

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**EFFECTO DE UNA ESPONJA ARTESANAL
INTRAVAGINAL IMPREGNADA CON UN
PROGESTAGENO (MAP), BENZOATO DE ESTRADIOL
Y/O DESTETE TEMPORARIO SOBRE LA INDUCCION
DE CELOS Y ACTIVIDAD LUTEAL EN VACAS
AMAMANTANDO EN ANESTRO.**

por

Alicia GODIN LANDINI

**Tesis presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Ingeniero Agrónomo (Orientación
Ganadero-Agrícola).**

MONTEVIDEO

URUGUAY

2005

Tesis aprobada por:

Director:

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Fecha:

Autor:

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Quiero dejar mi expreso agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron para poder lograr finalizar esta carrera:

A la Ing. Agr. María Helena Guerra.

A los directores, funcionarios, docentes y estudiantes de la Escuela Agraria La Carolina por su ayuda en el trabajo de campo proporcionando todo lo necesario para que este se desarrollara sin inconvenientes.

A mis compañeros y amigos de facultad.

A mis amigos, mis familiares y mi marido

LISTA DE CUADROS, GRÁFICOS Y FIGURAS.

Figura 1: Interacciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero	3
Figura 2: Esquema del ciclo estral y sus fases en bovinos.....	4
Figura 3: Esquema del crecimiento folicular y variación de FSH en una vaca con dos ondas foliculares durante un ciclo estral de 21 días.....	9
Figura 4: Modelo describiendo el rol del neonato, el comportamiento maternal, amamantamiento e interacción madre-hijo regulando el generador de pulsos hipotalámico durante el postparto, a través del feedback negativo al estradiol, el tono opioide y el tono adrenérgico.....	16
Figura 5: Cronograma de un tratamiento con progestágenos.....	24
Cuadro 1: Descripción de los animales utilizados en Salto y La Carolina	27
Figura 6: Esquema del procedimiento seguido con los animales durante y después de la parición.....	28
Cuadro 2: Valores promedio y desvíos estándares de condición corporal y peso al parto y al momento de colocación de la esponja e Intervalo parto-tratamiento de las vacas utilizadas en Salto y La Carolina según año y tratamiento	33
Gráfico 1: Porcentaje de celo según tratamiento.....	34
Gráfico 2 : Porcentaje de celo total según año y tratamiento.....	35
Cuadro 3: Probabilidades obtenidas de los modelos corridos.....	35
Gráfico 3: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo total según tratamiento.....	36
Gráfico 4: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo con celo según tratamiento..	36
Gráfico 5: Porcentaje de FCL de vida normal según tratamiento.....	37

Cuadro 4: Resumen del porcentaje de vacas que presentan distinto tipo de cuerpo lúteo según tratamiento en vacas de parición temprana.....	37
Cuadro 5: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo de vida normal para los tres años y tratamientos	38
Cuadro 6: Número y porcentaje de vacas para cada tratamiento con y sin celo que formaron los distintos tipos de cuerpos lúteos.....	38
Cuadro 7: Número y porcentaje de vacas que presentaron FCL total y FCL de vida normal según tratamiento con y sin celo	39
Cuadro 8: Intervalo en horas fin de tratamiento-celo para los tres tratamientos según localidad y año (medida \pm DE)	40

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	IV
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLOGRÁFICA</u>	2
2.1 CICLO ESTRAL	2
2.1.1 <u>Aspectos generales</u>	2
2.1.2 <u>Endocrinología del ciclo estral</u>	4
2.1.3 <u>Dinámica folicular en vacas cíclicas</u>	6
2.1.4 <u>Dinámica folicular en vacas en anestro</u>	9
2.2 FACTORES QUE AFECTAN EL ANESTRO POSTPARTO.....	11
2.3 INDUCCIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL CELO Y OVULACIÓN.....	12
2.3.1 <u>Métodos biológicos</u>	13
2.3.1.1 Destete	13
2.3.1.2 Efecto Toro.....	18
2.3.2 <u>Métodos hormonales</u>	18
2.3.2.1 Hembras cíclicas (sincronización).....	18
2.3.2.1.1 Uso de prostaglandinas.....	18
2.3.2.1.2 Uso de GnRH.....	19
2.3.2.1.3 Uso de hCG y eCG (PMSG).....	20
2.3.2.1.4 Uso de Progestágenos.....	20
2.3.2.2 Hembras acíclicas (Inducción y sincronización).....	21
2.3.2.2.1 Progestágenos / Progesterona / Benzoato de Estradiol.....	22
2.3.2.2.2 Gonadotrofinas / GnRH.....	25
2.3.3 <u>Métodos biológicos combinados con hormonales</u>	25
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	26
3.1 LOCALIZACIÓN.....	26
3.1.1 <u>Suelos y pasturas</u>	26
3.2 ANIMALES.....	26
3.3 TRATAMIENTOS.....	27
3.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	27
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
4. <u>RESULTADOS</u>	33

5. <u>DISCUSIÓN</u>	41
5.1 Consideraciones finales	43
6. <u>CONCLUSIONES</u>	45
7. <u>RESUMEN</u>	46
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	47

1. INTRODUCCIÓN

El anestro posparto, en términos generales, que caracteriza a la vaca con cría al pie, son períodos que reducen su productividad y que por lo tanto deben ser disminuidos para lograr una producción eficiente. En nuestro país, posiblemente una gran proporción del rodeo de cría, entra muchas veces al entore estando en anestro. Esto se ve reflejado en el 63% de destete promedio que mantiene el Uruguay desde que existe información estadística (MGAP-DIEA, 2002). La vaca de cría, por lo general, compite junto a los lanares en el pastoreo de los peores campos del país. La vaca con ternero al pie es la que falla debido fundamentalmente a factores como el amamantamiento y la nutrición, las que determinan un estado corporal insuficiente para las funciones de reproducción. El porcentaje de destete en Uruguay es variable y muchas veces acompaña las condiciones climáticas por su impacto en las pasturas, pero como ya fue dicho, manteniendo un 63% de destete.

Gran número de autores en todo el mundo citan, entre los factores mayores que afectan el largo del período de anestro postparto a la nutrición y el amamantamiento seguidos por factores menores como, fotoperíodo, edad, raza, variación genética individual, stress, presencia del toro, sanidad, distocia y retención de placenta (Williams, 1990; Short, 1990). Yavas y Walton (2000a), discrepan con los autores anteriores incluyendo como factores mayores al fotoperíodo y la edad junto al amamantamiento y la nutrición.

Varias alternativas existentes en la actualidad tienen como objetivo acortar este período improductivo del animal. Estos se podrían clasificar como métodos biológicos, hormonales y la combinación de ambos. Detalles de estos se abordarán en la revisión de la tesis.

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de cuantificar el impacto de la aplicación de un progestágeno vinculado a un destete temporario; a una pequeña dosis de benzoato de estradiol o a la combinación de estos dos últimos en el rodeo de cría amamantando en anestro, sobre la inducción de celos y ovulaciones.

2. REVISIÓN BIBLOGRÁFICA

2.1 CICLO ESTRAL

2.1.1 Aspectos generales

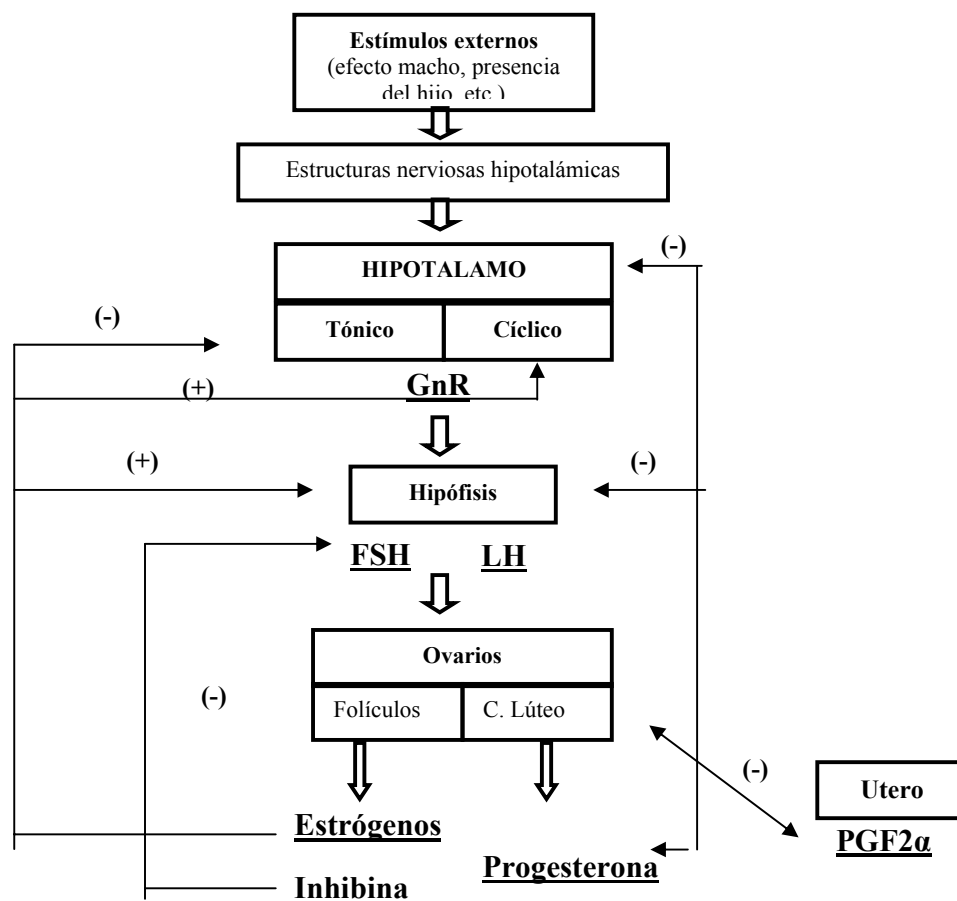
El ciclo estral son los días comprendidos entre dos celos consecutivos en el que se suceden un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente. Se define estro como el período en que la hembra acepta la monta del macho. En la vaca adulta tiene una duración promedio de 21 días (rango de 18 a 24 días). Este patrón cíclico se inicia en la pubertad y se prolonga durante toda la vida, pudiéndose observar interrupciones de los ciclos (anestro) por causas fisiológicas (por ejemplo gestación; postparto, etc.) o patológicas (por ejemplo: déficit nutricional, enfermedades del aparato reproductor, estrés, etc.) (Rubianes y Regueiro, 2001).

