

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**INFLUENCIA DE LA BIOESTIMULACIÓN EN LA ACTIVIDAD CÍCLICA Y LA  
TASA DE PREÑEZ EN VAQUILLONAS DE CARNE SOMETIDAS A UN  
PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN EN BASE A ANÁLOGOS DE PGF2 $\alpha$**

**Por**

Luciano Martínez

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

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO**  
**URUGUAY**  
**2012**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de mesa: Dr. Jorge Gil

Segundo miembro: Dra. Carolina Fiol

Tercer miembro: Dr. Danilo Fila

Cuarto miembro: Lic. Rodolfo Ungerfeld

Autores: Luciano Martínez

Fecha: 21 de diciembre de 2012

## **AGRADECIMIENTOS**

A Carolina Fiol por ser mi tutora y por la ayuda que me brindó al realizar la tesis

A Rodolfo Ungerfeld por ser mi cotutor y por las correcciones hechas

A mis familiares y amigos por el apoyo que me dieron

A Emilio Machado por la ayuda que me dio durante la realización del trabajo de campo

A Diego Picardo por haber cedido su predio para la realización del trabajo

A SantiagoTelechea por la colaboración realizada en computación

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1.** Proporción de vaquillonas expuestas a novillos androgenizados (ENA) y no expuestas a novillos (NEN) que presentaron CL al Día 15 y 30 del periodo experimental.....30

**Tabla 2.** Tasas de concepción y preñez en vaquillonas expuestas a novillos androgenizados (ENA) y no expuestas a novillos (NEN) durante 30 días previos a la implementación de un protocolo de sincronización de celo (PSC) basado en la administración de una doble dosis de PGF2 $\alpha$  aplicada con un intervalo de 11 días de diferencia e inseminación artificial (IA).....30

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	4
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
PUBERTAD.....	10
Regulación endócrina durante en el periodo peri-puberal.....	10
Desarrollo folicular durante el periodo peri-puberal.....	11
Factores que afectan la actividad cíclica en las vaquillonas.....	12
Edad y peso.....	12
Nutrición.....	12
Nutrición previa y posterior al destete.....	13
Factores genéticos.....	14
Factores sociales.....	14
BIOESTIMULACIÓN.....	15
Factores que influyen en la respuesta a la bioestimulación.....	16
Raza, Edad y Categoría.....	16
Estado nutricional al momento del estímulo.....	17
Característica de los animales bioestimuladores.....	19
Tipo de contacto.....	19
Duración de la exposición o tiempo de contacto.....	21
Bioestimulación y respuesta reproductiva a un PSC.....	23
Utilización de la sincronización de celos y ovulaciones en bovinos.....	23
Bioestimulación y respuesta reproductiva.....	24
OBJETIVOS.....	27
Objetivo general.....	27
Objetivos específicos.....	27
HIPÓTESIS.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
a. Análisis estadístico.....	29
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIÓN.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar si el porcentaje de celos y preñeces obtenidos con una sincronización de celos e inseminación artificial en vaquillonas de carne aumenta con una pre-estimulación con novillos androgenizados (NA) por 30 días. Fueron utilizadas 106 vaquillonas cruce Hereford de 22 meses de edad y  $282,5 \pm 25,6$  kg de peso vivo y 6 novillos androgenizados. El día -7 (Día 0 = inicio de la exposición a los machos) se realizó un ecografía a cada uno de los animales para visualizar la presencia de cuerpo lúteo (CL). El Día 0 las vaquillonas fueron asignadas homogéneamente según su peso corporal y la presencia de CL, a uno de dos tratamientos: 1) expuestas a NA por 30 días (ENA,  $n = 53$ ) y 2) no expuestas a NA y aisladas de todo contacto con otros machos (NEN,  $n = 53$ ) (distancia mínima = 800 m). Los novillos utilizados fueron tratados con testosterona inyectable desde una semana antes del inicio del trabajo, y con repeticiones semanales posteriores. Los NA fueron rotados a la mitad del periodo de exposición, manteniendo una relación macho-hembra de 1/25. Se realizaron ecografías ováricas transrectales para la determinación de la actividad ovárica al inicio (Día 0), mitad (Día 15) y final (Día 30) del período de exposición, determinándose la presencia de CL. Al Día 30 se retiraron los NA y las vaquillonas pasaron a manejarse como un solo grupo, realizándose una sincronización de celos mediante la administración de dos dosis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a intervalo de 11 días. A las 48 h de la última  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se realizó la detección de celos durante 6 días, y la inseminación artificial a las 12 h de detectado el celo. Se determinaron las tasas de preñez por ecografía a los 70 días de finalizada la inseminación artificial. Una mayor proporción de vaquillonas ENA que NEN presentaron CL al Día 15 (54,7 y 32,1%, respectivamente;  $P = 0,02$ ), pero no existieron diferencias al Día 30 (73,6 y 72,0%, ENA y NEN, respectivamente). A su vez, no existieron diferencias en la proporción de vaquillonas detectadas en celo (66,0 y 67,9%, ENA y NEN respectivamente), ni en las tasas de concepción (83,0 y 92,0%, ENA y NEN, respectivamente), y preñez (83,0 y 86,5%, ENA y NEN, respectivamente) entre ENA y NEN. En conclusión, la exposición de vaquillonas de 2 años a NA en forma previa a una sincronización de celos en base a  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , no tuvo efectos positivos sobre los celos ni sobre las tasas de preñez a la IA.

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine if the response to an estrus synchronization and artificial insemination in beef heifers was improved in terms of percentage of estrus and pregnancies, with a pre-stimulation with androgenised steers (AS) during 30 days. One hundred and six Hereford heifers (22 months of age and  $282.5 \pm 25.6$  kg of weight) were stratified by body weight and presence of a corpus luteum (CL) and assigned to be: 1) exposed to AS for 30 days (exposed heifers, EH,  $n = 53$ ) or 2) not exposed to AS and isolated from all other males (non exposed heifers, NEH,  $n = 53$ ) (minimum distance= 800 m). The androgenization of the six steers used throughout the experiment involved the administration of injectable testosterone, since one week before the beginning of the test, with subsequent weekly repetitions. The AS were rotated in the middle of the exposure period, maintaining a male-female ratio of 1/25. Ovarian transrectal ultrasound were performed to determine ovarian activity at the beginning (Day 0), in the middle (Day 15) and at the end (Day 30) of the exposure period determining the presence of CL. On Day 30, AS were removed and the heifers were treated as a single group performing a synchronization of estrus by administration of two doses of the PGF2 $\alpha$  at 11 days interval. Forty eight hours after the last PGF2 $\alpha$  the detection of estrus was done during 6 days and the artificial insemination (AI) was performed 12 hours after estrus detection. Pregnancy rates were determined by ultrasound, 70 days after AI was finished. A greater proportion of EH than NEH showed CL on Day 15 (54.7 and 32.1%, respectively;  $P = 0.02$ ), but there were no differences on Day 30 (73.6 and 72.0%, EH and NEH, respectively;  $P = 0.2$ ). In turn, there were no differences in the proportion of heifers detected in estrus (66.0 and 67.9%, EH and NEH, respectively;  $P = 0.3$ ) or pregnancy rates (83.0 and 86.5%, EH and NEH, respectively;  $P = 0.6$ ). In conclusion, exposure of 2 years old heifers to AS before estrus synchronization based in PGF2 $\alpha$ , had no positive effects on estrus or in pregnancy rates at AI.

## INTRODUCCIÓN

La cantidad de bovinos de carne en el Uruguay se ubican en el entorno de 11,1 millones de animales, los que ocupan una superficie de 12,256 millones de hectáreas (DIEA, 2011). De estas, 5,684 millones corresponden a vacas de cría, las que ocupan un 51% de la superficie ganadera total (DIEA, 2011). Los sistemas criadores se desarrollan básicamente sobre campo natural, con una alta dependencia de los factores climáticos, lo que determina una gran variación en la calidad y cantidad de forraje ofrecido (Rovira et al., 1996). La eficiencia productiva de los bovinos de carne es altamente influenciada por la reproducción, y la edad de pubertad es uno de los mayores determinantes de la eficiencia de la vida reproductiva de las hembras bovinas (Schillo et al., 1992). Por lo tanto, las altas tasas reproductivas son fundamentales para la obtención de una elevada eficiencia en los sistemas de producción de bovinos de carne.

La actividad de cría en el país se caracteriza por una baja eficiencia reproductiva puesta en evidencia por los siguientes indicadores: 1) una avanzada edad al primer entore (50% a los 3 años de edad), lo que implica un alto porcentaje de animales improductivos en el campo, y 2) un bajo porcentaje de procreo (cantidad de terneros destetados por cada cien hembras entoradas), del orden del 63% (Quintans, 2007). La posibilidad de adelantar la edad en que las vaquillonas inician la pubertad, y por lo tanto la edad al primer entore puede tener gran impacto económico ya que implica disminuir las categorías improductivas del predio y aumentar el número de terneros producidos en la vida del animal (Lesmeister et al., 1973). A su vez, se reduce el intervalo entre generaciones, permitiendo una mayor intensidad de selección, en procura de aumentar el progreso genético para las características de interés económico (Andrade, 1999).

La ternera es el primer eslabón dentro de un rodeo de cría. La edad más adecuada para su primer servicio dependerá de cada sistema de producción. El manejo pos-destete en un rodeo en el que la edad a primer entore es de 24-26 meses será diferente al manejo en aquel sistema que tenga intención de entorar terneras de 15 meses y ambos se manejarán en forma distinta respecto a aquel en el que el primer servicio se realizara a los 18-20 meses (Quintans, 2002). Para cualquiera de las situaciones anteriores se deben conocer los principios fundamentales de manejo nutricional y reproductivo, especialmente cuando se pretenden entorar las vaquillonas a edades más temprana (Quintans, 2002). Existen varios factores que influyen en la edad a la pubertad, incluidos factores genéticos y ambientales. Dentro de los factores ambientales se destaca la alimentación prepuberal y pos-destete (Wiltbank et al., 1969), las tasas de crecimiento (Laster et al., 1976), el fotoperiodo (Schillo et al., 1982) y la bioestimulación o efecto macho (Chenoweth, 1983; Roberson et al., 1991).

La bioestimulación, efecto macho o toro, se define como el estímulo provocado por la presencia de los machos, induciendo el estro y la ovulación mediante estímulos genitales, feromonas u otras señales externas (táctiles, visuales, auditivas u olfatorias) (Chenoweth, 1983). La efectividad de la utilización del



efecto macho para disminuir el anestro posparto en vacas de cría ha sido bien documentada a nivel internacional (Zalesky y col. 1984; Alberio et al., 1987; Berardinelli y Joshi, 2005) y nacional (Miller y Ungerfeld, 2008). Sin embargo, los antecedentes de su uso para adelantar la pubertad en vaquillonas de carne son muy escasos. En vaquillonas se han encontrado resultados positivos con periodos cortos así como largos de exposición, tanto en *Bos taurus* (Izard y Vandenberg, 1982; Roberson et al., 1991; Assis et al., 2000; Ungerfeld, 2009) como en *Bos indicus* (Rekwot et al., 2000; Soares et al., 2008). Varios factores podrían influir en la respuesta de las vaquillonas a la bioestimulación: algunos propios de las hembras (edad y peso al momento del estímulo), y otros vinculados a la intensidad del estímulo (edad de los machos, tipo de exposición, duración de la exposición).

El uso de la bioestimulación como forma de pre-estimular el comienzo de la ciclicidad en hembras resulta de sumo interés al momento de realizar una sincronización de celos. En vacas de cría posparto, la exposición continua a machos durante 50-60 días previos y 5 días luego de la PGF2 $\alpha$ , determinó una mayor proporción de hembras ciclando al comienzo del protocolo, y mayores tasas de preñez luego de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Berardinelli y Tauck, 2005). En vaquillonas, la sincronización de celos con agentes luteolíticos (prostaglandina F2 alfa) resulta muy eficaz y de muy alta adopción por los productores. Por lo tanto, resulta de gran interés evaluar la bioestimulación como una alternativa que permita mejorar la respuesta a la sincronización de celo en base a análogos de PGF2 $\alpha$  en vaquillonas de carne.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### PUBERTAD

La pubertad constituye un evento trascendental dentro de la vida reproductiva de la hembra bovina, ya que marca el inicio de la misma, y mientras más pronto comience dicha etapa, más descendientes producirá el animal a lo largo de su vida (Lesmeister et al., 1973). La definición de la pubertad se ha hecho bajo diversos criterios. Puede definirse como la etapa en donde la hembra inicia su madurez sexual y puede reproducirse (Dyrmudsson, 1973 citado por Araujo 2004; Robinson, 1977; Arthur, 1991), mientras que otros la definen como el primer comportamiento estral acompañado por el desarrollo de un cuerpo lúteo funcional que se mantiene por un periodo de tiempo propio de cada especie (Kinder, 1987; Rovira, 1996). La pubertad es un proceso gradual que aparece en la etapa de desarrollo somático de un individuo, donde por primera vez se hace factible la reproducción finalizando con la madurez sexual (Faure, 1998).

