Webb R, Mc Evoi TG. (2000). Nitrogen metabolism and fertility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. J. Anim. Sci. 78:2670-2680.
- 82) Smalley SA. (1981). Management problems of large dairies. Vet Clin North Am: Large Anim Pract; 3:289-305.
- 83) Spicer LJ, Tucker WB, Adams GB. (1990). Insulin-like growth factor in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. J. Dairy Sci. 73:929-937
- 84) Sreenan, J.M., Diskin, M.G., (1986). The extent and timing of embryonic mortality in cattle. En: Sreenan, J.M., Diskin, M.G. (Eds.), Embryonic Mortality in Farm animals. Martinus Nijhoff, CEC, pp. 142-158.

- 85) Tovia N, Duica A, Grajales. Henry. Disponible en [www.reprogeneticcolombia.com](http://www.reprogeneticcolombia.com), Sec. Sanidad Animal,pag: 3-4-5-6. Fecha de consulta 6/10/12.
- 86) Ungerfeld R. (2002). Reproducción en animales domésticos. Montevideo. Melibes. Tomo 1, 289p.
- 87) Van Eerdenburg FJCM, Karthaus D, Taverne MA, Merics I, Szenci O. (2002). The Relationship between Estrous Behavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 85:1150-1156.
- 88) Van Eerdenburg FJCM. (2009). Detección de celo en vacas lecheras: como vencer al toro. XXXVII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 44-54.
- 89) Van Eerdenburg, F.J.C.M, Loeffler, H.S.H, Van Vliet, J.H. (1996). Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet. Quart.* 18:52-54.
- 90) White FJ, Wettemann RP, Loooper ML, Prado TM, Morgan GL. (2002). Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. *J. Anim. Sci.* 80:3053-3059.
- 91) Williamson NB, Morris RS, Blood DC, Cannon CM. (1972). A study of oestrous behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herd. I. The relative efficiency of methods of oestrus detection. *Vet Rec* 91:50-58.
- 92) Wiltbank MC. (1997). How information of hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. *Proc Annual Meeting of the Society for Theriogenology*; p.83:97  
[www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html](http://www.softwareganadero.com/articulos/articulo19.html), Fecha de consulta 6/10/12.
- 93) Youngquist R, Threlfall W. (2007). *Current Therapy of Large Animal Theriogenology*. 2<sup>a</sup> ed. St. Louis. Saunders, 1061 pp.