El largo del ciclo estral en ganado es regulado por la secreción de progesterona producida por el Cuerpo Lúteo (CL) (Roche, 1999). El ciclo estral es controlado por un eje neuroendócrino que involucra a las distintas estructuras y glándulas y sus respectivas secreciones hormonales. El mismo está integrado por el hipotálamo, la hipófisis, el ovario y el útero y recibe aferencias externas (Rubianes y Regueiro, 2001) (ver Figura 1).

Hipotálamo: se encuentra en la base del cerebro y sus neuronas producen la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). El GnRH en la eminencia media difunde a los capilares del sistema porta hipofisiario en donde estimula la síntesis de Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH) (Biogénesis, 2003). En el hipotálamo se distinguen dos zonas responsables de la liberación cíclica (preovulatoria) y tónica (basal) de GnRH. El sistema tónico es responsable de mantener un nivel relativamente bajo y constante de FSH y LH (Cavestany, 1985). El sistema cíclico actúa en lapsos breves, siendo evidente por sólo 12 a 24 horas del ciclo estral en la hembra (Biogénesis, 2003).

Hipófisis: esta formada por una parte anterior (adenohipófisis) y una posterior (neurohipófisis) la que almacena oxitocina producida por el hipotálamo. La primera produce entre otras hormonas, FSH y LH. La FSH es la responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular. La LH produce la ovulación y la formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Estas hormonas son secretadas a la circulación en forma de pulsos y son regulados por el sistema tónico y el cíclico (Biogénesis, 2003).

Figura 1: Interrelaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero.



Fuente: Biogénesis, 2003.

Ovario: Los estrógenos (hormona esteroidea) son producidas por el folículo ovárico y tienen acciones sobre: trompas de Falopio, útero, vagina, vulva, y el Sistema Nervioso Central. En él estimula la conducta de celo, y en el hipotálamo, ejerce un feedback negativo sobre el centro tónico y positivo sobre el cíclico (Biogénesis, 2003; Rubianes y Regueiro, 2001). La progesterona (hormona esteroidea) es producida por el cuerpo lúteo. Esta hormona prepara al útero para el implante del embrión y el mantenimiento de la gestación. A nivel hipotalámico ejerce un feedback negativo sobre el centro tónico (Rubianes y Regueiro, 2001).

Las dos inhibidores principales de FSH secretados por el folículo son la inhibina y el estradiol. El estradiol es un inhibidor muy débil de la secreción de FSH, pero tiene

una acción sinérgica con la inhibina para inhibir fuertemente el proceso de secreción de FSH (Wiltbank y col., 2002).

La Progesterona es producida por el cuerpo lúteo por acción de la LH. Esta hormona prepara al útero para la el implante del embrión y para mantener la gestación. A nivel hipotálamico ejerce un feedback negativo sobre el centro tónico.

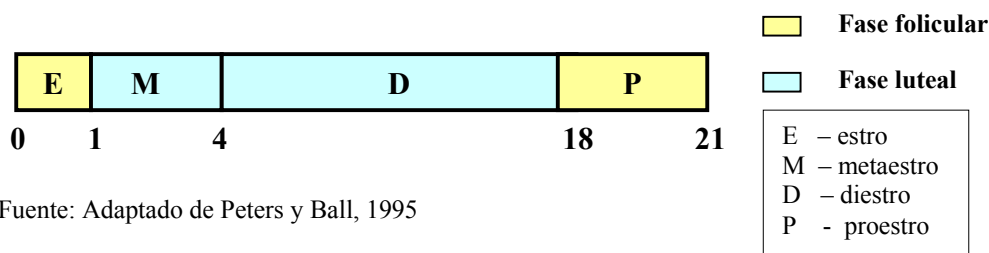
Útero: Produce prostaglandina F2 α (PGF2 α) la cual interviene en la regulación neuroendócrina del ciclo estral mediante su efecto luteolítico (Biogénesis, 2003).

2.1.2 Endocrinología del ciclo estral

El ciclo estral (Figura 2) se puede dividir en:

- fase folicular (proestro y estro)
- fase luteal (metaestro y diestro) (Peters y Ball, 1995).

Figura 2: Esquema del ciclo estral y sus fases en bovinos.



Fase folicular: este período cuya duración es de 3 a 5 días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo (siendo la PGF2 α de origen uterino la principal responsable) y finaliza con la manifestación de celo (Biogénesis, 2003). Los valores de progesterona descienden bruscamente a niveles basales debido a la regresión del cuerpo lúteo. Los pulsos de LH aumentan por las mayores cantidades de estradiol y el surgimiento preovulatorio de LH es inducido como resultado de esto (Cavestany, 1985; Kinder y col., 1996). Disminuye el feedback negativo que la progesterona tenía a nivel hipotálamico y comienza el aumento de la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotróficas (FSH y LH) estimulándose el crecimiento folicular con el desarrollo de un gran folículo y el aumento en los niveles de estradiol (Kinder y col., 1996; Biogénesis, 2003).

Cuando los estrógenos alcanzan su máximo nivel, se estimula la receptividad al macho y la vaca permite la monta ya sea de hembras o de machos, al mismo tiempo que

se dan todos los cambios que permiten la ovulación y comienzo de la formación del cuerpo lúteo. Esta etapa de estro dura 18 ± 6 horas (Biogénesis, 2003).

Los niveles circulantes de estrógenos aumentan progresivamente hasta alcanzar un nivel crítico capaz de estimular el centro cíclico hipotalámico, se produce un pico de GnRH y por consiguiente un pico de LH (Cavestany, 1985). Este pico de LH que precede la ovulación, alcanza valores 10 a 20 veces mayores a los basales (Rubianes y Regueiro, 2001). A su vez la FSH disminuye su secreción, consecuencia del feedback negativo estrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se da el pico preovulatorio de LH en que puede aparecer un pico de FSH (Biogénesis, 2003). La liberación de GnRH está regulada además por sustancias neurotransmisoras llamadas péptidos opioides como la β endorfina que inhibe la secreción de la hormona gonadotrófica (Cavestany, 1985).

El intervalo entre el pico de LH y la ovulación es bastante constante entre especies (20-24 horas). Niveles medios o elevados de progesterona bloquean al pico de LH, esto explica los períodos anovulatorios característicos en algunos animales (Rubianes y Regueiro, 2001)

Luego de 12 -24 horas de comenzado el celo, el Sistema Nervioso se torna refractario al estradiol y cesan todas las manifestaciones psíquicas del mismo (Biogénesis, 2003). El período inmediato a la finalización del celo es el metaestro (3 a 4 días normalmente) en que ocurre la ovulación de la vaca y comienza la organización celular y desarrollo del cuerpo lúteo.

La ovulación se da 28-32 horas de iniciado el celo y es desencadenado por el pico preovulatorio de LH (Biogénesis, 2003).

Fase luteal: En la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se dan cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen en células luteales, el que está funcional al día 7 (Rubianes y Regueiro, 2001; Biogénesis, 2003). Luego de la ovulación del folículo dominante, el cuerpo lúteo es formado desde las células luteinizadas de la granulosa y de la teca del folículo que ovuló (Roche, 1999).

Esta fase es la más larga del ciclo estral, dura normalmente 12-14 días, y se caracteriza por la formación y presencia del cuerpo lúteo. La concentración de progesterona aumenta luego de la ovulación y continúa incrementándose en la fase luteal temprana (día 1 a 5), alcanzándose la máxima concentración el día 8-11 del ciclo estral. Debido al feedback negativo que la progesterona ejerce a nivel hipotalámico (y por lo tanto en la liberación de LH en la fase luteal), se produce la atresia de los folículos dominantes (Roche, 1999).

En el día 16 - 18 de ciclo estral del bovino se inicia el mecanismo que culmina con la regresión del cuerpo lúteo (lisis) y consecuentemente disminuye el nivel plasmático de progesterona alrededor del día 17. En este momento el útero juega un rol preponderante a través de la producción endometrial y liberación de PGF2 α hacia la vena uterina y posteriormente a la arteria ovárica. La PGF2 α impacta el cuerpo Lúteo provocando su regresión y originando el llamado cuerpo Albicans (Rubianes y Regueiro, 2001).

En contraste a las concentraciones basales de LH en esta fase, hay períodos secuenciales de aumento y disminución de la concentración de FSH, las que se relacionan con la emergencia de nuevas ondas foliculares. La progesterona y 17 β -estradiol son los principales factores responsables de la menor frecuencia de pulsos de LH durante la fase luteal del ciclo estral bovino (Kinder y col, 1996). Si bien el estradiol sólo es un inhibidor muy débil de la secreción de FSH, tiene una acción sinérgica con la inhibina para inhibir fuertemente la secreción de FSH (Roche, 1999; Wiltbank y col., 2002).

2.1.3 Dinámica folicular en vacas cíclicas

El proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos antrales que permiten el desarrollo del folículo preovulatorio es conocido como "Dinámica Folicular" (Lucy y col., 1992).