### Regulación endócrina durante el periodo peri-puberal

La eminencia media del hipotálamo es la encargada de liberar la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que estimula la secreción de la hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) a nivel de la hipófisis anterior. Durante el periodo pre-puberal las bajas concentraciones de LH son mantenidas debido a que el eje hipotálamo hipofisario se encuentra bajo la acción de un feedback negativo por parte de los estrógenos (secretado por los folículos ováricos) (Kinder et al., 1987). En vaquillonas pre-púberes, el hipotálamo es más sensible al efecto inhibitorio del estradiol, lo que determina una baja liberación de GnRH (Day et al., 1984, 1986). La concentración de receptores de estradiol en el hipotálamo y en la hipófisis anterior decrecen a medida que la pubertad se acerca (Day et al., 1987) y esto reduce la inhibición del estradiol sobre el hipotálamo e incrementa la liberación de GnRH (Kinder et al., 1995). En cambio, el número de receptores de GnRH en la hipófisis no varía a medida que la pubertad se aproxima (Day et al., 1987). La pubertad está asociada a la maduración del hipotálamo y a la disminución de la retroalimentación negativa del estradiol sobre la pulsatilidad de la LH.

El periodo pre-puberal se caracteriza por una baja frecuencia de pulsos de LH, mientras que a medida que el animal se aproxima a la pubertad el efecto negativo del estradiol disminuye permitiendo un aumento en la frecuencia de dichos pulsos. Este patrón de LH estimula la maduración de los folículos ováricos, resultando en un aumento de la concentración de estradiol, la que induce el estro, pico preovulatorio de LH y la ovulación (Day et al., 1984). En forma previa al inicio de la pubertad, se han reportado dos incrementos de LH: uno temprano entre las 12 y 20 semanas de edad (Schams et al., 1981) y otro aumento gradual entre las 36 y 52 semanas de edad (Day et al., 1984; Dodson et al., 1989; Schams et al., 1981). Algunos autores han observado un incremento precoz de la concentración de FSH, coincidente con la de LH (Schams et al., 1981). El significado funcional del aumento temprano de la secreción de

gonadotropinas no es claro, pero ciertamente estimula el desarrollo del pool de folículos ováricos antrales (Schams et al., 1981). La supresión de este aumento temprano con implantes estrogénicos desde el nacimiento resultó en una pubertad retardada y baja fertilidad en vaquillonas Hereford (Bo et al., 1993).

### **Desarrollo folicular durante el periodo peri-puberal**

A partir de la utilización de la ultrasonografía en el estudio de la funcionalidad ovárica en la especie bovina, se logró confirmar la teoría de Rajakoski (1960), quien postuló la existencia de ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral bovino (Savio et al., 1988; Sirois y Fortune, 1988). A su vez, se demostró que este patrón de ondas se repite en los distintos momentos fisiológicos de la hembra bovina, como ser en el periodo prepuberal (Adams et al., 1994; Evans et al., 1994a, 1994b), la gestación (Ginther et al., 1989) y el posparto (Savio et al., 1990). Una onda de crecimiento folicular involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4 mm, que ocurre al mismo tiempo en los dos ovarios (Ginther et al. 1989). Durante 2 o 3 días todos los folículos crecen y uno de ellos es seleccionado, continúa creciendo y se convierte en folículo dominante, mientras que el resto de los folículos, llamados subordinados, se vuelven atrésicos y regresan. El destino final de este folículo dominante podrá ser la ovulación o la regresión para su reemplazo (Bó et al., 2002).

Las ondas foliculares presentan tres fases definidas: una fase de crecimiento (días 0 a 6), una fase estática (días 6 a 12) y una fase de regresión (día 12 en adelante) (Ginther et al. 1989). El mecanismo que regula la dinámica folicular está basado en respuestas diferenciales de los folículos a la FSH y LH (Ginther et al., 1996). Antes de la emergencia de cada onda, existe un incremento en las concentraciones de FSH (Adams et al., 1992) que es responsable del reclutamiento de los folículos. El crecimiento de los folículos, una vez que ha ocurrido el reclutamiento, es dependiente de la FSH hasta que estos alcanzan un diámetro de aproximadamente 8mm, momento en que los niveles de FSH son más bajos. A partir de este momento, los niveles de FSH se encuentran por debajo de los niveles necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados los cuales se atresian, en cambio el folículo dominante es capaz de subsistir cuando las concentraciones de FSH son bajas (Ginther et al., 2001). La capacidad del folículo dominante para seguir creciendo con bajos niveles de FSH es debido a que el mismo expresa receptores de LH en la células de la granulosa (Ginther et al., 1996). Todos los folículos poseen receptores de LH en las células de la teca y de FSH en las células de la granulosa, pero solo el folículo dominante adquiere receptores de LH en las células de la granulosa (Ireland et al., 1987). La LH se unirá a sus receptores estimulando una mayor producción de estradiol que le permitirá al folículo seguir creciendo aunque disminuyan los niveles de FSH circulantes. El destino final del folículo dominante estará condicionado por la situación funcional del cuerpo lúteo. Los niveles altos de progesterona afectan adversamente la frecuencia de pulsos de LH (Stock y Fortune, 1993), lo que causa que el folículo dominante detenga sus funciones metabólicas y comience a regresar. A diferencia de esto último, cuando el desarrollo del folículo dominante coincide con la regresión del cuerpo lúteo, se dará un incremento de la frecuencia de pulsos de LH, que estimulará un mayor

crecimiento del folículo dominante y un aumento en las concentraciones de estradiol, lo cual provoca que el folículo termine su crecimiento y ovule.

### **Factores que afectan la actividad cíclica en vaquillonas**

La pubertad (momento en que se manifiesta primer celo acompañado de ovulación y función lútea normal) está influenciada por distintos factores, siendo la edad y el peso vivo los factores determinantes de la misma. Los demás factores como genotipo, nutrición, fotoperiodo, manejo, clima y los aspectos sociales afectan la edad y peso vivo a la pubertad.

#### ***Edad y peso vivo***

En condiciones normales, una hembra no alcanzara la pubertad hasta que no llegue a un estado de desarrollo que le asegure la capacidad de tener y cuidar una cría. Por esta razón, la pubertad se encontraría menos relacionada con la edad cronológica y más relacionada con el estado de desarrollo, peso vivo y presencia de adecuadas reservas corporales (Lindsay et al., 1993 citados por Quintans, 2002). La capacidad reproductora aparece cuando el animal alcanza un determinado peso corporal (peso estático), que corresponde aproximadamente al 60-65% del peso corporal adulto (Topps et al., 1977). Costa et al. (2007) plantea que el peso estático no sería el único factor determinante de la pubertad sino que la dinámica de ganancia de peso vivo sería, también un factor importante a tener en cuenta.

La edad a la pubertad se ubica entre los 10,5 meses a 13,7 meses (Moran et al., 1989). En Uruguay, se cuenta con escasa información respecto al inicio de la pubertad en función de la edad, peso y tipo racial. Pittaluga y Rovira (1968) trabajando con terneras Hereford encontraron diferencias en la edad a la pubertad entre las vaquillonas que recibieron un plano nutritivo alto pos-destete (260 kg con 405 días de edad) en relación a aquellas con restricción alimentaria (239 kg de peso vivo y 425 días de edad). Estudios más recientes señalan que la pubertad se alcanzaría entre los 15 y 17 meses de edad siempre que el peso vivo se encuentre entre los 278-295 kg de peso ( Quintans et al., 2007).

Como fuera mencionado, si bien el peso vivo y la edad son determinantes de la pubertad, existen muchos otros factores que pueden influir en la edad y el peso al cual se alcanza la pubertad. Entre ellos se destaca el plano nutricional (nutrición pre-destete y pos-destete), la genética y los factores sociales como la bioestimulación.

#### ***Nutrición***

El nivel nutricional influye en todo el periodo comprendido entre el nacimiento y la pubertad, pero la mayor influencia ocurre en la etapa pos-destete del animal (Rovira, 1973). Algunos autores postulan que el estado nutricional afectaría la pulsatilidad de la LH en vaquillonas en desarrollo (Schillo, 1992). Fitzgerald (1982) determinó que la secreción de gonadotrofinas y concretamente la secreción pulsátil de LH durante el período pre-púber, se ve afectada por el nivel nutricional, incrementándose en los animales alimentados con altos planos con

respecto a los de alimentación restringida. En consecuencia, la primera ovulación se retrasa por el efecto inhibitorio sobre la descarga de gonadotrofinas, hecho que se traduce en un atraso de la pubertad. En forma similar, Imakawa et al. (1987) y Wiltbank et al. (2002) determinaron que la restricción nutricional potencia el mecanismo inhibitorio de los estrógenos (retroalimentación negativa prepuberal), con la consecuente disminución de la liberación de GnRH por el hipotálamo y el posterior descenso de la frecuencia de secreción de gonadotrofinas (particularmente LH), lo que lleva a la ausencia de estimulación ovárica y en definitiva a un retraso en alcanzar la pubertad.

Por su parte, Diskin et al. (2003) plantean que las restricciones alimentarias y los balances energéticos negativos disminuyen las concentraciones de insulina en la circulación, y esta, entre otras funciones, es una señal metabólica que influye en la secreción de LH desde la hipófisis y regula la sensibilidad del ovario a las gonadotrofinas. Se reportaron otros mediadores endócrinos relacionados al eje reproductivo, entre ellos el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1; Hafez, 1999). Se observó una disminución lineal de la concentración plasmática del IGF-1 a partir del comienzo de la restricción alimenticia hasta el anestro (Bossis et al., 2000 citado por Quintans y Roig, 2008). La leptina, hormona sintetizada y secretada por el tejido adiposo, también estaría involucrada en este proceso, siendo su concentración predictor del estatus nutricional (Blache et al., 2006 citado por Quintans y Roig, 2008).

### ***Nutrición previa y posterior al destete***

La ganancia diaria de peso entre el nacimiento y el destete se encuentra relacionada en forma negativa con la edad a la pubertad, es decir que a mayor ganancia diaria de peso, menor edad al primer celo y ovulación. En cambio la correlación entre el peso al destete y el peso a la pubertad es positiva, lo que significa que a mayor peso al destete el peso a la pubertad será mayor (Wiltbank et al., 1966, 1969). La gran mayoría de la información disponible relacionada con la influencia del nivel nutritivo sobre la edad y el peso vivo a la pubertad se refiere al periodo posterior al destete, fundamentalmente durante el primer invierno de vida del animal (Turman et al., 1963, Wiltbank, 1966, Wiltbank et al., 1969, Bellows, 1967, Short y Bellows, 1971). Las vaquillonas que presentaron altas tasas de ganancias pos-destete (0,680 kg/d), alcanzaron antes la pubertad que aquellas que tuvieron tasas de ganancias medias (0,450 kg/d) y bajas (0,230 kg/d). En cuanto al peso vivo, las de nivel alto llegaron a la pubertad con un mayor peso (259 kg), comparadas con las de medio (248 kg) y bajo (238 kg) nivel nutritivo pos-destete (Short y Bellows, 1971). Por lo tanto, a mejor nivel nutritivo pos-destete las hembras alcanzarían la pubertad con una menor edad y un mayor peso vivo. A nivel nacional, Strauman et al. (2003) evaluaron el efecto de diferentes tasas de ganancias de peso invernales sobre el peso y edad a la pubertad, en terneras cruzas Hereford y Aberdeen Angus. El manejo invernal diferencial permitió que las vaquillonas ganaran, mantuvieran ó perdieron peso vivo, durante 92 días. Posteriormente, todas las hembras fueron manejadas en forma conjunta durante 162 días en un campo con mejoramiento hasta finalizar el experimento, con el objetivo que realizaran altas tasas de ganancias de peso vivo. La proporción de animales que alcanzaron la pubertad al finalizar el experimento fue diferente según el tratamiento nutricional aplicado durante el

invierno: el 100% de los animales que ganaron peso alcanzaron la pubertad, a diferencia de los que mantuvieron peso y perdieron peso que lo hicieron un 41,7% y un 9% respectivamente. A su vez, las terneras que tuvieron mayores ganancias invernales alcanzaron la pubertad con mayor peso y menor edad en relación a las que mantuvieron y perdieron peso. En forma similar, Barreto et al. (2005), también determinaron que la tasa de ganancia de peso invernal fue el factor más importante en determinar el porcentaje de animales que alcanzó la pubertad. Por lo tanto, para entores anticipados la distribución de las tasas de ganancia de peso deben ser consideradas y dentro de este marco, la tasa de ganancia de peso invernal parecería ser un factor determinante para alcanzar una adecuada eficiencia reproductiva.