A través de la ultrasonografía se ha podido demostrar que los folículos en bovinos se desarrollan en ondas. Luego del pico de LH (12-14 horas después), se incrementa la concentración basal de FSH, relacionándose esto con la primer onda de crecimiento folicular (Mapletoft y col., 2001; Biogénesis, 2003). Por lo tanto, las elevaciones de las concentraciones plasmáticas de FSH son responsables de la inducción de la emergencia de cada una de las ondas foliculares.

Existen generalmente dos o tres elevaciones recurrentes de FSH en ganado durante el ciclo estral que inician el desarrollo de las respectivas ondas secuenciales de desarrollo folicular (Roche, 1999). Los ciclos estrales presentan 2 o 3 ondas foliculares (Lucy y col., 1992; Kinder y col., 1996; Roche, 1999; Mapletoft y col., 2001; Rubianes y Regueiro, 2001; Wiltbank y col., 2002), las cuales consisten en un grupo de folículos antrales en crecimiento de 4 mm. de diámetro (que es el momento en que se puede ver por ecografía) del cual se selecciona un folículo dominante mientras que los folículos remanentes se convierten en subordinados y sufren atresia (Mapletoft y col., 2001).

El Reclutamiento es el proceso donde un conjunto de folículos comienza a madurar en un medio de suficiente estimulación gonadotrópica que permite el avance hacia la ovulación. La Selección es el proceso por el cual un único folículo es elegido y

evita la atresia, con el potencial de llegar a la ovulación. La Dominancia es el medio por el cual el folículo seleccionado domina ejerciendo un efecto inhibitorio sobre los folículos de la misma onda y en los nuevos folículos de reclutamiento (Lucy y col., 1992; Kinder y col., 1996). Este folículo alcanza un tamaño superior a los demás, es responsable de la mayor secreción de estradiol y adquiere la capacidad de continuar su desarrollo en un medio adverso para el resto de los folículos (Lucy y col., 1992; Driancourt, 2000).

La primer onda emerge alrededor del día 0 (día de la ovulación); la segunda aproximadamente el día 8 o 9 y la tercer onda el día 15 o 16 para las vacas que desarrollan tres ondas. En el caso de hembras con dos ondas la segunda se inicia el día 10. La última onda en ambos casos, será la ovulatoria. La duración del ciclo es de aproximadamente 20 días en los ciclos de dos ondas y 23 días en los ciclos de tres ondas (Lucy y col., 1992; Mapletoft y col., 2001; Rubianes y Regueiro, 2001).

Una onda se inicia con un grupo de folículos pequeños antrales (de por lo menos 2 mm. de diámetro) que se desarrollan simultáneamente, entrando en las fases de dominancia y selección con la atresia de los folículos subordinados. Luego, en presencia de niveles altos de progesterona, el folículo dominante finalmente dejará de crecer y comenzará a regresar culminando el proceso con su atresia y comenzando así una nueva onda folicular (Lucy y col., 1992; Mapletoft y col., 2001).

Un folículo dominante es definido como un folículo grande (mayor a 10 mm.) que es reclutado y seleccionado durante una onda folicular (Lucy y col., 1992). Otra clasificación realizada por Wiltbank y col. (2002) diferencia tres tamaños foliculares: de emergencia (~ 4 mm.); de selección (~ 9 mm.) y ovulatorio (variable de 10 a 20 mm.).

Numerosas investigaciones han demostrado que la FSH es la hormona responsable en determinar la emergencia (reclutamiento folicular) (Driancourt, 2000; Mapletoft y col., 2001; Wiltbank y col., 2002), y que la LH es la hormona clave involucrada en la maduración final del folículo dominante y ovulación, mientras los otros folículos completan la atresia (Driancourt, 2000).

Los incrementos de FSH sanguínea se observan 1 o 2 días previo a la emergencia de cada onda folicular y luego, a medida que el folículo dominante se desarrolla descende su concentración debido a que este sintetiza y libera estrógenos e inhibina. Estas dos hormonas retroinhiben, a nivel de adenohipófisis, la liberación de FSH (Rubianes y Regueiro, 2001). Al disminuir la concentración de FSH se ven menos folículos mayores a 4 mm. de diámetro (Driancourt, 2000).

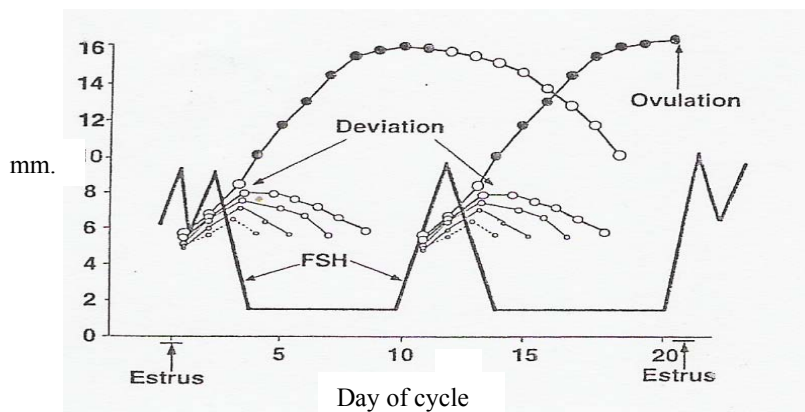
Cuando la onda folicular no culmina con la ovulación, el folículo dominante comienza a regresar. Así se levanta la retroinhibición de los estrógenos e inhibina sobre la liberación de FSH hipofisiaria, ésta aumenta determinando el inicio de una nueva

onda folicular (Rubianes y Regueiro, 2001). El principal efecto de la FSH en el proceso de crecimiento folicular, es inducir la actividad aromatizante, luego de ligarse a sus receptores en las células de la granulosa. Esto explica el porqué los folículos ganan habilidad de producir estradiol a partir de precursores (andrógenos) en las células tecales. La inhibina producida en las células de la granulosa sólo puede estimular la producción de andrógenos si existe LH y receptores para ella (Driancourt, 2000).

En cada onda, el folículo que primero adquiere los receptores para LH llega a ser el folículo dominante, mientras que los subordinados se atresian (Adams, 1998 citado por Mapletoft y col., 2001; Driancourt, 2000). Los folículos son capaces de desarrollar receptores para LH cuando alcanzan los 8 mm. de diámetro en bovinos, siendo la LH la hormona que determina dominancia (Driancourt, 2000). La muerte del folículo dominante puede ser inducida por la alta concentración de progesterona circulante, con resultados de hasta 50% de la reducción de la frecuencia de pulsos de LH (Driancourt, 2000). Esto se debe a que el crecimiento final folicular (luego de la desviación) es dependiente de la pulsatilidad de la LH y estaría negativamente correlacionado con las concentraciones de progesterona circulante. Se entiende por desviación al momento en el cual se da la mayor diferencia en tasas de crecimiento (visto por ecografía) entre el folículo dominante y el subordinado (Wiltbank y col., 2002). En presencia de altos niveles de progesterona, durante el ciclo estral (diestro), el folículo dominante finalmente dejará de crecer y comenzará a regresar culminando en atresia. Paralelo a este proceso una nueva onda folicular habrá emergido por la liberación de FSH (Rubianes y Regueiro, 2001; Mapletoft y col., 2001).

La disminución de FSH es el indicador más importante de selección del folículo dominante y la frecuencia de pulsos de LH luego de la desviación, determinan su destino ya sea ovulación u atresia (Roche 1999; Wiltbank y col., 2002) (Figura 3). La regresión lútea permite que la frecuencia de pulsos de LH aumenta, el folículo dominante incrementa su desarrollo y así las altas concentraciones de estradiol resultan en un feedback positivo en el eje hipotálamo-hipófisis y un pico de LH es seguido por la ovulación (Kinder y col., 1996; Mapletoft y col., 2001; Wiltbank y col., 2002).

Figura 3: Esquema del crecimiento folicular y variación de FSH en una vaca con dos ondas foliculares durante un ciclo estral de 21 d.



Fuente: Wiltbank y col. (2002).

2.1.4 Dinámica folicular en vacas en anestro.

Un extenso y variable período de anovulación y estro ocurre en ganado de carne después del parto. El período de aciclicidad continúa en animales de pobre condición corporal. Este puede persistir en algunas hembras por períodos que exceden los 100 días (Williams, 1990) o por más de 200 días en vacas primíparas productoras de leche o carne con largos períodos de balance energético negativo (Lucy y col., 1992).

Durante el fin de gestación aumenta la concentración de estrógenos placentarios asociados a altas concentraciones de progesterona, así se inhibe la síntesis de FSH y LH por lo que el nivel de depósito de LH de la adenohipófisis es casi nulo al parto (Williams, 1990; Roche, 1999). Las primeras 2 a 3 semanas luego del parto son necesarias para que se de la involución uterina, se restablezca el nivel de LH de la adenohipófisis y se reanude el crecimiento de las ondas foliculares (Yavas y Walton, 2000a). Existen diferencias en el tiempo para reanudar la ciclicidad postparto entre bovinos de leche y de carne. El patrón de crecimiento folicular se reanuda 2 a 3 semanas luego del parto en vacas lecheras mientras que en vacas de carne con cría al pie y estrés nutricional, demora 35-60 días (Roche y col., 1992; Roche, 1999; Yavas y Walton, 2000a). A su vez, las primeras tienen un mayor porcentaje de vacas que ovulan el primer folículo dominante al mismo tiempo que tienen menor intervalo parto-estro (Roche y col., 1992; Roche, 1999, Driancourt, 2000).

Periódicos crecimientos y regresiones de folículos dominantes antes de la primera ovulación ocurren en ganado de carne con mayor frecuencia que en ganado de leche (Murphy y col., 1990; Roche y col., 1992). El folículo dominante falla en llegar a

la maduración final, un prerrequisito para la ovulación, debido a fallas en pulsos adecuados de LH, por lo que el folículo se torna atrésico (Yavas y Walton, 2000a). Vacas de carne amamantando con pobre condición corporal han mostrado más de 14 ondas antes de tener su primer ovulación (Stagg y col., 1998).