### **Factores genéticos**

Con respecto al biotipo, se ha observado que las vaquillonas *Bos taurus* son más precoces que las vaquillonas *Bos indicus* (Gregory et al., 1979; Rodríguez et al., 2002). A su vez, las razas de origen británico (Hereford, Aberdeen Angus) y sus cruza son más precoces que las razas europeas (Shorthorn, Simmental, Limousine) (Gregory et al., 1979). También se han detectado diferencias en las cruza respecto a las razas parenterales debidas a la existencia de vigor híbrido. El vigor híbrido o heterosis resulta de la diferencia entre la producción promedio de la descendencia cruza y el promedio de producción de ambas razas parenterales.

Wiltbank et al. (1966) observó que en un plano nutricional bajo las vaquillonas cruza alcanzaron la pubertad 41 días antes que las puras, mientras que la diferencia fue de 35 días con las alimentadas con un plano nutritivo alto. Ésto demuestra que a iguales niveles nutritivos las cruza fueron más jóvenes y algo más livianas al alcanzar la pubertad.

### **Factores sociales**

Los factores sociales, entre ellos la bioestimulación o efecto toro o macho, ha sido identificada como otro de los factores que influyen en el comienzo de la actividad reproductiva. El efecto macho es conocido desde hace años en roedores (Whitten, 1956 citado por Ungerfeld, 2002), y ha sido extensamente estudiado en ovinos (ver revisión: Martin et al., 1986), existiendo también información en caprinos y suinos. Los antecedentes de su uso para adelantar la pubertad en vaquillonas de carne son muy escasos. Sin embargo, su efecto para disminuir el anestro posparto en vacas de cría ha sido bien documentado tanto a nivel internacional (Zalesky et al., 1984; Alberio et al, 1987; Berardinelli y Joshi, 2005) como nacional (Miller y Ungerfeld, 2008).

## BIOESTIMULACIÓN

Según Chenoweth (1983) la bioestimulación, efecto macho o toro, se define como el estímulo provocado por la presencia de los machos, induciendo el estro y la ovulación mediante estímulos genitales, feromonas u otras señales externas (táctiles, visuales, auditivas u olfatorias). En animales domésticos de importancia económica, el efecto de la bioestimulación es más evidente en ovinos, caprinos y suinos donde las técnicas de manejo son usualmente empleadas para explotar este fenómeno. (Chenoweth, 1983). El efecto macho en ovinos es un manejo basado en la introducción de carneros a un grupo de ovejas que previamente permanecieron aisladas un tiempo determinado de todo contacto con machos. La introducción de éstos induce una serie de cambios neuro-endócrinos que concluyen en celo, ovulación y concepción. La respuesta de las ovejas se caracteriza por un incremento en la pulsatilidad de LH y una reversión de la retroalimentación negativa del estradiol sobre el eje hipotálamo-hipofisario (Martin et al., 1996, citado por Ungerfeld, 2002). El incremento en las concentraciones de LH se puede observar ya a los 10 min de introducidos los carneros; unos 30 min luego ocurre la ovulación, la que en general no es acompañada de celo y puede encontrarse asociada o no a un CL de corta duración (Ungerfeld, 2002).

Según Knigth y Lynch (1980, citado por Ungerfeld, 2002) el estímulo provocado por los machos se produciría principalmente a través de feromonas andrógeno dependientes secretadas por las glándulas sebáceas y sudoríparas. Sin embargo, no es posible considerar al efecto macho como el resultado exclusivo de la comunicación química (feromonas), ya que la respuesta está afectada por otros factores. Durante mucho tiempo se pensó que el efecto macho respondía de manera exclusiva a estímulos feromonales, sin embargo hoy en día se ha probado la participación de otros sentidos en forma igualmente importante. La mayoría de los trabajos se han centrado en la comunicación feromonal; las feromonas son sustancias químicas volátiles liberadas en la orina o en las heces de los animales, o secretadas por las glándulas cutáneas al ambiente, y que van a ser percibidas a través del olfato provocando tanto respuestas comportamentales como endócrinas. En los mamíferos existen dos vías neurales independientes que perciben diferentes señales químicas; el sistema olfatorio principal percibe los olores, y el sistema olfativo accesorio, a través del órgano vomeronasal (OVN), percibe las feromonas (Dulac, 1997 citado por Ungerfeld, 2002). Las feromonas son percibidas por un epitelio-quimiosensorial (epitelio vomeronasal) el cual está constituido por neuronas especializadas que envían sus axones directamente a centros del hipotálamo involucrados en el comportamiento reproductivo. Estas van a proveer de información sobre el sexo, la dominancia, o el estatus social y sexual del individuo que la secreta (Dulac 1997, citado por Ungerfeld, 2002).

Contrario a esto, se ha observado que ovejas con bulbectomía olfatoria, la introducción del macho provoca una respuesta similar en magnitud a la presentada en las hembras intactas (Cohen 1986, citado por Ramírez 2001), sugiriendo la existencia de otros estímulos diferentes al olfato como serían los

auditivos, táctiles y visuales. Similar a esto último, otros trabajos también demostraron que la exposición olfativa a la lana del carnero logra una respuesta superior a la observada en las hembras que no fueron expuestas (Knight 1980, 1983, citado por Ramírez 2001) pero siempre menor a la encontrada en las hembras en contacto con el macho. Por lo tanto, la estimulación feromonal sería una de las vías de estimulación pero no la única ni la más importante y otros estímulos como los visuales, táctiles y auditivos también estarían involucrados.

En bovinos, hasta el momento no se ha podido determinar cuáles son los mecanismos fisiológicos y endócrinos involucrados en la respuesta a la bioestimulación. En forma similar a lo que se observa en pequeños rumiantes, una posible explicación hormonal al efecto bioestimulador de los machos sería la alteración de la concentración y pulsatilidad de LH. Sin embargo, en el trabajo realizado por Custer et al. (1990), no se encontró efecto de la exposición de vacas primíparas durante el posparto a toros sobre las concentraciones de LH comparado con el grupo testigo (aislado de machos). En contrapartida, Fernández et al. (1996), extrajeron sangre de vacas primíparas por un periodo de 6 h cada 15 min y cada 3 días para medir las concentraciones de LH luego de 30 días de paridas hasta el día 48. Los autores encontraron un incremento en la concentración y pulsatilidad de LH en las vacas primíparas expuestas a los toros con respecto a las vacas primíparas no expuestas. Una interpretación de estos resultados podría ser que luego de la introducción de los toros, estos inducen un tipo de señal que estimula la secreción de GnRH del hipotálamo y la consiguiente secreción de LH de la hipófisis. La naturaleza de la(s) señal(es) no es conocida en bovinos pero puede estar relacionada a feromonas o a otro tipo de señales (auditivas, táctiles, olfativas y/o visuales).

A nivel nacional, Fiol et al. (2010b, 2012) caracterizaron la respuesta endocrina y ovárica durante los primeros 30 días de exposición, en vaquillonas en anestro expuestas a novillos androgenizados durante 80 días. Las vaquillonas expuestas presentaron un incremento del diámetro folicular en los días 15 y 25 del periodo de exposición, en comparación a las hembras que se mantuvieron aisladas de los machos. A su vez, en las vaquillonas bioestimuladas hubo un incremento en la concentración media y basal de LH en el día 10 del periodo de exposición a los machos. Esto podría indicar que un componente del estímulo de los machos involucraría el estímulo al desarrollo folicular a partir de un incremento de los niveles de LH circulantes.

### **Factores que influyen en la respuesta a la bioestimulación**

Varios factores podrían influir en la respuesta a la bioestimulación: algunos propios de las hembras (raza, edad y peso vivo al momento del estímulo), y otros vinculados al estímulo (tipo de animales bioestimuladores, tipo de contacto, proporción machos: hembras, duración de la exposición o tiempo de contacto).

#### ***Raza, edad y categoría***

La bioestimulación permite adelantar la pubertad en vaquillonas pre púberes, tanto *Bos taurus* (Roberson et al., 1991; Assis et al., 2000; Fiol et al., 2010a) como *Bos indicus* (Rekwot et al., 2000; Oliveira et al., 2009). La edad o categoría



es otro de los factores que influyen en la respuesta a la bioestimulación, en referencia a esto se ha estudiado el efecto de la bioestimulación tanto en vaquillonas prepuberales para disminuir la edad de pubertad como en vacas primíparas y múltiparas para disminuir el anestro posparto (APP) y aumentar las tasas de preñez. El APP es un periodo de transición en el cual el eje hipotálamo-hipofisario-ovárico-uterino se recupera de la preñez previa y es un evento fisiológico normal luego del parto. Las vacas primíparas presentan un intervalo del parto al celo entre 15 a 25 días más largo que en vacas múltiparas (Wiltbank et al. 1970; Short et al., 1990). Esto es debido principalmente a que las vacas primíparas que aún están creciendo luego de su primer parto, se le suma la demanda extra que supone la lactancia (Sawyer y Carrick, 1984, citado por Gifford et al, 1989). En un trabajo realizado por Gifford et al. (1989) se comparó el efecto de la bioestimulación en vacas primíparas y múltiparas, exponiéndolas a toros vasectomizados desde el día 55 al 85 posparto ó desde el día 3 al 120 posparto. Se logró disminuir el APP en las vacas primíparas, pero no en las múltiparas. Otros trabajos, como los realizados por Custer et al. (1990), Cupp et al. (1993), Fernández et al. (1993) y Fike et al. (1996), obtuvieron una reducción entre 8 y 16 días en el intervalo parto-primer celo al exponer vacas primíparas a toros luego del parto, con respecto al control. Por otra parte, Fernández et al. (1993) demostraron que esta herramienta de manejo incrementó el porcentaje de preñez al primer servicio en esta categoría. A su vez, varios autores han encontrado concordancia en que la duración del APP en vacas múltiparas disminuye cuando son expuestas a machos durante el periodo posterior al parto (Zalesky et al., 1984; Alberio et al., 1987; Burns y Spitzer et al., 1992; Rekwot et al., 2000), pero otros informaron resultados neutros para esta variable (Gifford et al., 1989; Fike et al., 1996). En resumen, de acuerdo a la información disponible, el efecto toro mejoraría la actividad reproductiva en vacas de primera cría, pero en vacas múltiparas los resultados son más variables.

### ***Estado nutricional al momento del estímulo***

La nutrición es otro de los factores propios de la hembra, que influyen en la respuesta de ésta a la bioestimulación. En vacas posparto, la duración del APP está determinada principalmente por el amamantamiento y el estatus nutricional, siendo la categoría más afectada la vaca de primera cría (Randal, 1990 citado por De Castro, 2002). La bioestimulación es una herramienta económica a utilizar para disminuir este periodo, y la respuesta a dicho manejo ha demostrado estar relacionada a la condición corporal (CC) del animal al momento de la bioestimulación. Madrigal et al. (2001) observaron que no había diferencias en cuanto a la duración del APP en vacas con CC alta con y sin toro, a diferencia de las vacas con CC baja con y sin toro donde sí encontraron una diferencia significativa en la duración del APP. En las vacas expuestas y con CC baja, la duración del APP fue más corto que en las vacas aisladas con CC baja. Por su parte, Stumpf et al. (1992) también encontraron una interacción entre la presencia del toro y la CC al parto: las vacas que presentaban una CC más baja eran más influenciadas por la bioestimulación que las que presentaban una CC más alta, en relación al intervalo parto-inicio de la actividad cíclica. Finalmente, Monje et al. (1992) encontraron una relación positiva entre el nivel nutricional de las vacas y la respuesta a la bioestimulación con machos durante 80 días: la presencia de los toros acortó el periodo parto-reinicio de la actividad cíclica sólo

en vacas que ganaban peso pero no en aquellas que perdían peso vivo. De estos trabajos se podría concluir que durante el periodo de APP, para que exista una respuesta positiva a la bioestimulación, las vacas deberían presentar una CC moderada. En caso de vacas con muy buena CC al parto, las mismas presentarán un APP corto independientemente de si son expuestas o no a toros. En cambio, vacas con CC muy baja al parto reiniciarán la actividad cíclica más tarde debido al bajo estatus nutricional, por lo que en estas no habría respuesta a la bioestimulación.