Los modelos de crecimiento y desarrollo foliculares son variables entre vacas después del parto. Algunas vacas tienen ovarios relativamente inactivos (no presentan crecimiento folicular mayor a 10 mm). Otras tienen folículos grandes (más de 10 mm) dentro de 10 a 15 días después del parto. La inactividad ovárica puede resultar de insuficiente secreción de LH asociada con inadecuado consumo de energía durante el período postparto temprano. Es importante hacer la distinción entre ovario inactivo anovulatorio y un ovario activo anovulatorio. Este último presenta un folículo dominante desarrollado pero que no ovula. Estas diferentes formas de anestro tienen diferentes estrategias para acortar este período. Por ejemplo en vacas amamantando, en las que puede haber ondas foliculares con folículos grandes que no ovulan debido al amamantamiento, el que inhibe el pico preovulatorio de LH (Lucy y col, 1992). En este caso eliminando el efecto del amamantamiento, la vaca ovulará y comenzará a ciclar normalmente.

Según Wiltbank y col. (2002), existen en bovinos tres causas posibles de anovulación. Una de ellas es la “anovulación con crecimiento folicular hasta la emergencia”. Esto se vio en ganado cebú postparto y en situación de subnutrición grave. La segunda es la anovulación con crecimiento folicular hasta la selección pero sin alcanzar el tamaño ovulatorio (10-20 mm.). Esta condición parece ocurrir en todas las vacas prepúberes, o en el período postparto en vacas lecheras y de carne con cría al pie. Estas tienen como causa hormonal principal el mayor efecto de retroalimentación negativa (inhibición) de estradiol sobre los pulsos de GnRH/LH. Este efecto es mayor del que se estimó en vacas ciclando normalmente. Esta inhibición no permite el crecimiento final del folículo o la producción de estradiol por parte del folículo dominante posterior a la selección. Los signos típicos de este estado son: ovarios pequeños debido a la ausencia de un cuerpo lúteo o folículos de tamaño ovulatorio. Sin embargo el crecimiento folicular continúa en un patrón de onda folicular. Finalizando, la tercer causa posible es cuando se da anovulación con crecimiento folicular hasta tamaño ovulatorio o mayor la que se relaciona con presencia de folículos persistentes.

Entre la 1ª y 2ª semana luego del parto hay un aumento en la concentración de FSH debido a la remoción del feedback negativo del estradiol en las gonadotropinas. Esto hace que se inicie la emergencia de la primer onda folicular post-parto y la selección del primer folículo dominante en vacas estresadas nutricionalmente. Este puede ovular y formar un cuerpo lúteo, volverse atrésico o tornarse persistente demorando la emergencia de la segunda onda folicular. El destino funcional del folículo dominante esta determinado por la frecuencia de pulsos de LH, como ya fue mencionado. El intervalo para lograr pulsos de LH de 1 pulso/hora requerido para la

ovulación es variable, y depende de factores no esteroides que regulan a la GnRH (Roche, 1999).

El llenado de la hipófisis anterior de LH se da entre 10 a 30 días luego del parto (Short y col., 1990; Williams y col., 1996; Yavas y Walton, 2000a), siendo este el factor limitante en la recuperación temprana del post-parto y no estando influenciada por el amamantamiento (Williams y col., 1996; Yavas y Walton, 2000a). La capacidad de los centros del hipotálamo en responder a los efectos del feedback positivo del estradiol ocurre entre la 3^a y 4^a semana luego del parto en vacas de carne (Williams, 1990). Luego no es la disponibilidad de LH ni de FSH la limitante en reanudar la ciclicidad, sino la baja frecuencia de pulsos de LH no adecuada para la ovulación (menor a 1 pulso/hora) (Short y col., 1990; Roche y col., 1992; Stagg y col., 1998; Yavas y Walton, 2000a). Los folículos dominantes que no logran la maduración final, se tornan atrésicos y logran menor tamaño que los folículos ovulatorios de vacas ciclando (Roche y col., 1992; Roche, 1999; Yavas y Walton, 2000a).

Los folículos dominantes tienen potencial para ovular pero no llegan a hacerlo. La ausencia de pulsos de LH es debido a la continua sensibilidad del generador de pulsos de GnRH hipotalámico al efecto del feedback negativo del estradiol ovárico, el que resulta en ausencia de pulsos de GnRH (Yavas y Walton, 2000a). A veces el amamantamiento aumenta la sensibilidad al feedback negativo al estrógeno en el hipotálamo, aumentando los opioides endógenos y disminuyendo la liberación de GnRH de la eminencia media (Williams y col., 1996).

Cuando el período post-parto aumenta, decrece la sensibilidad del generador de pulsos al efecto del feedback, aumenta la frecuencia de pulsos de GnRH y por lo tanto la concentración y pulsatilidad de LH. De esta forma se da maduración folicular terminal y comienzo de la ciclicidad (Yavas y Walton, 2000a). Luego de esta etapa se requiere un escape al efecto del amamantamiento (Williams y col., 1990). En resumen, la ausencia de pulsos de LH en el post-parto temprano (primeros 25 a 30 días) es debido al agotamiento del nivel de LH de la pituitaria anterior y es independiente del amamantamiento. Luego de llenado, entre 10-30 días post-parto, la ausencia de pulsos de LH es dependiente del amamantamiento por la inhibición de descargas de GnRH del hipotálamo. En bovinos de carne, la pulsatilidad de LH, en el mejor de los casos, se recupera alrededor del día 30 y las vacas reanudan ciclicidad entre 29 y 67 días post-parto (Yavas y Walton, 2000a).

2.2 FACTORES QUE AFECTAN EL ANESTRO POSTPARTO.

Existen distintas clasificaciones en lo que refiere a los factores que afectan la duración del anestro postparto, dependiendo del autor a considerar. Las causas se pueden dividir en factores mayores y menores en afectar el largo del anestro. La mayoría de los autores considera como factores mayores únicamente a la nutrición y amamantamiento,

y hay concordancia en considerarlos como los factores más importantes en prolongar el anestro posparto en bovinos de carne (Williams, 1990; Short, 1990; Yavas y Walton, 2000a; Wiltbank y col., 2002), aunque otros incluyen al fotoperíodo y la edad dentro de este primer grupo (Yavas y Walton, 2000a).

El ganado bovino durante la domesticación ha sido seleccionado en contra de la estacionalidad, sin embargo permanece en él cierta sensibilidad al fotoperíodo (Yavas y Walton, 2000). Las vacas presentarían ciclicidad durante los días largos (Hansel y Hauser, 1984) al contrario de las ovejas (Fernández Abella, 1995). Respecto a la edad, debido a que las vaquillonas están todavía creciendo, presentan frecuencias de pulsos de LH más cortas que vacas multíparas y mayor duración del anestro posparto que vacas (1-4 semanas) (Yavas y Walton, 2000a).

En cuanto a factores menores no hay grandes diferencias entre los autores citados, estos serían: raza, variación genética individual, stress, presencia del toro, sanidad, distocia y retención de placenta

En el presente trabajo se profundizará, dentro de los factores mayores, el amamantamiento, por ser este el eje central de este estudio.

2.3 INDUCCIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL CELO Y OVULACIÓN.

Se define sincronización del celo y ovulación cuando el tratamiento realizado sobre un grupo de hembras ciclando normalmente produce la manifestación de ambos fenómenos en un corto período. Se habla de inducción y sincronización, cuando las vacas se encuentran en anestro y el tratamiento aplicado es capaz de levantar tal condición, la que generalmente se da en forma sincronizada (Alberio, 2003).

El tratamiento elegido se debe aplicar por lo menos luego de la tercer semana del parto. Esto se debe a que las primeras semanas post-parto son necesarias para involución uterina, para el restablecimiento del nivel de LH en la hipófisis (Yavas y Walton, 2000b). Luego de estos acontecimientos se podrían aplicar una serie de métodos que se describirán a continuación para inducir y en lo posible sincronizar los celos y fundamentalmente las ovulaciones.

Este punto se abordará describiendo los métodos biológicos, hormonales y la combinación de ambos. Dentro de los biológicos se abordarán el destete, haciendo hincapié en destete temporario y por otro lado el efecto toro. En referencia al segundo grupo se analizará resumidamente los distintos usos de métodos hormonales para animales cíclicos y acíclicos y finalmente el uso de destete temporario combinado con el hormonal.

2.3.1 Métodos biológicos

Estos mecanismos de acción resumen una serie de efectos estimulatorios (táctiles, visuales, auditivos y/o olfatorios), de estimulación genital directa (olfato, frotación y/o lamido de la región), de “señales” (feromonas), posible combinación de estas o de otros factores externos no bien definidos hasta el momento de un sexo sobre otro, entre compañeros/as del grupo o entre madres e hijos (Rodríguez Blanquet, 2002).

2.3.1.1 Destete

El destete precoz no se tratará en éste ítem, si bien maneja muchos de los conceptos que se desarrollarán mas adelante.

Un extenso y variable período de anovulación y anestro ocurre en vacas de carne amamantando después del parto (Williams, 1990; Williams y col., 1996). Este esta dado por un déficit endócrino primario que determina anovulaciones postparto en ganado, debido a problemas en reanudar los patrones secretorios de LH que permitirán el desarrollo y maduración final del folículo preovulatorio (Williams y Griffith, 1995). Vacas que amamantan tienen intervalos parto-ovulación-celo más largos que las que no lo hacen. La interacción vaca-ternero amamantando es un componente crítico en mantener el anestro. El amamantamiento interfiere de algún modo con la liberación de GnRH del hipotálamo (Viker y col., 1989; Williams, 1990; Williams y Griffith, 1995; Williams y col., 1996; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999).