En la misma dirección, pero en trabajos que evaluaron el efecto del estatus nutricional en vaquillonas, también se encontró una interacción entre la nutrición y la respuesta a la bioestimulación. Roberson et al. (1991) observaron que vaquillonas expuestas a toros y con tasas de crecimiento altas (0,8 kg/día) alcanzaron antes la pubertad que aquellas expuestas pero con tasas de crecimiento moderado (0,6 kg/día). Por su parte, Quadros y Lobato (2004) utilizando vaquillonas cruza Hereford x Nelore de 24,5 meses, expuestas ó aisladas de toros durante 50 días previos a la inseminación artificial (IA), determinaron que la respuesta de las vaquillonas frente al estímulo de la presencia del macho depende de la edad y la condición corporal. Si bien las vaquillonas expuestas presentaron menores ganancias diarias de peso durante el periodo de bioestimulación, al iniciar la IA el 76% de estas vaquillonas ya estaba ciclando, en tanto solamente el 56% de las hembras aisladas lo estaba. A su vez, existió una mayor respuesta a la bioestimulación en el grupo de las vaquillonas más viejas (25,5 meses) en comparación con las más jóvenes (23,5 meses). En ese sentido, es probable que las vaquillonas más jóvenes, de menor condición corporal, presentaran un bloqueo en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, que no pudo ser superado por la bioestimulación. En forma similar, Ungerfeld (2009) trabajando con vaquillonas Hereford de 17 a 22 meses de edad, encontró que solo las vaquillonas de alto peso (310-360 kg) respondieron positivamente a la exposición a novillos androgenizados durante 15 días y tuvieron una mayor tasa de preñez que las vaquillonas expuestas pero con menores pesos corporales y que los grupos no expuestos a machos. Por su parte, Fiol et al. (2010a) utilizando vaquillonas prepúberes de 12 meses de edad, expuestas a novillos androgenizados por 35 días, observaron una respuesta positiva en el inicio de la ciclicidad a partir del día 21 en comparación con el grupo aislado de los machos (15,2% vs 3,1% de vaquillonas cíclicas, grupo expuesto y aislado, respectivamente). Al comparar los animales de acuerdo al peso vivo al inicio de la exposición, se observaron diferencias significativas únicamente en las hembras de mayores pesos corporales, sugiriendo la existencia de un peso mínimo de las vaquillonas necesario para lograr una respuesta positiva a la bioestimulación en el adelanto de la pubertad. En conclusión, la exposición a los machos interactúa con el peso corporal de las vaquillonas al momento de la introducción de los machos y las tasas de crecimiento de las vaquillonas durante el periodo de estimulación para modificar la edad de pubertad. Sin embargo, vaquillonas con bajos pesos corporales al inicio del periodo de exposición, no responderán a la bioestimulación a pesar de que presenten altas tasas de ganancias de peso posteriores. Por tanto, el peso vivo inicial que presentan las vaquillonas sería una limitante para obtener una respuesta positiva que no puede ser sobrepuesta por altas tasas de ganancia de peso (Fiol et al., 2010a).

### ***Características de los animales bioestimuladores***

Cupp et al. (1993) estudiaron si la edad de los toros influye sobre la respuesta a la bioestimulación, tanto en vacas primíparas como en multíparas, y no encontraron diferencias significativas al utilizar toros de un año y toros adultos sobre el intervalo parto-inicio de la actividad cíclica ovárica. Por lo tanto es de suponer que las señales ejercidas por toros de diferentes edades (visuales, táctiles, auditivas, olfatorias o por feromonas) son similares.

El efecto positivo de la bioestimulación se ha reportado tanto con la utilización de toros maduros (Rekwot et al., 2000; Miller y Ungerfeld, 2008, Berardinelli y Joshi, 2005), toros vasectomizados (Alberio et al., 1987), toros con desviación de pene (Custer et al., 1990; Quadros y Lobato, 2004), toros epididectomizados (Berardinelli y Joshi, 2007), novillos androgenizados (Ungerfeld, 2009; Fiol et al, 2010a) y vacas androgenizadas (Burns y Spitzer 1992). Desde el punto de vista económico para el productor, mantener toros estériles todo el año incrementa el costo de mantenimiento de los mismos, por lo que la utilización de novillos o vacas androgenizados es una alternativa posible para evitar dichos inconvenientes. En éste sentido, como ya fuera mencionado, a nivel nacional Ungerfeld (2009) y Fiol et al. (2010a) reportaron efectos positivos de la bioestimulación con novillos androgenizados, tanto en relación al incremento en las tasas de preñez como en el adelanto de la edad a la pubertad. Por su parte, Burns y Spitzer (1992) evaluaron el intervalo parto-primer celo en tres grupos de vacas multíparas las cuales fueron tratadas por un periodo de 60 días de la siguiente manera: bioestimuladas por toros, bioestimuladas por vacas androgenizadas, y grupo control, sin bioestimulación. No hubo diferencias en cuanto al intervalo parto-primer celo, porcentaje acumulativo de celos durante la IA ni en la fertilidad durante el periodo citado entre las vacas estimuladas con toros y las estimuladas con vacas androgenizadas, pero ambos diferían del grupo control. Independientemente del tipo de animal utilizado para la bioestimulación, no existen hasta el momento trabajos que hayan comparado los efectos de utilizar toros y novillos androgenizados.

### ***Tipo de contacto***

El tipo de contacto con el animal bioestimulador, es otro de los factores que influye en la respuesta a la bioestimulación, tanto en vacas en APP como en vaquillonas. Este tipo de contacto puede ser directo (donde mediarían el estímulo táctil, visual, olfativo, químico, auditivo) o indirecto (donde el estímulo táctil no estaría presente). A su vez, éste último puede ser realizado cerca por medio, mediante la exposición a orina de toro o a sus productos excretorios. En relación a la estimulación indirecta, Fike et al. (1996) reportaron que el contacto de vacas con toros a través de una cerca, reduce el intervalo de reinicio de la actividad cíclica en vacas primíparas pero no en multíparas. Por su parte, Berardinelli y Tauck (2007) utilizando vacas primíparas amamantando, expuestas directamente a toros, expuestas cerca por medio y no expuestas a toros, encontraron que la proporción de vacas que reanudaron la actividad cíclica durante el periodo de exposición fue mayor y más corto para las vacas

expuestas a toros mediante contacto directo que en los otros dos grupos. A su vez, la proporción de vacas cíclicas expuestas cerca por medio fue mayor en los días 14, 21 y 28 del periodo de exposición que el grupo no expuesto. Por tanto, esto significaría que la respuesta de las vacas a la bioestimulación por parte de los toros no depende solamente de las señales químicas sino que también las señales externas (táctiles, auditivas, visuales) son importantes. En contraposición, Shipka y Ellis (1998, 1999) reportaron que la exposición diaria de vacas posparto a machos a través de cercas a 6-8 metros de distancia, no tenía ningún efecto en la reanudación de la actividad cíclica, comparado con aquellas vacas que estuvieron en contacto directo con toros.

Por otra parte, Tauck y Berardinelli (2007) evaluaron tres formas diferentes de exposición a los toros: exposición directa a corta distancia, exposición cerca de por medio y la exposición continua a la orina de los toros, previo a la aplicación de un protocolo de sincronización del estro. Dichos autores encontraron una tendencia en el grupo de vacas expuestas continuamente a orina de toro en la proporción que exhibieron celo dentro de las 60 h posteriores a la PgF2 $\alpha$  (80%), en comparación con las vacas no expuestas (52,6%), sin diferencias entre los otros dos grupos. Este resultado podría indicar que los toros excretan una sustancia a través de la orina, de las heces, o de las glándulas cutáneas, que puede iniciar la cascada neuro-endócrina que se traduce en la reanudación de la función lútea. Tauck y Berardinelli (2005) exponiendo continuamente vacas primíparas lactantes a partir de los 40 días posparto a la orina de toro no encontraron efectos de la bioestimulación sobre la reanudación de la actividad cíclica, pero sí observaron incrementos de las tasas de preñez posteriores a un protocolo de sincronización de estros. Sin embargo, Tauck et al. (2006) al exponer vacas primíparas amamantando a orina de toros en forma continua (24 h/d por más de 60 días) a partir de los 40 días posparto no encontraron resultados positivos en cuanto a la disminución del intervalo de reinicio de la actividad cíclica. La discrepancia con los resultados anteriores puede estar relacionada con la manera en que las vacas fueron expuestas a la orina de los toros, es decir, la exposición continua a la orina de toros maduros puede no proporcionar la adecuada señal feromonal para alterar la ocurrencia de la reanudación de la actividad cíclica. La falta de respuesta en este trabajo no excluye la posibilidad de que en la orina de los toros se liberen feromonas sino que quizás esta no sea el principal medio de liberación de las mismas; por otro lado estos resultados estarían indicado que otro tipo de señales como las visuales, olfativas y táctiles también serían importantes. Berardinelli y Tauck (2005) expusieron vacas lactantes primerizas a productos excretorios de toros por 55 días previos a un protocolo de sincronización de estro que incluía GnRH, PGF2 $\alpha$  y posteriormente una IA. En dicho trabajo encontraron mayor proporción de vacas cíclicas al inicio del protocolo en el grupo bioestimulado, pero no existieron diferencias en las tasas de preñez. En la misma línea, Anderson et al. (2002) también obtuvieron resultados positivos al exponer vacas en APP a productos excretorios de toros por 35 días antes de la realización de un protocolo de IA. En ambos trabajos se demuestra que la orina no es la única sustancia implicada en la bioestimulación.

En síntesis, con respecto al tipo de exposición, la mayor parte de la información disponible ha sido realizada con vacas en APP, existiendo pocos trabajos en

vaquillonas prepúberes. Izard y Vandenberg (1982) publicaron que la administración oro-nasal de orina de toros resultó en un incremento en la proporción de animales que alcanzaron la pubertad durante un periodo de 2 meses (67% vs 32%). Sin embargo, no se han evaluado en esta categoría otras posibles vías de transmisión del estímulo (productos excretorios, cerca por medio).

### ***Duración de la exposición o tiempo de contacto***

La duración de la exposición o el tiempo en que las vacas o vaquillonas están expuestas al efecto de la bioestimulación, es otra variable que influye en la respuesta por parte de las mismas. Con la utilización de periodos cortos de estimulación se han observado mayormente resultados positivos (Alberio et al., 1987; Berardinelli y Tauck 2005; Fernández et al 1996; Ungerfeld, 2009), y pocos negativos (Macmillan et al., 1979). Si bien Macmillan et al. (1979) no lograron reducir la duración del APP, en vacas multíparas lactando expuestas a toros por 21 días, Alberio et al. (1987) exponiendo vacas lactantes a partir de los 58 días posparto a machos por 28 días, lograron una reducción en el intervalo parto-inicio de la actividad cíclica. Resultados similares obtuvieron Berardinelli y Tauck, (2005) al exponer vacas lactantes primerizas al efecto de la bioestimulación por toros durante 55 días antes de la realización de un protocolo de sincronización de celos, reportando mayor proporción de vacas cíclicas al inicio del protocolo. En un estudio reciente, Tauck et al. (2010) evaluaron la reanudación de la actividad ovárica posparto, exponiendo vaquillonas primíparas amamantando, por 0, 6 o 12 horas durante 45 días. Los intervalos de reanudación de la actividad ovárica fueron más cortos para las vacas expuestas por 6 y 12 h que para las no expuestas. A nivel nacional, Miller y Ungerfeld (2008) también obtuvieron resultados positivos en la disminución del anestro posparto en vacas amamantando, expuestas continuamente al mismo toro por 7 semanas o expuestas por 7 semanas a dos pares de toros los cuales se intercambiaban cada semana. Los intervalos de APP fueron más cortos para el grupo de vacas cuyos toros fueron intercambiados semanalmente. Esto último podría ser explicado por la estimulación novedosa que recibía el grupo de vacas en el que los toros se iban rotando semanalmente, resultando esto en una bioestimulación más fuerte. Por su parte, Fernández et al. (1993) evaluaron el momento más adecuado para lograr una respuesta positiva en el acortamiento del APP: desde el momento del parto, durante los primeros 30 días, o luego de transcurridos 30 días posparto. Independientemente del momento en que fueron introducidos los toros se logró disminuir en forma similar el intervalo posparto e incrementar el desempeño reproductivo de las vaquillonas. Por lo tanto, las vacas no necesitarían ser expuestas a toros inmediatamente después del parto o pueden ser expuestas a los 30 días después del mismo para conseguir el mismo nivel de respuesta.

En relación a la utilización de periodos largos de exposición para reducir el APP, Custer et al. (1990) también obtuvieron resultados positivos durante periodos largos de exposición (108 días), en vacas primíparas en lactación, donde lograron disminuir el intervalo de reinicio de la actividad ovárica posparto. Berardinelli y Joshi (2005) exponiendo vacas primíparas a toros por un periodo de 122 días comenzado el día 15, 35 y 55 posparto, obtuvieron resultados

positivos en los animales expuestos a los toros independientemente del día de inicio de la exposición. Sin embargo, las vacas que fueron expuestas a intervalos progresivamente más tardíos luego del parto, respondieron más rápidamente al efecto de la bioestimulación que aquellas que habían sido expuestas anteriormente en el periodo posparto. Estos resultados pueden ser explicados por el hecho de que los primeros días siguientes al parto la receptividad a la estimulación de los machos sea muy baja, porque la restauración del sistema neuroendócrino toma lugar de manera gradual a los 20-30 días luego del parto (Alberio, 1987). Por lo que este estudio al igual que el de Fernández et al. (1993) reafirman que no solo es importante el tiempo de contacto, sino que también el momento en que se introducen los toros es un factor crítico en la respuesta a la estimulación.

También se han encontrado resultados positivos con periodos cortos así como largos de exposición sobre el adelanto de la pubertad en vaquillonas, tanto en *Bos taurus* (Izard y Vandenberg, 1982; Roberson et al., 1991; Assis et al., 2000; Ungerfeld, 2009) como en *Bos indicus* (Rekwot et al., 2000; Soares et al., 2008). A nivel nacional, Ungerfeld (2009) y Fiol et al. (2010a) determinaron que la exposición a los machos por un periodo de 2 semanas y 35 días respectivamente, logró adelantar el inicio de la actividad cíclica en vaquillonas pre-púberes (Fiol et al., 2010a) y aumentar las tasas de preñez (Ungerfeld, 2009). En forma similar, Assis et al. (2000) y Quadros y Lobato (2004) reportaron efectos positivos sobre la proporción de vaquillonas cíclicas y las tasas de preñez luego de la exposición a machos por periodos de 50 y 75 días, respectivamente. Por su parte, Roberson et al. (1991) utilizando vaquillonas prepúberes de 12 meses de edad expuestas a toros epididectomizados por 70 días o aisladas de toros hasta los 14 meses de edad, encontraron que una mayor proporción de vaquillonas expuestas a machos alcanzaron la pubertad a los 12, 13 o 14 meses de edad. Sin embargo, Macmillan et al. (1979) no encontraron diferencia en la edad de pubertad entre vaquillonas expuestas y no expuestas a toros.

En relación a la estimulación por periodos largos, Rekwot et al. (2000) observaron una reducción de la edad a la pubertad en 3 meses al exponer vaquillonas Bunaji y Bunaji x Friesan a toros por 15 meses. En el mismo sentido, Olivera et al. (2009) al exponer vaquillonas pre-púberes Nelore a machos por 210 días lograron reducir la edad a la pubertad. Por otra parte, Roberson et al. (1987) utilizando vaquillonas pre-púberes de 287 días de edad, expuestas ó aisladas de toros por un periodo de 152 días, no encontraron diferencias en la proporción de vaquillonas que llegaron a la pubertad a los 11, 12, 13, 14, o 15 meses entre tratamientos (83 vs 88% de vaquillonas púberes expuestas y aisladas de machos, respectivamente, al finalizar el experimento). Se podría hipotetizar que la respuesta positiva a los toros podría no estar en función del tiempo de exposición, sino más bien en función de la intensidad del estímulo, o de la interacción entre ambos factores. En ese sentido, la relación macho-hembra (1/26) empleada en el experimento de Roberson et al. (1987) podría haber diluido el efecto de los machos, por lo que las vaquillonas expuestas no habrían recibido la exposición adecuada para lograr una respuesta positiva. Al igual que Roberson et al. (1987), Bastidas et al. (1997) no evidenciaron una

disminución en la edad a la pubertad al exponer vaquillonas Brahman pre-púberes a toros por un periodo de 238 días.

## **BIOESTIMULACIÓN Y RESPUESTA REPRODUCTIVA A UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS**

### **Utilización de la sincronización de celos y ovulaciones en bovinos**

La sincronización del ciclo estral en el ganado bovino es una herramienta muy importante para el manejo reproductivo, ya que facilita la realización de la inseminación artificial a celo detectado (IACD), la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) ó sin detección de celo, y la transferencia de embriones (Thatcher et al., 1996). La sincronización del estro implica la manipulación del ciclo estral o la inducción del estro para lograr que un alto porcentaje de animales presenten celo en un momento determinado, de forma de realizar posteriormente la IACD ó la IATF (Odde et al., 1990). Las principales limitantes para el empleo de la IA en el ganado manejado en condiciones pastoriles son las fallas en la detección de celo, la duración del APP, el manejo del ternero y la pubertad tardía. Para superar estas limitantes se han desarrollado los protocolos de inducción y sincronización de celo y ovulación que permiten inseminar un gran número de animales en un periodo relativamente corto y pre-establecido, haciendo más eficiente la IA (Alberio et al., 2003). Por lo tanto, los principales objetivos de la inducción y sincronización del estro y la ovulación incluyen: 1) facilitar la IA al reducirla a un periodo determinado, mejorando la eficiencia reproductiva (Nancarrow y Cox, 1976; Ryan et al., 1995), tanto en lo que respecta al control de enfermedades, como al mejoramiento genético (Macmillan et al., 1993; Cliff et al., 1995); 2) maximizar el número de hembras inseminadas al inicio del entore; y 3) reducir los periodos de detección de celo (Lehrer et al., 1992), aumentando la proporción de vacas en estro en un periodo determinado y permitiendo una detección de celos más precisa (Tjondronegro et al., 1987), especialmente si hay terneros amamantando y vacas en anestro (Odde, 1990).

Se habla de sincronización de celo y ovulación, cuando el tratamiento realizado a un grupo de animales que está ciclando normalmente produce la manifestación de ambos fenómenos en un corto periodo. Se habla de inducción de celos y ovulaciones, cuando los animales se encuentran en anestro y el tratamiento aplicado es capaz de corregir tal situación, induciendo los celos, por lo general, en forma muy sincronizada (Alberio et al., 2003).

Los protocolos de sincronización de celos (PSC) más utilizados en hembras cíclicas son aquellos que emplean  $\text{PGF2}\alpha$  y análogos de la GnRH en combinación con la  $\text{PGF2}\alpha$  (Alberio, 2003). La utilización de las prostaglandinas se basa en la capacidad de éstas para provocar la regresión funcional y morfológica del CL (Tubino et al., 2003). La  $\text{PGF2}\alpha$  y sus análogos son inefectivos en provocar la luteólisis en los primeros 5 días del ciclo estral, mientras que luego del día 16-18 del ciclo, la  $\text{PGF2}$  exógena no influye sobre el proceso de regresión luteal ya que el mismo se ha iniciado por el efecto de la  $\text{PGF2}\alpha$  endógena producida por el endometrio del útero al no existir un embrión que la inhiba (Kiracofe et al., 1985 citado por Blanquet, 2003). Cuando se induce la luteólisis con un tratamiento con  $\text{PGF2}\alpha$ , el estro se distribuye en un periodo

de 6 días (Seguin et al., 1987, citado por Colazo 2007). Esta variación se debe al estado de desarrollo folicular al momento del tratamiento (Kastelic et al., 1990). Cuando el folículo dominante se encuentra en la fase de crecimiento o estática temprana, los animales mostrarán celo a las 48-60 h del tratamiento y ovularán 28-30 h después. En cambio, si el folículo se encuentra en la fase de regresión, el folículo dominante de la próxima onda será el folículo ovulatorio, y en este caso los animales entrarán en celo entre los 5 y 7 días después del tratamiento. Las inseminaciones consecuentes de la aplicación de la PGF2 $\alpha$  se reparten a lo largo de varios días, ya que una vez producida la luteolisis, el celo no aparece hasta que exista un folículo preparado para ovular en alguno de los ovarios, y el tiempo necesario para que esto ocurra es variable según la fase del desarrollo de la onda folicular en que se encuentren los ovarios de cada animal inyectado; por lo tanto, para tener buenas tasas de preñez, es necesario detectar celo en los animales para realizar la IA a las 12 h (Cutaia et al., 2003).

### **Bioestimulación y respuesta reproductiva**

Como forma de mejorar la respuesta reproductiva (porcentaje de animales cíclicos, tasas de preñez y concepción) a los PSC, varios autores han estudiado la posibilidad de utilizar otras técnicas conjuntamente con la sincronización de celos. Dentro de estas técnicas, una de ellas es la bioestimulación. En esta línea de investigación, se han obtenido diferentes resultados luego de la exposición a los machos en forma previa o durante la implementación de un PSC, en relación al inicio de la ciclicidad y las tasas de concepción y preñez, en vacas durante el posparto y en vaquillonas.

Varios estudios reportaron un aumento de la tasa de preñez en vacas posparto expuestas continuamente a toros, a sus productos excretorios ó a orina de toros por 40 a 65 días previos a un PSC que incluía GnRH y PGF2 $\alpha$  (Anderson et al., 2002; Berardinelli y Tauck, 2005; Tauck et al., 2005). En un ensayo realizado por Tauck y Berardinelli (2007) se evaluaron tres formas diferentes de exposición a los toros: exposición directa por 35 días, exposición con cerca de por medio por 42 días, y la exposición continua a la orina de toros por 64 días previos a un PSC que incluyó un dispositivo interno de P4 exógena y PgF2 $\alpha$  al momento de la remoción del dispositivo (finalizando la exposición a los toros 3 días después de su administración). Ni el contacto físico directo ni el contacto con cerca de por medio alteraron la respuesta estral (intervalo al estro y proporción exhibiendo estro por 72 h) de las vacas luego de la PgF2 $\alpha$ . Sin embargo, mayor proporción de vacas expuestas continuamente a orina de toro tendieron a exhibir celo dentro de las 60 h posteriores a la PgF2 $\alpha$  (80 vs 52,6%, vacas expuestas y no expuestas a orina de toros, respectivamente; P < 0,05). Ésto estaría indicando un efecto bioestimulante de la exposición continua a la orina de toros en la respuesta estral en vacas primíparas sincronizadas en base a progestinas.

Por otra parte, la bioestimulación ha demostrado mejorar las tasas de concepción totales por IA, al realizarse una exposición continua a la orina de



toros ó mediante el contacto físico directo con toros, pero no se obtuvieron efectos positivos al realizarse la exposición a machos cerca de por medio (89,5 y 84,6% vs 57,7%, vacas expuestas a orina ó a toros vs vacas expuestas a toros cerca de por medio, respectivamente) (Tauck y Berardinelli, 2007). A partir de este trabajo, dichos autores plantearon la hipótesis de la existencia de dos feromonas distintas: una que actuaría sobre la actividad cíclica y otra sobre la fertilidad. Esto último concuerda con lo encontrado por Berardinelli y Joshi (2007) quienes reportaron que las tasas de concepción totales por IA mejoraron mediante la exposición de las vacas durante el posparto a la presencia física de los toros o de los productos de excreción de los mismos, antes y durante un PSC que incluía GnRH, PGF2 $\alpha$ , e IADC. Si bien en este ensayo las tasas de concepción para las vacas inseminadas 12 h después del estro no fueron diferentes entre vacas bioestimuladas y no bioestimuladas, la tasa de concepción total por IA para las vacas bioestimuladas fue mayor que para las vacas no-bioestimuladas, lo que pareció ser un reflejo directo de la diferencia en las tasas de concepción por IATF (57 y 36,4%, vacas bioestimuladas y no-bioestimuladas, respectivamente). En ese sentido, en dicho experimento existió una mayor proporción de vacas bioestimuladas ciclando antes del inicio del PSC, y debido a que las tasas de concepción por IA luego de un PSC basado en GnRH son mayores para las vacas ciclando que para las vacas anovulatorias (Geary et al., 1999; Thompson et al., 1999; Lemaster et al., 2001; citado por Berardinelli y Joshi 2007), es probable que dicha ventaja en el grupo expuesto fuera la determinante de las mayores tasas de concepción finales.