Las primeras investigaciones han aportado conocimientos para tratar de entender los mecanismo por los cuales estos actúan. Inicialmente, el efecto del amamantamiento se enfocó principalmente en la glándula mamaria y varias investigaciones se llevaron a cabo en la década de los '80 principios de los '90 para entender su influencia sobre el anestro posparto. Varios trabajos ya sean usando máscaras de látex como barrera mecánica (McVey y col, 1991), con estimulación térmica y eléctrica transcutánea de la ubre (Cutshaw y col, 1992), vacas mastectomizadas (Viker y col, 1989), terneros embozalados (Williams y col, 1987), utilizando ordeño manual y distintas combinaciones con destetes temporarios (Williams y col, 1987; Shively y Williams, 1989) han sido usados para dilucidar este fenómeno.

La hipótesis original se basaba en que el estímulo provocado por el ternero cuando amamanta genera distintos reflejos que se transmiten desde la glándula mamaria hasta el hipotálamo vía tracto espino-cervical (Williams, 1990). La presencia crónica de éste estímulo debía incrementar la sensibilidad de las neuronas hipotalámicas (las que involucran a péptidos opioides endógenos) al feedback negativo del estradiol (Williams y col., 1992).

La primera conclusión fue de que el ternero activaría ciertos receptores cutáneos distintos a aquellos activados por el ordeño manual (Cutshaw y col., 1992).

Finalmente se llegó a que la influencia supresora del amamantamiento en la secreción de LH y ovulación es independiente de patrones neurosensoriales del pezón/ubre (Williams y col., 1984; Viker y col., 1989; Cutshaw y col., 1992; McVey y col., 1991; Williams y col., 1993). Se sospechó que el amamantamiento o alguna interacción vaca-ternero suprimía la ovulación y el estro (Viker y col., 1989; Silvera y col., 1990; Williams, 1990).

A partir del 1993 se hicieron importantes descubrimientos con lo que se aclara más el rol del ternero que amamanta en la demora de la reanudación de los ciclos estrales y ovulación después del parto. Algunos estudios determinaron que la estimulación somatosensorial mamaria no fue determinante para inducir anovulación a través de la regulación del eje hipotálamo-hipófisis (Silvera y col., 1993; Viker y col., 1993; Viker y col., 1989; Williams y col., 1993). Los nuevos conceptos que surgen, contemplan el rol del ternero amamantando en atenuar la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Silvera y col., 1993; Viker y col., 1993; Williams y col., 1993; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999) siendo relevante la identidad del ternero mamando (sea propio u extraño) en determinar la anovulación (Silvera y col., 1993; Williams y Griffith, 1995; Griffith y Williams, 1996; Williams y col., 1996; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999).

Lamb y col., (1997) encontraron que el amamantamiento ad libitum por un ternero ajeno en presencia o ausencia de su propio ternero prolonga el intervalo a la primera ovulación. La presencia del ternero propio, independientemente de que mame, prolonga la anovulación en vacas con ubre intacta, mastectomizadas (sin ubre) y con ubres denervadas (Viker y col., 1993; Hoffman y col., 1996). Esta influencia inhibitoria ocurre solo como consecuencia de interacciones de comportamiento definidas específicamente entre la vaca y el ternero en presencia de vínculo materno. No puede ser simulado experimentalmente usando ningún estímulo térmico, eléctrico o mecánico y no es dependiente del sistema nervioso de la ubre (Williams y Griffith, 1995).

Viker y col.(1989) encontraron que vacas mastectomizadas con terneros propios, tenían intervalos a primer ovulación más largos que mastectomizadas sin ternero. Stevenson y col., (1994), concluyeron que la presencia no restrictiva del ternero prolonga la anovulación en vacas mastectomizadas y vacas con ubre intacta. En otro estudio, usando vacas mastectomizadas se publicó que el estímulo táctil del ternero restringido al área de la cabeza y cuello no prolongó la anovulación postparto (Viker y col., 1993), pero la orientación al área inguinal de la vaca fue suficiente para prolongar la anovulación. Posiblemente esto se debe a un aumento de la sensibilidad del generador de pulsos de GnRH hipotalámico al efecto del feedback negativo del estradiol ovárico vía liberación de péptidos opioides endógenos del hipotálamo. Esto determina que no se

de la liberación pulsátil de LH, falle la ovulación y se prolongue el anestro post-parto (Viker y col., 1989; Stevenson y col., 1994; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999; Yavas y Walton, 2000).).

El vínculo madre-hijo es fundamental en influenciar la anovulación establecida por el amamantamiento. Cuando el amamantar es acompañado por la presencia de un vínculo ya sea con su propio ternero o restableciendo una unión emocional entre una vaca y un ternero ajeno, se alarga el inicio de los ciclos ováricos (Silvera y col., 1993; Williams y col., 1993; Williams y col., 1996; Williams y Griffith, 1996; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999).

El vínculo madre-hijo es aun mas importante que el amamantamiento per se (producción de leche) en influenciar la anovulación (Lamb y col., 1997; Stagg y col., 1998; Lamb y col., 1999). La vaca debe reconocer primero al ternero como propio (vincularlo como su hijo natural) o establecer un vínculo emocional con uno ajeno. No ejerce el mismo efecto el ordeño, el que parece no imitar la percepción de mamar.

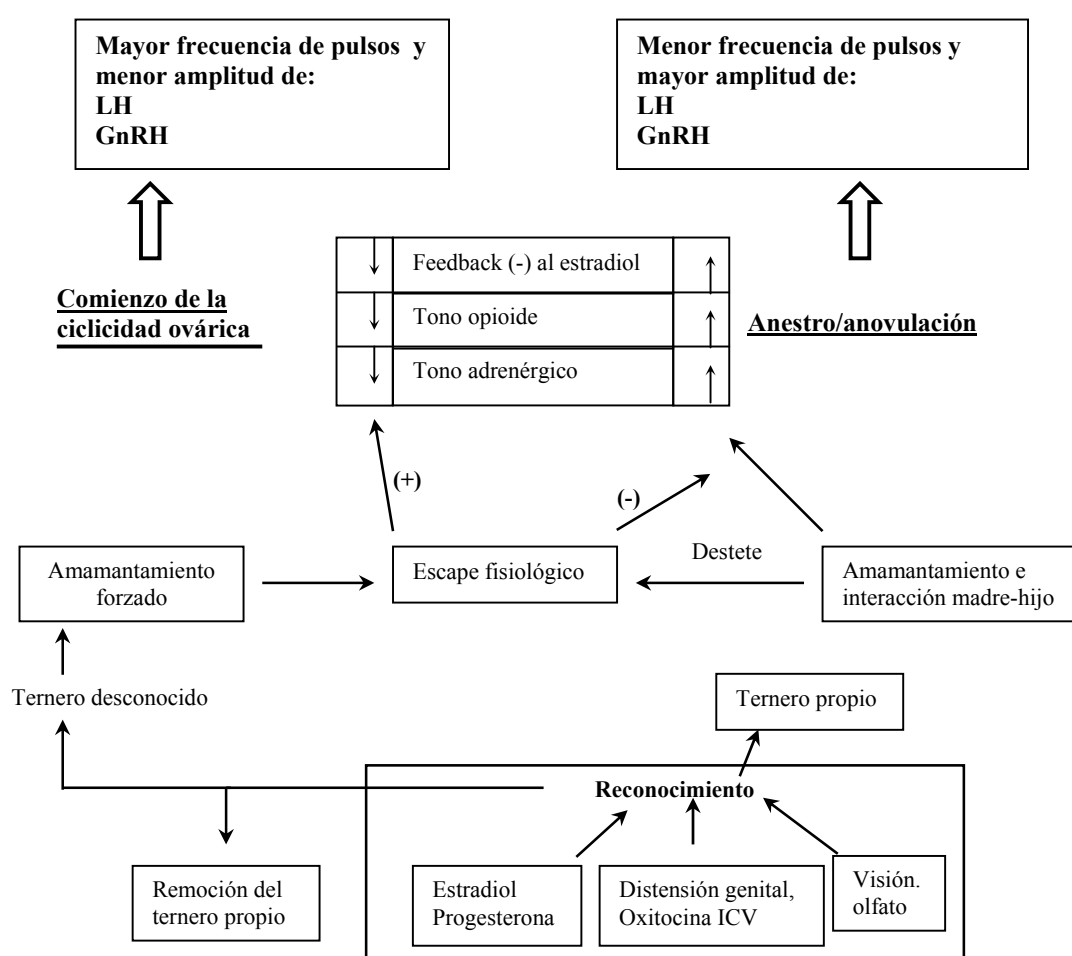
Las últimas investigaciones dan más énfasis en la identificación maternal y al grado de selectividad que ella tenga de sus hijos (Williams y Griffith, 1995; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999). Es importante la habilidad que tenga la vaca para identificar a su propio ternero o al ajeno, la que va a determinar el efecto neto del amamantamiento en la liberación tónica de LH (Williams y Griffith, 1995). El olfato y la visión son igualmente efectivos en permitir la identificación de los terneros, pero la eliminación de ambos sentidos previene la identificación y los efectos negativos del amamantamiento en la secreción de LH (Williams y col., 1996). Esto sugiere que el reconocimiento visual y/o olfatorio que tienen de sus terneros es el componente clave del efecto del amamantamiento y por lo tanto en demorar la primera ovulación postparto en vacas de carne (Stagg y col., 1998). Se logra mayor impacto aplicando destete temporario cuando además de eliminar el estímulo de amamantamiento se elimine también la presencia del ternero (Quintans, 2000).

La anovulación dada por el amamantamiento es debida a una compleja formación de interacciones sensoriales, comportamentales y espaciales entre la vaca y su propio ternero. Estos componentes fisiológicos son necesarios para la expresión del comportamiento maternal y la selectividad (Williams y col., 1996).