A diferencia de esto, otros autores no han encontrado efectos positivos sobre las tasas de concepción y preñez tanto en vacas en posparto (Berardinelli et al., 2001; Ungerfeld, 2010) como en vaquillonas (Ungerfeld, 2010). En el estudio realizado por Ungerfeld (2010) no se encontraron diferencias en las tasas de concepción entre vacas y vaquillonas expuestas y no expuestas a novillos androgenizados durante 20 días previos a la aplicación de un PSC e IATF basado en progesterona. Por otra parte, Berardinelli et al. (2001) informaron que la exposición a los toros por 60 días incrementó el porcentaje de vacas cíclicas al comienzo de un PSC basado en PGF2 $\alpha$  y GnRH, pero no encontraron diferencias en las tasas de preñez.

En las vaquillonas, tanto las tasas de preñez como de concepción y la actividad cíclica parecen ser mejoradas con la bioestimulación previa a un servicio natural (Ungerfeld, 2009), a la IACD (Soares et al., 2008; Roberson et al., 1991; Quadros y Lobato et al., 2004), ó IATF (Small et al., 2000). A nivel nacional, Ungerfeld (2009) obtuvo mayores tasas de preñez por servicio natural en vaquillonas de mayor peso vivo expuestas por 2 semanas a novillos androgenizados en relación a las no expuestas (22/36 vs 11/34, respectivamente). Como fuera discutido, la nutrición tiene un efecto decisivo en ésta categoría, y la mayor respuesta en las vaquillonas que presentaban mayores pesos iniciales reafirma la influencia del estado nutricional sobre la respuesta de las hembras. Soares et al. (2008) utilizando vaquillonas de raza Nelore y un método de IACD, encontraron que la tasa de preñez y concepción difería entre bioestimuladas y no bioestimuladas (62,5 y 25%, respectivamente). Resultados similares obtuvieron Quadros y Lobato (2004), utilizando vaquillonas cruza Hereford x Nelore de 24,5 meses, que reportaron mayor número de

hembras cíclicas al inicio del protocolo y mayores tasas de preñez finales (90 vs 73%, expuestas y aisladas de machos, respectivamente) en el grupo expuesto a machos durante 50 días previos a un PSC e IACD. Las respuestas difirieron dependiendo del momento: el porcentaje de ciclicidad aumentó en las vaquillonas en la segunda y tercera semana de exposición, en relación a las no expuestas. La exposición de vaquillonas de 14 meses de edad a machos, previo a un PSC basado en una doble aplicación de PGF2 y IATF, fue efectiva para lograr un aumento del 30% en las tasas de concepción en comparación con las no expuestas (Small et al., 2000). En contraposición, Assis et al. (2000) no encontraron un efecto beneficioso sobre la tasa de preñez en vaquillonas posterior a un método convencional de IA (89,1 y de 88,9% para las bioestimuladas y no bioestimuladas, respectivamente).

En síntesis, en la mayoría de los estudios la pre-estimulación con machos tanto en vaquillonas (Soares et al., 2008; Quadros y Lobato, 2004; Small et al., 2000) como en vacas durante el posparto (Anderson et al., 2002; Berardinelli y Tauck 2005; Tauck y Berardinelli 2007; Berardinelli et al., 2001, Berardinelli y Joshi 2007), logra incrementar la actividad cíclica y las tasas de preñez y concepción, tanto en forma previa a un entore natural, IACD o IATF.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Determinar si la respuesta de vaquillonas de dos años a una sincronización de celos e inseminación artificial es mejorada, en términos de porcentaje de celos y preñeces, con la pre-estimulación con novillos androgenizados (NA).

### **Objetivos específicos**

- Determinar si el porcentaje de vaquillonas cíclicas es mejorado con la pre-estimulación con NA durante 30 días, previo al inicio de un protocolo de sincronización de celos.
- Determinar si el porcentaje de concepción y preñez es mejorado con la pre-estimulación con NA durante 30 días, previo al inicio de un protocolo de sincronización de celos e inseminación artificial.

## HIPÓTESIS

- La exposición de vaquillonas a novillos androgenizados, por un periodo de 30 días previo a la implementación de un PSC basado en la aplicación de una doble dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  determina un incremento en el porcentaje de animales cíclicos al inicio del mismo y a los seis días luego de la segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$ .
- La exposición de vaquillonas a novillos androgenizados, por un periodo de 30 días previo a la implementación de un PSC basado en la aplicación de una doble dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  determina un incremento en las tasas de preñez y concepción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en un establecimiento comercial, ubicado en el Departamento de Rocha, durante los meses de octubre del 2008 y febrero del 2009. Se utilizaron 106 vaquillonas cruce Hereford x Charoláis y Hereford x Cebuinas de 22 meses de edad y  $282,5 \pm 25,6$  kg de peso vivo y 6 NA. El día -7 (Día 0 = inicio de la exposición a los machos) se realizó una ecografía a cada uno de los animales para determinar la presencia de cuerpo lúteo (CL) mediante la utilización de un equipo de ultrasonido Aloka 500 (Aloka, Tokio, Japón) equipado con un transductor lineal de 5,0 MHz. El Día 0 las vaquillonas fueron asignadas según su peso corporal y la presencia de CL, a uno de dos tratamientos: 1) expuestas a NA por 30 días (ENA; n = 53) y 2) no expuestas a novillos (NEN; n = 53). Durante el periodo de exposición ambos grupos estuvieron sobre pasturas naturales en dos potreros separados por una distancia mínima de 800 metros, minimizando de esta manera el contacto visual u olfativo entre ambos. El Día 15 y el Día 30 del período experimental las vaquillonas fueron pesadas y la presencia o ausencia de CL en los ovarios de NEN y ENA fue determinado por ecografía. Al Día 30 los NA fueron retirados y las vaquillonas pasaron a manejarse como un solo grupo y fueron sometidas a un PSC en base a análogos de la PGF2 $\alpha$ .

Para la bioestimulación se utilizaron 6 novillos, los cuales fueron androgenizados mediante la inyección de testosterona (500 mg, Testosterona Ultralenta, Dispert, Montevideo, Uruguay); la misma fue aplicada desde una semana antes del inicio de la exposición y luego fue repetida a intervalos semanales durante el periodo experimental. Los novillos fueron rotados a la mitad del periodo de exposición, manteniéndose una relación macho hembra de 1/25.

El PSC consistió en la administración de una doble dosis de un análogo de la PGF2 $\alpha$  (8 $\mu$ g Delprostenate, Glandinex, Lab Universal, Montevideo, Uruguay) aplicada con un intervalo de 11 días, comenzando el día 30. A las 48 h de la última dosis de PGF2 $\alpha$  las vaquillonas fueron observadas para verificar signos de comportamiento estral dos veces por día por 40 min por un periodo de 6 días. Las vaquillonas que se detectaron en celo fueron inseminadas artificialmente a las 12 h, para lo cual fue utilizado semen testeado congelado. Luego de finalizado el periodo de IA las vaquillonas permanecieron con 4 toros por 2 meses. Las tasas de concepción (número de vacas preñadas por IA / número de vacas inseminadas) y preñez (número de vacas preñadas / número total de vacas) fueron determinadas por ultrasonido 70 días luego de la IA.

### **a. Análisis estadístico**

La proporción de vaquillonas ENA y NEN que mostraron CL el día 15 y 30 y que exhibieron estro durante los 6 días posteriores a la última dosis de PGF2 $\alpha$ , y las tasas de concepción y preñez a los 70 días posteriores a la IA, se analizaron mediante chi-cuadrado. Por su parte, los pesos vivos de ENA y NEN al día 0, 15, 30 se analizaron con ANOVA para medidas repetidas, considerando como efectos fijos el tratamiento, el tiempo (día 0, 15 y 30) y la interacción entre ambos.

## RESULTADOS

La evolución del peso corporal durante el periodo experimental solo fue afectada por el tiempo ( $P < 0,01$ ). Tanto las vaquillonas ENA como las NEN mostraron un incremento del mismo; el Día 15 pesaban  $323,6 \pm 25,2$  kg y  $328,1 \pm 27,9$  kg, ENA y NEN, respectivamente; mientras que al final del periodo (Día 30), las ENA pesaban  $340,2 \pm 23,9$  kg y las NEN  $349,8 \pm 26,2$  kg.

Los resultados de la proporción de vaquillonas que presentaron CL al Día 15 y 30 se presentan en la Tabla 1. Como se puede observar, al Día 15 hubo una mayor proporción de vaquillonas ENA que presentaron CL en comparación con las vaquillonas NEN ( $P=0,02$ ). Sin embargo, al Día 30 la proporción de vaquillonas que presentaron CL no fue diferente entre las ENA y las NEN.

Tabla 1. Proporción de vaquillonas expuestas a novillos androgenizados (ENA) y no expuestas a novillos (NEN) que presentaron CL al Día 15 y 30 del periodo experimental.

Día	ENA (%)	NEN (%)	P
15	29/53(55)	17/53(32)	0,02
30	39/53(73,5)	38/53(72)	0,8

La proporción de vaquillonas ENA y NEN que presentaron estro dentro de los 6 días después de la segunda inyección de PGF2 $\alpha$  fue similar en ambos grupos (35/53 vs 36/53 para ENA y NEN, respectivamente. ( $P = 0,8$ ).

Del mismo modo, como se muestra en la Tabla 2, no se observaron diferencias en las tasas de concepción y en las tasas de preñez entre ENA y NEN.

Tabla 2. Tasas de concepción y preñez en vaquillonas expuestas a novillos androgenizados (ENA) y no expuestas a novillos (NEN) durante 30 días previos a la implementación de un protocolo de sincronización de celo (PSC) basado en la administración de una doble dosis de PGF2 $\alpha$  aplicada con un intervalo de 11 días de diferencia e inseminación artificial (IA) mas repaso con toros por 60 días.

	ENA (%)	NEN (%)	P
Tasa de concepción	29/35(83)	33/36 (92)	0,3
Tasa de preñez	43/52(83)	45/52 (86,5)	0,6

## DISCUSIÓN

La exposición de vaquillonas de carne cruce Hereford de 22 meses de edad a NA por un periodo de 30 días previos a un PSC provocó un incremento en la proporción de vaquillonas con cuerpo lúteo únicamente al día 15 del experimento. Coincidiendo con este resultado, Quadros y Lobato (2004) utilizando vaquillonas cruces de similar edad y exponiendo las mismas a machos por 50 días previo a una IACD, lograron un incremento en el porcentaje de vaquillonas cíclicas en el grupo expuesto a los machos que se evidenció ya a la segunda semana de exposición. Sin embargo, en dicho experimento la diferencia se mantuvo a lo largo de todo el periodo de exposición (76 vs 56% de vaquillonas cíclicas previo a iniciar IACD), mientras que en el presente experimento solo fue observada en las primeras dos semanas, no habiendo diferencias en cuanto a la proporción de hembras cíclicas al día 30. La ausencia de diferencias en la proporción de hembras cíclicas al final del período de exposición en el presente experimento podría ser explicada porque las vaquillonas utilizadas ya habían alcanzado la pubertad pero entraron en anestro nutricional, presentando un bloqueo de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis gonadal. Es posible especular que las vaquillonas comenzaron a salir del mismo a comienzos del experimento y por lo tanto iban a mostrar actividad cíclica fueran o no bioestimuladas. En ese sentido, las vaquillonas expuestas a los novillos tuvieron un estímulo extra que les permitió salir más rápido del anestro, lo cual hizo que una mayor proporción de animales bioestimulados presentaran actividad cíclica en las primeras dos semanas de la exposición. Por otro lado, en el presente experimento las vaquillonas fueron ganando peso a lo largo de todo el ensayo, lo que seguramente influyó en que los animales empezaran a ciclar sin diferencias entre ambos tratamientos. Otros autores como Small et al. (2000) y Fiol et al. (2010a) también encontraron que una mayor proporción de vaquillonas expuestas iniciaron su actividad cíclica, respecto a las que permanecieron aisladas. En el presente trabajo, como en los realizados por Fiol et al. (2010a) y Ungerfeld (2009), en el cual las vaquillonas estuvieron expuestas por 35 y 15 días respectivamente, se puede comprobar que no son necesarios largos periodos de estimulación para lograr cambios en la fisiología reproductiva de las vaquillonas.

En lo que respecta a la proporción de vaquillonas que manifestaron celo luego de la segunda aplicación de PGF2 $\alpha$ , la misma no fue diferente entre ambos tratamientos. Esto último coincide con estudios anteriores, en donde la bioestimulación previa a la aplicación de un PSC (Anderson et al., 2002; Berardinelli y Tauck 2005; Berardinelli y Joshi 2007; Tauck et al., 2007) o antes de IACD (Assis et al., 2000) no parecen influir en la respuesta del estro en las vaquillonas.