La Figura 4 resume la manera en que se interrelacionan las variables que interfieren en el período postparto en vacas. El diagrama muestra la formación del vínculo madre-hijo como resultado de varios signos fisiológicos y hormonales asociados con la gestación final, el parto y el propio ternero. El ternero mamando aumenta el tono opioide y adrenérgico como también la sensibilidad al feedback negativo del estradiol, suprimiendo el eje hipotálamo-hipófisis y manteniendo el estado anovulatorio. El retorno a la ciclicidad normal ocurre cuando están ausentes los vínculos asociados con el

amamantamiento (destete, amamantamiento forzado por un ternero ajeno), lo que provoca un escape fisiológico natural. Esto provoca la desinhibición del eje hipotálamo-hipófisis y en el aumento de a frecuencia de pulsos de GnRH y por lo tanto de LH.

Figura 4: Modelo describiendo el rol del neonato, el comportamiento maternal, amamantamiento e interacción madre-hijo regulando el generador de pulsos hipotalámico durante el postparto, a través del feedback negativo al estradiol, el tono opiode y el tono adrenérgico.



Fuente: Williams y Griffith, 1995.

Una explicación endocrinológica del efecto de amamantamiento sobre el anestro postparto es que el amamantamiento estimula la liberación de oxitocina periférica cerebral e incrementa el tono opiode en ganado. Pero cuando las vacas amamantaron

terneros ajenos se observó un 45-65% de reducción en la frecuencia de liberación de oxitocina periférica en relación al control (vacas amamantando normalmente). Esto ocurre coincidentemente con un rápido reanudamiento de la secreción de LH (Williams y Griffith, 1995)

En respuesta a estímulos exteroceptivos que capta la vaca, se produce una inhibición o desinhibición del generador de pulsos de LH. En este proceso están involucradas varias hormonas. Se ha investigado el rol del cortisol, la prolactina, oxitocina intercerebral, glucosa, péptidos opioides y la modulación de la actividad de las neuronas secretoras de LH (Silvera y col., 1993; Williams y Griffith, 1995).

Los péptidos opioides endógenos (POE) son neurotransmisores que pueden jugar un rol integral en el anestro postparto (Williams, 1990). Existe mucha evidencia positiva sobre que los POE están involucrados en el control ya que tratamientos prolongados de destete, pueden provocar liberación de LH pero no ovulación (Short y col., 1990). Se ha sugerido que los POE inhiben la liberación de GnRH por actuar directamente en las neuronas del hipotálamo, e inhiben la liberación de LH por actuar en la pituitaria anterior (Yavas y Walton, 2000a)

Un aumento casi lineal de LH fue observado en vacas en anestro luego del destete (separación física) entre los días 0 y 4 de iniciado el mismo (Williams y col., 1987; Shively y Williams, 1989). Aumentos en LH fueron observados a partir de las 24 horas de realizado el destete con una respuesta curvilínea hasta el día 4 postdestete, pero es rápidamente restablecida esa inhibición luego de que el ternero vuelve a tener contacto con su madre si se realiza a tiempos menores a 4 días (Williams y col., 1987; Shively y Williams, 1989; Silvera y col., 1993).

Quintans (2000), encontró que cuando el destete temporario coincide con un folículo en crecimiento y capaz de responder al aumento en la frecuencia de pulsos de LH (con suficientes receptores para LH), existe una alta probabilidad de ocurrencia de ovulación.

Se observan respuestas diferentes dependiendo de si el destete se realiza al parto o dos meses después del parto. Si los terneros son destetados al nacimiento, el reanudamiento de la secreción pulsátil de LH es observada 7 a 14 días postparto, seguido de la iniciación de la actividad cíclica ovárica (Williams y col., 1983, citado por Williams y Griffith, 1995). Si el destete se realiza luego de la tercera semana del parto, en vacas amamantando en anestro, se produce un rápido incremento en la frecuencia de pulsos de LH entre las 48 y 96 horas de realizado (Shively y Williams, 1989)

Los destetes de corta duración (48-72 horas) usualmente no resultan en un mayor número de celos o en mayores respuestas ovulatorias (Shively y Williams, 1989), por lo que la remoción del ternero por 48 horas sería de cuestionable utilidad para inducir actividad cíclica en la mayoría de las vacas (Shively y Williams, 1987; Williams y col.,

1987; Williams, 1990). Más de 6 días de destete temporario serían necesarios para aumentar la secreción de LH y asegurar la ovulación en todas las vacas en buena condición corporal (Williams, 1990), lo que explicaría el 100% de tasa de ovulación (Shively y Williams, 1989).

En conclusión, los terneros mantenidos con vacas mastectomizadas exhiben un pseudoamamantamiento crónico, el que se define como la posición del ternero en posición perpendicular reversa. La mera percepción de la vaca de ser mamada por su hijo, puede ser suficiente para prolongar el período anovulatorio (Silvera y col., 1993; Williams y Griffith, 1995; Lamb y col., 1997; Lamb y col., 1999).

2.3.1.2 Efecto Toro.

La presencia del toro disminuye el intervalo posparto acelerando la reanudación del ciclo estral (Short y col., 1990). El momento adecuado de ingreso de toros, para obtener un efecto estimulante estaría dado en los primeros 30 días posparto. Los toros inducirán una señal que produce la liberación de GnRH del hipotálamo y la siguiente secreción de LH de la hipófisis. La naturaleza de la (s) señal (es) no es del todo conocida, en bovinos pero podría estar relacionada a feromonas o a otro tipo de señales (auditivas, táctiles, olfativas y/o visuales) (Rodríguez Blanquet, 2002).

Rodríguez Blanquet, (2002) realizó una exhaustiva revisión sobre este tema y concluye que el efecto toro en vientres primíparos y múltiparos presenta resultados neutros o positivos en las distintas variables reproductivas estudiadas para bovinos de carne.

2.3.2 Métodos hormonales.

2.3.2.1 Hembras cíclicas (sincronización).

El tratamiento o los tratamientos elegidos para la sincronización de los celos en los bovinos ciclando, siempre aplican agentes luteolíticos (Prostaglandina F_{2α}). Esto implica por definición la presencia de un cuerpo lúteo, el que se encuentra generalmente en vaquillonas, vacas sin ternero y una proporción variable de vacas con ternero al pie (Alberio, 2003). En hembras ciclando, los tratamientos para sincronización del estro resultan en altas tasas de preñez pudiendo llegar estas a más del 60% (Cavestany y col., 2002).

2.3.2.1.1 Uso de prostaglandinas.

Como ya fue dicho, los agentes luteolíticos por excelencia son las prostaglandinas F_{2α}, tanto naturales como sintéticas. Son las más utilizadas en programas de sincronización de celos en animales que posean cuerpo lúteo ya sean

vaquillonas, vacas sin ternero y una proporción de vacas con ternero al pie (Odde, 1990; Larson y Ball, 1992; Alberio, 2003). En bovinos, el celo ocurre promedialmente 2-4 días después de la luteólisis. El cuerpo lúteo inmaduro es refractario a los efectos de la PGF2 α durante los primeros 1-4 días después de la ovulación (Biogénesis, 2001; Mapletoft y col, 2001).

Una inyección de PGF2 α entre los días 5 y 17 del ciclo causa una regresión inmediata del cuerpo lúteo, la concentración de progesterona declina rápidamente a concentraciones basales a las 24 horas, se incrementa la frecuencia de pulsos de LH y estradiol en plasma. Esto provoca la presencia de celo y la ovulación se da en el momento esperado con respecto al celo (Roche, 1999; Hansel y Beal, 1978 citado por Alberio, 2001).

El folículo dominante capaz de ovular está presente por un tiempo específico durante la vida de la onda folicular. Por lo tanto, la respuesta a los tratamientos va a ser variable dependiendo del estado de la onda que se tenga al momento de aplicar el agente luteolítico. La luteólisis necesita ser sincronizada junto a la selección de un folículo dominante preovulatorio para obtener un comienzo preciso del estro (Roche, 1999; Alberio, 2001). Esto significa que la PGF2 α lisa el cuerpo lúteo rápidamente, pero no controla el desarrollo de la onda folicular. Por consiguiente, al aplicar una dosis luteolítica, podemos encontrar los folículos desde las primeras etapas del reclutamiento hasta el mayor tamaño (folículo dominante). Esto determina una gran dispersión (1 a 6 días) de los celos con sus respectivas ovulaciones. Por esta razón no es aconsejable utilizar únicamente PGF2 α en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo.

Existen varios métodos de uso de PGF2 α . Una explicación de ventajas y desventajas de distintos métodos de aplicación en vacas fue realizada por Rodríguez Blanquet (2003).

2.3.2.1.2 Uso de GnRH.

Debido a la limitación de la PGF2 α en controlar la onda folicular, el GnRH o un análogo efectivo puede ser usado para iniciar la emergencia de una nueva onda folicular. Esto maximiza las chances de obtener un folículo dominante “fresco” al momento de inducir la luteólisis 7 días después, ya que causa un agudo incremento de la liberación de LH (por actuar directamente en la adenohipófisis) y por consiguiente en la ovulación del folículo dominante (Roche, 1999). Luego de la ovulación se da la emergencia de una nueva onda aproximadamente 2 días más tarde (Mapletoft et al., 2001).

Un protocolo de sincronización de la ovulación usando GnRH, es el llamado “Ovsynch”, creado por el grupo del Dr. M. Wiltbank (Pursley y col. 1995). Consiste en la administración de GnRH para sincronizar el desarrollo folicular. Esto causa la

ovulación o luteinización de algunos de los folículos presentes, seguido de una inyección de PGF2 α 6 o 7 días después (para inducir luteólisis) y una inyección de GnRH 36 a 48 horas después de la PGF2 α para sincronizar la ovulación (Driancourt, 2000; Mapletoft y col., 2001; Bó y col., 2001). La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se realiza 15 a 24 horas después de la segunda GnRH.

Actualmente, los protocolos de uso de GnRH, que tomaron nombres muy variados son cada vez más complejos y costosos sin que hasta el presente se observen mejoras en los resultados que induzcan al reemplazo de las estrategias originales de aplicación de prostaglandinas F2 α (Alberio, 2003).

2.3.2.1.3 Uso de hCG y eCG (PMSG).

La Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) o Gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG) son usadas al final del tratamiento con progestágenos para estimular el desarrollo folicular en vaquillonas prepúberes, vacas con cría o vacas lecheras en lactancia. Existen discrepancias en su eficiencia en vaquillonas dependiendo de la condición corporal y ciclicidad de los animales (Bó y col., 2001).

El rol de la Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) es unirse a receptores en el folículo y directamente inducir ovulación. Por lo contrario, la GnRH actúa a nivel hipofisiario, estimulando la secreción de LH y por lo tanto la ovulación en algunas vacas (Roche, 1999; Yavas y Walton, 2000b). El estado de la onda folicular al momento del tratamiento afecta la respuesta a hCG y eCG, se inducirá ovulación si hay folículo dominante. La GnRH no lo hará si es dada antes de la selección del folículo dominante. El estro a veces no se expresa cuando ocurre la ovulación y la fase luteal es de corta duración (Roche, 1999).

2.3.2.1.4 Uso de Progestágenos.

El nombre genérico de progestágenos incluye un grupo de compuestos sintéticos similares a la progesterona natural. Dentro de estos compuestos podemos citar los progestágenos de administración oral como el Acetato de Melengestrol (MGA), los implantes subcutáneos de Norgestomet (Crestar, Syncro-mate B) y los dispositivos intravaginales con progesterona (PRID¹, CIDR-B,² DIV-B³, TRIU-B) o progestágenos (acetato de medroxiprogesterona-MAP) (Rodríguez Blanquet, 2002; Alberio, 2003).

El principio del tratamiento en animales cíclicos, consiste en bloquear el ciclo (descarga de LH) lo suficiente como para que todos los animales lleguen a término de su

¹ Progesterone Releasing Intravaginal Device

² Controlled Internal Drug Release

³ Dispositivo intravaginal-B

fase luteal con luteólisis endógena. Luego de retirar el bloqueo se producen el estro y la ovulación. La secreción de FSH no es suprimida, así las ondas continúan emergiendo ante la presencia de un cuerpo lúteo funcional (Odde, 1990; Fernández Abella, 1995; Driancourt, 2000; Mapletoft y col., 2001). Si se atresia la onda folicular existente, comienza la emergencia de una nueva onda aproximadamente 4 días después de comenzado el tratamiento. Esta onda contendrá el folículo que ovulará al final del tratamiento.

Los niveles supraluteales de progesterona (>1ng./ml.) obtenidos a los pocos minutos de la introducción de un dispositivo intravaginal junto a una dosis de estrógenos, provocan la regresión del folículo dominante y aceleran el recambio de las ondas foliculares. Este cese de la secreción de productos foliculares (estrógenos e inhibina) produce el aumento de FSH que va a ser la responsable del comienzo de la emergencia de la siguiente onda folicular. Por otro lado, la extracción del dispositivo determina la caída de progesterona a niveles subluteales que inducen al aumento de la frecuencia de los pulsos de LH, el crecimiento y la persistencia del folículo dominante con altas concentraciones de estradiol que provocan por un lado, el estro, y a nivel endócrino, inducen finalmente el pico de LH que es seguido por la ovulación (Biogénesis, 2003).

Desde la creación de los dispositivos intravaginales se han desarrollado una gran cantidad de protocolos. Los primeros tratamientos evaluados fueron de 14 a 21 días de duración (duran más que la vida del cuerpo lúteo) los que resultaban en una buena sincronización pero de baja fertilidad, principalmente por la formación de folículos persistentes, con ovocitos envejecidos y baja fertilidad (Odde y col., 1990; Kinder y col., 1996; Bó y col., 2001; Mapletoft y col., 2001).

La duración de los tratamientos con progestágenos puede ser reducido con 17 β -estradiol o sus derivados sintéticos, Benzoato de Estradiol (BE) o Valerato de Estradiol (VE), administrados al comienzo del tratamiento con progestágenos, ya que atresian y promueven el surgimiento de una nueva onda folicular, facilitando su control. Este surgimiento se da 4 días después de la administración de dicha hormona (Odde, 1990; Alberio, 2000; Driancourt, 2000; Bó y col., 2001; Biogénesis, 2003). En programas de sincronización de celos, una segunda dosis de estradiol es administrada 24 horas después de la remoción del dispositivo. La finalidad de esta es inducir la liberación de LH, la que ocurre aproximadamente 16-18 horas después, sincronizando la ovulación para IATF (Mapletoft y col., 2001).

2.3.2.2 Hembras acíclicas (Inducción y sincronización).

Muchos tratamientos son usados para la sincronización del estro en ganado ciclando, pero la mayoría de ellos son inefectivos en vacas en anestro y vaquillonas

prepúberes. En la actualidad el uso de fármacos en animales con anestro fisiológico se restringe a la progesterona o progestágenos y estradiol y/o alguna combinación con GnRH y eCG.

2.3.2.2.1 Progestágenos / Progesterona / Benzoato de Estradiol.

El rol de las terapias con progesterona en anestro podría ser el de preparar al cerebro y al útero de manera que el estro se da en la primer ovulación con una subsecuente fase luteal normal. Es posible que también tenga efecto en sobreponerse al potente efecto negativo del estradiol generado en el último día de la gestación, la que suprimiría la pulsatilidad de GnRH y por lo tanto la frecuencia de pulsos de LH durante el anestro (Roche, 1999).

Los componentes claves de un programa de inducción de ciclos estrales fértiles en vacas deben provocar un aumento de progesterona antes de la ovulación como también la secreción pulsátil de LH para promover el crecimiento folicular y secreción de estradiol, activando a la vez el surgimiento preovulatorio de gonadotrofinas lo que posibilita una apropiada maduración del folículo dominante (Day, 2004)

Los tratamientos con progestinas comparados con aquellos que no la incluyen, inducen el reanudamiento de ciclos estrales normales, lográndose altas tasas de sincronización de estro. Estos resultados han sido atribuidos en parte al efecto en incrementar la LH después del retiro del dispositivo además de incrementar los receptores para LH en folículos preovulatorios, estimulando el desarrollo y maduración del folículo dominante en hembras en anestro a diferencia de hembras ciclando (García-Winder y col., 1987; Rhodes y col., 2003).

Según Day (2004), los tres componentes a tener en cuenta en un programa de sincronización de estros y ovulaciones, deberá incluir: períodos cortos de exposición a progestinas (5 a 9 días); inducción de un surgimiento de LH luego de la exposición a progestinas para optimizar el programa utilizando estradiol o GnRH luego de retirado el dispositivo y por último incluir ya sea, estradiol o GnRH al inicio del tratamiento para promover la emergencia sincronizada de nuevas ondas foliculares. Este último punto no está nada claro en vacas en anestro.

En vacas ciclando, el problema de folículos persistentes se corrige parcialmente con el uso de tratamientos “cortos”, atresiando la onda que contiene ese futuro folículo persistente. En vacas en anestro parecería no ser tan importante este problema. Algunos autores sostienen que en la mayoría de éstas no se formarían este tipo de folículos (Rhodes y col., 1997; Perry y col., 2002). Day (2004), concluye en su revisión que sincronizar la onda en vacas en anestro no sería tan importante.

En un estudio realizado en hembras en anestro, usando únicamente CIDR por 7 días se detectó que el 45% de ellas estaban en estro entre el primer y el tercer día de retirado el dispositivo (Lucy y col., 2001). Resultados similares hallaron Fike y col. (1997).

El uso de estradiol (análogo sintético de 17- β estradiol) al final de tratamientos con progestágenos mejora la sincronización del celo y de la ovulación inducida a la vez que mejora la expresión de estro (Mcmillan y Burke, 1996; Fike y col, 1997; Roche, 1999; Alberio, 2003). A través del feedback positivo sobre GnRH, y por lo tanto LH, se induce la ovulación (pico de LH a las 16 – 18 horas), pudiéndose obtener índices aceptables de preñez (Mapletoft, 2000; Bó y col., 2001). Aparentemente los tratamientos que utilizan sólo progestágenos no provee el estímulo suficiente para provocar el surgimiento preovulatorio de LH y ovulación en algunas vacas (Fike y col, 1997).

Si la LH es inducida con GnRH o estradiol, algunas de las vacas que no responden solo al progestágeno, serán capaces de ovular y formar un cuerpo lúteo de vida normal (Day, 2004). Una inyección de estradiol, eCG o destete temporario al momento de la remoción del dispositivo, induce liberación de LH y sincroniza la ovulación del nuevo folículo dominante (Lammoglia y col., 1998; Mapletoft y col., 2001; Alberio, 2003).

La dosis de benzoato de estradiol (BE) con la cual se obtiene la mayor respuesta en sincronización de celos y ovulaciones es de 1mg. en vacas y de 0.4 mg. en vaquillonas, tanto en anestro como ciclando (Lammoglia y col, 1998). En cuanto al momento de aplicación Alberio y col. (1999a) encontraron que la aplicación de BE entre 0 y 24 horas de finalizado un tratamiento con progestágenos tiene un efecto similar sobre la variable analizada (tasa de no retorno al celo luego de una inseminación artificial a tiempo fijo). Cutaia y col. (2001), no obtuvieron estos resultados. Estos investigadores obtuvieron mejores resultados en cuanto a mejor sincronía de ovulaciones y buenos porcentajes de preñez en la IATF aplicando el BE a las 24 horas de remoción del dispositivo intravaginal, que aplicado en el momento de retiro del dispositivo. Day, (2004) mostró en vacas en anestro, que inyectando BE al momento de retirado el CIDR incremento la incidencia de estros sin ovulación.