Las tasas de concepción y de preñez resultaron sin diferencias entre ambos grupos. Similares resultados fueron reportados en vaquillonas por Assis et al. (2002) donde las tasas de preñez fueron de 89,1 y de 88,9% para bioestimuladas y no bioestimuladas, respectivamente, y en vacas por Ungerfeld (2010) y Berardinelli et al. (2001). Quadros y Lobato (2004), a diferencia de esto,

encontraron que los animales expuestos presentaron una mayor tasa de preñez final (90 vs 73%, vaquillonas bioestimuladas y aisladas de machos, respectivamente), lo que coincidió con resultados de otros trabajos (Soares et al., 2008; Small et al., 2000). Las diferencias con el presente estudio podrían ser atribuidas a que la mayor proporción de animales cíclicos bioestimulados se mantuvo a lo largo de todo el experimento, lo que determinó que mayor cantidad de dichas hembras estuviera ciclando al inicio del PSC, por lo que es de esperar que exista una mejor respuesta al PSC (Anderson et al., 2002). Por lo tanto, a diferencia del presente experimento, la mayor proporción de animales ciclando en las hembras expuestas a los machos al inicio del PSC, habría determinado un incremento de las tasas de preñez y concepción en los animales bioestimulados.



## CONCLUSIONES

La exposición de vaquillonas en anestro a novillos androgenizados determinó una mayor proporción de vaquillonas ENA que presentaron CL al Día 15 en comparación con las vaquillonas NEN. Sin embargo, en las condiciones del presente experimento la bioestimulación de vaquillonas con novillos androgenizados por un período de 30 días previo a de un PSC no tuvo efectos positivos sobre la proporción de vaquillonas cíclicas al inicio del PSC ni tampoco a los seis días de la segunda dosis de PGF2 $\alpha$ . A su vez, ni las tasas de preñez ni de concepción fueron mejoradas por el efecto bioestimuladorio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H., Ginther, O.J. (1992). Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fert* 94:177-188.
2. Adams, G.P., Evans, A.C.O., Rawlings, NC. (1994). Follicular waves and circulating gonadotropins in 8-month-old prepubertal heifers. *J Reprod Fert* 100:27-33.
3. Alberio, R.H., Schiersmann, G., Carou, N., Mestre, J. (1987). Effect of teaser bull on ovarian and behavioural activity of suckling beef cows. *Anim Reprod Sci* 14: 263-272.
4. Alberio, R.H. (2003). Nuevas Biotecnologías Reproductivas. Aspectos Biológicos y Económicos. Dpto. de producción animal INTA Balcarce.1-28p
5. Anderson, K.A., Berardinelli, J.G., Joshi, P.S., Robinson, B. (2002). Effects of exposure to bull or excretory products of bull on the breeding performance of first-calf restricted suckled beef cows using a modified Co-Synch protocol. *Proc West Soc Amer Soc Anim Sci* 53: 457-460.
6. Andrade, V.J. (1999). Manejo reproductivo de fêmeas bovinas de corte. Simposio de Producto de Gado de Corte. Viçosa: UFV 85-135.
7. Anuario estadístico Agropecuario. (2011). Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca DIEA.Montevideo, Uruguay. Disponible en: [www.mgap.gub.uy](http://www.mgap.gub.uy)
8. Araujo, A.G. (2004). Pubertad en la hembra bovina. Disponible en: [http://www.produccion\\_bovina.com.ar](http://www.produccion_bovina.com.ar) Fecha de consulta 21/02/2012.
9. Arthur, G.H., Noakes, D.E.; Pearson, H. (1991). Ciclo estral y su control. En: Arthur, G.H. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ª ed. Interam McGraw-Hill, pp. 3-49.
10. Assis, R.R., Pimentel, M.A., Jardim P.O., Osório J.C., Machado, J.P. (2000). Influencia da bioestimulacao com machos vasectomizados na eficiencia reproductiva de novilhas Aberdeen Angus. *Rev. Bras. Agrociencia*. 6: 226-231.
11. Bastidas, P., Ruiz, J., Manzo, M., Silva, O., Guerrero, N., Troconiz, J. (1997). Effect of bull exposure on corpus luteum function and ovarian activity in prepuberal Brahman heifers. *Arch Lati Prod Anim* 5 (1): 39-392.
12. Bellows, R.A., Thomas, O.O., Riley, T.M., Gibson, R.B., Kiefer, N.M., Urick, J.J., Pahnish, O.F. (1967). Feed effects on puberty in beef heifers. *J Anim Sci* 24:588.
13. Berardinelli, J.G., Anderson, K., Robinson, B., Adair, R. (2001). Effect of presence of bulls and restricted suckling on breeding performance of first-calf

suckled beef cows using the Ovsynch protocol. Proc, West Sec, Amer Soc Anim Sci 52p.

14. Berardinelli, J.G., Joshi, P.S. (2005). Introduction of bulls at different days postpartum on resumption of ovarian cycling activity in primiparous beef cows. J. Anim. Sci. 83: 2106-2110.
15. Berardinelli, J.G., Tauck, S.A. (2005). Use of Bull exposure in a gonadotropin-releasing hormone-based estrus synchronization protocol that included fixed-time artificial insemination in first-calf suckled beef cows. Proc. From Nutrition Conference, Montana State University.6p.
16. Berardinelli, J.G., Joshi, P.S., Tauck, S.A. (2007). Conception rates to artificial insemination in primiparous, suckled cows exposed to the biostimulatory effect of bulls before and during a gonadotropin-releasing hormone-based estrus synchronization protocol. J. Anim. Sci. 85: 848-852.
17. Berardinelli, J.G., Tauk, S.A. (2007). Intensity of the biostimulatory effect of bulls on resumption of ovulatory activity in primiparous, suckled beef cows. Anim Reprod Sci 99:24-33.
18. Barreto, S., Negrín, D., Ayala, W., Quintans, G. (2005). Efecto del manejo nutricional en el primer invierno y el biotipo sobre la aparición de la pubertad en terneras de raza carnicera (segundo año de evaluación). Seminario de Actualización Técnica: Cría Vacuna; Serie Técnica 174, INIA Treinta y Tres julio 2008, pp 64-69.
19. Blanquet Rodriguez, JB. (2003). Métodos de uso de la PGF2 $\alpha$  para sincronizar celos y ovulaciones en bovinos para carne: una discusión crítica. Rev Agrociencia 7: 92-104.
20. Bo, G.A. (2002). La función ovárica en las terneras prepúberes y peripúberes. Disponible en: [www.produccionbovina.com.ar](http://www.produccionbovina.com.ar) Fecha de consulta: 24/4/2010
21. Bo, G.A., Martinez, M., Nascier, L.F., Caccia, M., Tribulo, H., Mapletoft, R.J. (1993). Follicular dynamics in *Bos indicus* and *Bos Taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. Proc. 10 th Congreso Brasileiro de Reproduccion Animal 2: 221 abstract.
22. Burns, P.D., Spitzer, J.C. (1992). Influence of biostimulation on reproduction in postpartum beef cows. J Anim Sci 70: 358-362.
23. Chenoweth, P.J. (1983). Reproductive management procedures in control of breeding. Anim Prod Austr 15: 28-31.
24. Cliff, S.C., Morris, G.R., Hook, I.S., Macmillan, K.L. (1995). Calving patterns in dairy heifers following single set-time insemination and re-synchrony preceding second insemination. Proc NZ. Soc Anim Prod 55:70-71.

25. Colazo, M.G., Mampleroft, R.J., Martinez, M.F., Kastelic, J.P. (2007). El uso del tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Rev Ciencia Veterinaria* 9(1):4-7.
26. Costa, A.J., Moreira, R., Scarsi, M.A. (2007). Efecto del manejo nutricional en el primer invierno sobre la aparición de la pubertad en terneras de razas carniceras tercer año de evaluación. Tesis. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía 107p.
27. Cupp, A.S., Roberson, M.S., Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Werth, L.A., Kojima, N., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1993). Yearling bulls shorten the duration of postpartum anestrus in beef cows to the same extent as do mature bulls. *J Anim Sci* 71:306-309.
28. Custer, E.E., Berardinelli, J.G., Short, R.E., Wehrman, M., Adair, R. (1990). Postpartum interval to estrus and patterns of LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls. *J Anim Sci* 68:1370-1377.
29. Cutaia, L., Caccia, M., Bo, G. (2003). Dinámica folicular ovárica en el ganado bovino; implicancias prácticas en programas de sincronización de celos. Instituto de Reproducción Animal Cordoba (IRAC), Argentina.
30. Day, M.L., Imakawa, K., Garcia-Winder, M., Zalesky, D.D, Schanbacher, C.D., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1984). Endocrine Mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feed-back regulation of luteinizing hormone secretion. *Biol Reprod* 31:332-341.
31. Day, M.L., Imakawa, K., Zalesky, D.D., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1986). Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. *J Anim Sci* 62:1641-1648.
32. Day, M.L., Imakawa, K., Wolfe, P.L., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1987) Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamus-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biol Reprod* ;37:1054-1065.
33. De Castro, T., Ibarra, D., Valdez, L., Rodriguez, M., Lagos Garcia, F., Benquet, N., Rubianes, E. (2002). Medidas para acortar el anestro posparto en vacas de cria. *Premio Academia Nacional de Veterinaria*. 37p.
34. Diskin, M.G., Mackey, R.D., Roche, J.F. and Sreenan, J.M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 345-370.
35. Dodson, S.E., McLeod, B.J., Haresign, W., Peters, A.R., Lamming, G.E. (1989) Endocrine changes from birth to puberty in the heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 1989;82:527-538.

36. Evans, A.C.O., Adams, G.P., Rawlings, N.C (1994a). Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 100:187-194.
37. Evans, A.C.O., Adams, G.P., Rawlings, N.C. (1994b). Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *Journal of Reproduction and Fertility* 102:463-470.
38. Fike, K.E., Bergfeld, E.G., Cupp, A.S., Kojima, F.N., Mariscal, V., Sanchez, T.S., Wehrman, J.E., Kinder, J.E. (1996). Influence of fenceline bull exposure on duration of postpartum anestrous and pregnancy rate in beef cows. *Anim Reprod Sci* 41:161-167.
39. Faure, R. (1998). La pubertad en la hembra bovina. Centro nacional de sanidad agropecuaria, La Habana, Cuba 58p.
40. Fernandez, D., Berardinelli, J.G., Short, R.E., Adair, R. (1993). The time required for the presence of bulls to alter the interval from parturition to resumption of ovarian activity and reproductive performance in first-calf suckled beef cows. *Theriogenology* 39:411-419.
41. Fernandez, D., Berardinelli, J.G., Short, R.E., Adair, R. (1996). Acute and chronic changes in luteinizing hormone secretion and postpartum interval to estrus in first-calf suckled beef cows exposed continuously or intermittently to mature bulls. *J Anim Sci* 74:1098-1103.
42. Fiol, C., Quintans, G., Ungerfeld, R. (2010a). Response to bioestimulation in Peri-puberal beef heifers: influence of male-female proximity and heifers initial body weight. *Theriogenology* 74: 569-575.
43. Fiol, C., Curbelo, N., Larraz, G., Ungerfeld, R. (2010b). **Ovarian response in anestrous beef heifers exposed to androgenised steers.** *Reproduction in Domestic Ruminants VII.* Nottingham University Press.601p.
44. Fiol, C., Curbelo, N., Larraz, G., de Melo Menezez, L., Ungerfeld, R. (2012). Mean and basal LH concentrations increased in peri-puberal beef heifers during early exposure to androgenized steers. *J Anim Sci* 90 (Suppl. 3). pp. 236.
45. Fitzgerald, J., Michel, F. y Butter, W.R. (1982). Growth and sexual maturation in ewes. Dietary and seasonal effects modulating luteinizing hormone secretion and first ovulation. *Biol. Reprod.* 27: 864-870.
46. Gifford, D.R., D Occhio, M.J, Sharpe, P.H., Weatherly, T., Pittar, R.Y., Reeve, D.V. (1989). Return to cyclic ovarian activity following parturition in mature cows and first-calf beef heifers exposed to bulls. *A Reprod Sci* 19:209-216.
47. Ginther, O.J., Kastelic, J.P., Knopf, L. (1989.). Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *A Reprod Sci* 20:187-200.

48. Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction* 55:1187-1194.
49. Ginther, O.J., Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Donadeu, F.X., Kot, K. (2001). Follicle selection in monovular Species. *Biology of Reproduction* 65:638-647.
50. Gregory, K.E., Laster, D.B., Cundiff, L.V., Smith, G.M., Koch, R.M. (1979). Characterization of biological types of cattle-cycles III: II. Growth rate and puberty in females. *J. Anim. Sci.* 49: 461-471.
51. Hafez, E.S. (1999). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 6<sup>o</sup> ed. Mexico, McGraw-Hill Interamericana 542 p.
52. Imakawa, K., Day, M.L. and Zaleky, D.D. (1987). Effect of estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 64: 805-815.
53. Ireland, J.J. (1987). Control of follicular growth and development. *Journal of Reprod Fert (suppl 34)*:39-54.
54. Izzard, M.K., Vandenberg, J.G. (1982). The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers. *J. Anim. Sci.* 55: 1160-1168.
55. Kastelic, J.P., Knopf, L., Ginther, O.J. (1990). Effect day of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  treatment on selection and development of ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci* 23:169-180.
56. Kinder, J.E., Day, M.L., Kittok, R.J. (1987). Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J Reprod Fert* 34: 167-186.
57. Kinder, J.E., Bergfeld, E.G; Weherman, M.E., Peters, K.E., Kojima, F.N. (1995). Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *Journal of Reproduction and Fertility ( Suppl 49)*:393-407.
58. Laster, D.B., Smith, G.M., Gregory, K.E. (1976). Characterization of biological types of cattle IV. Postweaning growth and puberty of heifers. *J. Anim. Sci.* 43: 63-70.
59. Leher, A.R., Ainzedbud, E., Lewis, G.S. (1992). Oestrus detection in cattle: recent developments. *Anim Reprod Sci* 28:355-362.
60. Lesmeister, J.L., Burfening, P.J., Blackwell, R.L. (1973). Date of first calving in beef cows and subsequent calf production. *J Anim Sci.* 36: 1-6.
61. Madrigal, M.A., Colin, J., Halford, D.M. (2001). Influencia de la condición corporal y la bioestimulación sobre la eficiencia reproductiva en vacas de raza Simmental en agostadero. *Vet Mex* 32(2):87-92.

62. MacMillan, K.L., Allison, A.J., Struthers, G.A. (1979). Some effects of running bulls with suckling cows or heifers during the pre-mating period. **New Zeal J. Exp. Agr.** 7: 121-124
63. Macmillan, K.L., Taufe, V.K., Day, A.M. (1993). Combination treatment for synchronising oestrus in dairy heifers. *Proc NZ. Soc Anim Prod* 53:267-270
64. Miller, V., Ungerfeld, R. (2008). Weekly bull exchange shortens postpartum anestrus in suckled beef cows. *Theriogenology* 69: 913-917.
65. Monje, A.R., Alberio, R., Schiersmann, G., Chedrese, J., Carou, N., Callejas, S.S. (1992). Male effect on the post-partum sexual activity of cows maintained on two nutritional levels. *Anim Reprod Sci* 29:145-156.
66. Moran, C., Quirke, J.F., Roche, J.F. (1989). Puberty in heifers: a review. *Anim Reprod Sci*, 18:167-182.
67. Nancarow, C.D., Cox, R.I. (1976). Oestrus synchronization in cattle. *Proceedings of a symposium. Sidney Australia ICI Ltd. Melbourne.*
68. Odde, K.G. (1990). A review synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci* 68:817-830.
69. Olivera, C.M.G., Olivera Filho, B.D., Gambarini, M.L., Viu, M.A.O., Lopes, D.T., Sousa, A.P.F. (2009). Effect of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. *Anim Reprod Sci* 113:38-43.
70. Pittaluga, O., Rovira, J. (1968). Influencia del nivel nutritivo predestete sobre el crecimiento y pubertad en terneras Hereford. *Bol.Téc. Fac Agr EEP* 5 (2): 68-78.
71. Quintans, G. (2002). Manejo de la recría vacuna en sistemas ganaderos. *Seminario de Actualización Técnica: Cría y recría ovina y vacuna. INIA Treinta y Tres, (Actividades de difusión N°. 288) 47-56p.*
72. Quintans, G., Barreto, S., Negrin, D., Ayala, W. (2007). Efecto del manejo nutricional en el primer invierno y el biotipo sobre la aparición de la pubertad en terneras de raza carnífera (Segundo año de evaluación). *Seminario de Actualización Técnica: Cría y recría ovina y vacuna. INIA Treinta y Tres, (Actividades de difusión N 288)64-68p.*
73. Quintans, G., Roig, G. (2008). Principales factores que afectan la aparición de la pubertad en vaquillonas de razas carníferas. *Seminario de Actualización Técnica: Cría Vacuna; Serie Técnica 174, INIA Treinta y Tres, pp. 56-58.*
74. Quadros, S.A.F., Lobato, J.F.P. (2004). Bioestimulation and reproductive performance of beef heifers. *Rev Bras Zoot* 33:679-683.

75. Rajakoski, E. (1960). The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference the seasonal cyclical and left-right variations. *Acta Endoc Copenhagen* 52(suplemento):7-68.
76. Ramírez, A.L., Quintero, L.A. (2001). Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet. Mex.* 32: 117-129
77. Rekwot, P.I., Ogwy, D., Oyedipe, E., Sekoni, V. (2000). Effects of bull exposure and body growth on onset of puberty in Bunajii and Friesian x Bunajii heifers. *Reprod. Nutr. Dev.* 40: 359-367.
78. Roberson, M.S., Wolfe, M.W., Stumpf, T.T., Werth, L.A., Cupp, A.S., Kojima, N., Wolfe, P.L., Kittok, P.J. (1991). Influence of growth rate and exposure to bulls on age at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 69: 2092-2098.
79. Roberson, M.S., Ansotegui, J.G., Berardinelli, J.G., Whitman, R.W., McInerney, M.J. (1987). Influence of biostimulation by mature bulls on occurrence of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 64: 1601-1065.
80. Robinson, T.J. (1977). Reproduction in cattle. En: *Reproduction in domestic animals*. H.H. Cole; P.T. Cupps eds. 3<sup>a</sup>. Ed. New York, Academic Press. 433-441p
81. Rodriguez, H.D., Kinder, J.E., Fitzpatrick, L.A. (2002). Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. *Biol. Reprod.* 66: 603-609.
82. Rovira, J. (1973). Reproducción y manejo de los rodeos de cría. Montevideo, Hemisferio Sur, 25-41p.
83. Rovira, J. (1996). Manejo nutritivo de los rodeos de cría en pastoreo. Montevideo, Hemisferio Sur, 105-127p.
84. Ryan, D.P., Snijdeeds, S., Yaakub, H., O Farrell, K.J. (1995). Effects of programmed recruitment and ovulation of a healthy follicle on oestrus detection and pregnancy rates in lactating dairy cows. *J Fertility* 15:23-30.
85. Savio, J.D., Keenan, L, Boland, M.P., Roche, J.F (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J Reprod Fert* 83:663-671.
86. Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N., Roche, J.F. (1990) Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* ; 88:569-579.
87. Schams, D., Schallenberg, E., Gombe, S., Karg, H. (1981). Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. *J Reprod and Fert (supl 30)*:103-110.



88. Schillo, K.K., Dierschke, D. J., Hauser, E. R. (1982). Influence of month of birth and age on patterns of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers. *Theriogenology* 18: 593-598.
89. Schillo, K.K., Hall, J.B., Hileman, S.M. (1992). Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *Journal of Animal Science* 70:3994-4005.
90. Sirois, J., Fortune, J.E (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 39:308-317.
91. Shipka, M.P., Ellis, L.C. (1998). No effects of bull exposure on expression of estrous behaviour in high-producing dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 57:1-7.
92. Shpika, M.P., Ellis, L.C. (1999). Effects of bull exposure on postpartum ovarian activity of dairy cows. *Anim reprod Sci* 54:237-244.
93. Short, R.E., Bellows, R.A. (1971). Relationships among weight gains, age at puberty and reproductive performance in heifers. *J. Anim. Sci.* 32: 127-131.
94. Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.E., Berardinelli, J.G., Custer, E.E. (1990). Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci* 68:799-816.
95. Small, J.A., Del Vecchio, R.P., McCaughey, W.P., Ward, D.R., Sutherland, W.P. (2000). The effects of bull exposure and lasalocid on the development of replacement beef heifers. *Can J Anim Sci* 80:615-624.
96. Soares, A.F., Fagundes, N.S., Nascimento, M.R., Tavares, M., Jacomini, J.O. (2008). Influencia da bioestimulação sobre as características ovarianas e a taxa de prenhez em novilhas nelore. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 9: 834-838.
97. Stock, A.E., Fortune, J.E., (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 132:1108-1114.
98. Straumann, J.M., Ayala, W., Vázquez, A.I., Quintans, G. (2003). Efecto del manejo nutricional en el primer invierno sobre la aparición de la pubertad en terneras de raza carnicera (primer año de evaluación). Seminario de Actualización Técnica: Cría Vacuna; Serie Técnica 174, INIA Treinta y Tres julio 2008, pp 59-63.
99. Stumpf, T.T., Wolfe, M.W., Wolfe, P.L., Day, M.L., Kittok, R.J., Kinder, J.E. (1992). Weight changes prepartum and presence of bulls postpartum interact to affect duration of postpartum anestrus in cows. *J Anim Sci* 70:3133-3137.
100. Tauck, S.A., Berardinelli, J.G. (2005). Effect of bull urine exposure on postpartum anestrus and breeding performance of first-calf suckled beef cows. *Proc Nutrition Conference, Montana State University.* 6p.

101. Tauck, S.A., Berardinelli, J.G., Geary, T.W., Johnson, N.J. (2006). Resumption of postpartum luteal function of primiparous, suckled beef cows exposed continuously to bull urine. *J Anim Sci* 84:2708-2713.
102. Tauck, S.A., Berardinelli, J.G. (2007). Putative urinary pheromone of bulls involved with breeding performance of primiparous beef cows in a progestin-based estrous synchronization protocol. *J. Anim. Sci.* 85: 1669-1674.
103. Tauck, S.A., Olsen, J.R., Wilkinson, J.R.C., Berardinelli, J.G. (2010). Duration of daily bull exposure on resumption of ovulatory activity in postpartum, primiparous, suckled, beef cows. *Anim Reprod Sci* 118:13-18.
104. Thatcher, W.W., De la Sota, R.L., Schmitt, E.J., Diaz, T.C., Badinga, L., Simmen, F.A., Staples, C.R., Drost, M. (1996). Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility, *Rep Fertility Dev* 8:203-217.
105. Tojondonegro, S., Williams, P., Sawyer, G.S., Atkinson, S. (1987). Effects of progesterone intravaginal devices on synchronization of estrus in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 70:2162-2167.
106. Toops, J.H. (1977). The relationship between reproduction and undernutrition in beef cattle. *Rev Anim Repr* 13:2-43.
107. Tubino, A.F. (2003). Dinámica folicular: funcionamiento y regulación. Departamento de Reproduccion Animal Fac de Vet, Mdeo, Uruguay.4p.
108. Turman, E.J., Pope, L.S., Watkins, B.J., Pinney, D.O., MacNutt, D.D. (1963). Miscellaneous publication MP70.
109. Ungerfeld, R. (2002). Factores sociales en la reproducción. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo . Melibea, pp. 139-146.
110. Ungerfeld, R. (2009) Short-term exposure of high body weight heifers to testosterone-treated steers increases pregnancy rate during a late autumn-early winter natural service. *Animal Reproduction* 6 (3): 446-449.
111. Ungerfeld, R. (2010) Exposure to androgenised steers did not improve the fertility obtained in progesterone-based fixed-timed artificial insemination programs in extensively managed cows and heifers. *Animal Production Science* 50: 68-71.
112. Wiltbank, J.N., Gregory, K.E., Swiger, L.A., Ingalls, J.E., Rothlisberger, J.A., Koch, R.M. (1966). Effects of heterosis on age and weight at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 25: 744-751.
113. Wiltbank, J.N., Kasson, C.W., Ingalls, J.E. (1969). Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. *J Anim. Sci.* 29: 602-605.

114. Wiltbank, J.N. (1970). Research needs in beef cattle reproduction. *J. Anim. Sci.* 48:1285.
115. Wiltbank, M.C., Gumen, A., Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57 (1): 21-53.
116. Zalesky, D.D., Day, M.L., Garcia Winder, M., Imakawa, K., Kittok, R.J., D'Occhio, M.J., Kinder, J.E. (1984). Influence of exposure to bulls on resumption of estrous cycles following parturition in beef cows. *J. Anim. Sci.* 59: 1135-1139.