Alberio y col. (1999b), llevaron a cabo un estudio en que se analizó el porcentaje de celos y tasa de no retorno al celo en un grupo de vacas con cría al pie utilizando dispositivos intravaginales (CIDR nuevo, CIDR reutilizado y esponja impregnada con MAP). Estas tres alternativas evaluadas presentaron resultados biológico similares en dicho trabajo, lo que determina que un criterio de elección en orden de importancia pasaría a ser el costo por animal de cada una de las tres alternativas.

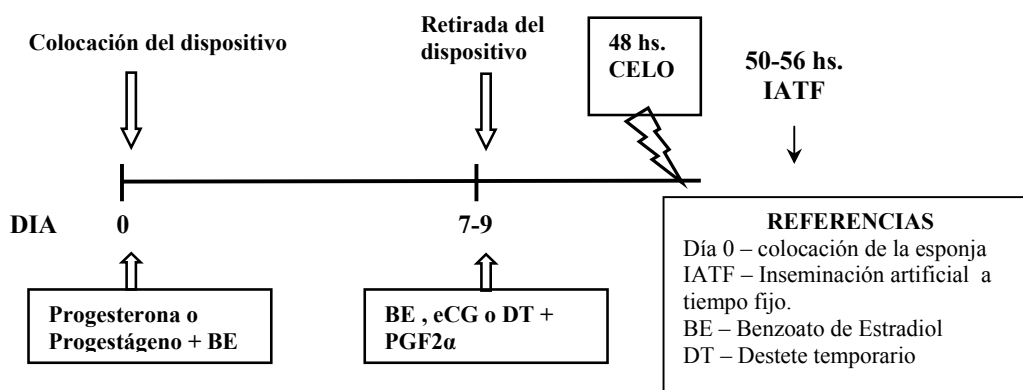
Perry y col. (2004), compararon el uso de CIDR con MGA, concluyendo que el tratamiento con CIDR fue más efectivo que MGA en inducir la iniciación de ciclos

estrales en hembras en anestro y prevenir la ocurrencia de ciclos cortos. Driancourt (2000), asevera que no hay diferencia entre los distintos liberadores de progesterona disponibles comercialmente. En base a estos resultados, parecería que falta más información sobre una evaluación comparativa de los distintos dispositivos liberadores de progestágenos o progesterona.

En la Figura 5 se observa un protocolo clásico de tratamientos con progestágenos en rodeos con vacas ciclando y en anestro (rodeo mixto). El agregado del progestágeno o la progesterona inyectable junto a una inyección de estradiol son capaces de desarrollar una nueva onda folicular que daría lugar al folículo que va a ovular al final del tratamiento es el primer elemento complementario del protocolo base (Alberio, 2000). Esta combinación (progesterona + estrógeno) permite esperar la ovulación de ovocitos de mejor calidad al provenir de los folículos de reciente desarrollo (Alberio, 2003). Tratamientos en vacas postparto en anestro con progesterona y benzoato de estradiol (BE) al comienzo del tratamiento para inducir una ovulación fértil está menos clara que en vacas ciclando normalmente.

La realización de “tratamientos completos” es usado en rodeos con un alto porcentaje de vacas ciclando normalmente. De esta forma no se afecta negativamente a las vacas en anestro, aunque se gasta innecesariamente BE y progesterona/progestágeno (muy bajo costo) y PGF2 α . Para ser más eficiente, del punto de vista de estas tres hormonas, habrá que separar con anterioridad las vacas en anestro y ciclando. El tratamiento citado es usado en rodeos donde hay una proporción de vacas en anestro y otra de hembras ciclando, pero incluyendo una dosis luteolítica de PGF2 α al retiro del dispositivo con progesterona o 24 hs. más tarde (Fike y col., 1997; Fike y col., 1999).

Figura 5: Cronograma de un tratamiento con progestágenos.



Fuente: Alberio, 2003

2.3.2.2.2 Gonadotropinas / GnRH.

Durante el anestro se da la característica formación de ondas foliculares y presencia de folículos que no llegan a ovular. Estos folículos no producen cantidad suficiente de estradiol para inducir el feedback positivo que desencadenará el pico de LH y la ovulación. La ovulación de estos folículos se puede inducir con la administración de estradiol, GnRH, hCG o LH.

El rol de hCG es unirse a los receptores de LH del folículo y directamente inducir la ovulación. Por otro lado el GnRH actúa directamente en la adenohipófisis para inducir la liberación de LH y FSH (Roche, 1999). La FSH o eCG estimulan el crecimiento del folículo dominante sin la subsecuente maduración terminal y eCG causa ovulación del folículo dominante sin la precedente maduración final (Yavas y Walton, 2000b).

Crowe y col. (1993) administrando una sola inyección de un análogo de GnRH durante la fase de crecimiento folicular provocó la formación de cuerpo lúteo de vida corta (~ 8 días) en la mayoría de las vacas. Muchas investigaciones y numerosos trabajos demuestran que las ovulaciones inducidas solo con GnRH, estrógenos o gonadotropinas a vacas en anestro generalmente muestran fases luteales cortas (Day, 2004). Los CL formados luego de una inducción a la ovulación con GnRH o hCG en vacas en anestro, muestran tener una alta incidencia de CL de vida corta (~8 días) en la mayoría de las vacas (Hu y col. 1990). En conclusión, el solo uso de estas hormonas muy probablemente tenga bajos porcentajes de fertilidad.

2.3.3 Métodos biológicos combinados con hormonales

El uso de destete temporario (DT) luego del tratamiento de progestágeno (Norgestomet; tratamiento Shang) fue creado por el equipo del Dr. Wiltbank (Smith y col, 1979). El DT incrementa la concentración de LH e incrementa los receptores a la LH (Walters y col, 1982).

Destetes por períodos cortos (48hs.) asociados con tratamientos hormonales de sincronización de estro, pueden ser efectivos en reducción de problemas de infertilidad (Short, 1990). Sin embargo, Odde (1990) no encontró ventajas en cuanto a tasa de preñez en vacas tratadas con Syncro-Mate B y detectadas temporariamente (48 hs.) comparadas con las no destetadas.

En animales con pobre condición corporal, los folículos pueden necesitar un estímulo extra para crecer y llegar a ovular. Esto se puede conseguir administrando eCG al final del tratamiento con progestágenos. Esta incrementa la producción de estrógenos del folículo preovulatorio presente al final del tratamiento (Roche, 1999; Bó y col, 2001).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN.

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental de Facultad de Agronomía de Salto, Ruta 31, Km. 21 (Latitud 31° 23.8'S; Longitud 54° 18.7'W) y en el Departamento de Flores, Escuela Agraria La Carolina, perteneciente a Universidad del Trabajo, Ruta 23, km. 162.500, Villa Ismael Cortinas. (Latitud 33° 25' S; Longitud 57° 04'00 W).

3.1.1 Suelos y pasturas.

Los suelos de Salto pertenecen a la unidad Itapebí - Tres Árboles (I-TA), correspondientes al grupo 12.11 de la clasificación CONEAT. Están compuestos fundamentalmente por Brunosoles Eútricos Típicos limo-arcillosos moderadamente profundos. El relieve es de valles y lomadas suaves extendidas de materiales de origen basáltico. El drenaje es moderadamente bueno a algo pobre y la fertilidad alta a muy alta. Predominan praderas invernales típicas de tapiz denso.

Los suelos del establecimiento en Flores pertenecen a la Unidad La Carolina correspondientes al grupo 10.12 de la clasificación CONEAT. Los suelos dominantes son Brunosoles Eútricos Típicos y Vertisoles Rúpticos Lúvicos, con vegetación de pradera invierno-estival, de buena calidad. Otra parte corresponden a la Unidad San Gabriel-Guaycurú (grupos 5.02b y 5.3) con dominancia de Brunosoles Subeútricos, con buenas pasturas estivales.

3.2 ANIMALES.

En la Estación Experimental de Salto (EEFAS) se utilizaron 304 vacas con cría al pie, 118 primíparas (paridas a los 3 años) y 186 multíparas (paridas hasta los 9 años) de raza Hereford mayoritariamente y cruce Hereford x Aberdeen Angus en anestro.

En la Escuela Agraria "La Carolina" (La Carolina) se utilizaron 228 vacas únicamente multíparas, de parición primaveral temprana (paridas entre el 22 de agosto y el 14 de octubre), de razas Hereford y Aberdeen Angus en anestro, con edades comprendidas entre los 4 y 9 años. Más del 80% de los animales pertenecían a la raza Aberdeen Angus negro. El Cuadro 1 resume las características más relevantes de los animales utilizados en las dos localidades.

Todas las vacas (n=532) habían parido desde mediados de agosto hasta mediados de octubre, con partos normales y con un intervalo parto – tratamiento entre 25 y 91 días durante 3 años.

Cuadro 1: Descripción de los animales utilizados en Salto y La Carolina.

	SALTO	LA CAROLINA
Nº animales 2001	130	56
Nº animales 2002	77	102
Nº animales 2003	97	70
% múltiparas	61	100
% primíparas	39	0
Raza predominante	Hereford	Aberdeen Angus
IPT (días)	25-91	25-91

IPT: Intervalo parto-tratamiento.

3.3 TRATAMIENTOS.

Los grupos de animales asignados para cada tratamiento fueron distribuidos según edad y fecha de parto en tres tratamientos.

Tratamiento 1 (T1): Esponja intravaginal artesanal de poliuretano durante 7 días, impregnada con 250 mg. de acetato de Medroxiprogesterona (MAP) mas 0.5 mg. de Benzoato de Estradiol a las 24 hs. de retirada la misma (T1: **MAP+BE**; n= 180).

Tratamiento 2 (T2): Esponja intravaginal artesanal de poliuretano durante 7 días, impregnada con 250 mg. de acetato de Medroxiprogesterona (MAP) mas destete temporario a corral durante 5 días al momento de remoción de la misma (T2: **MAP+DT**; n=181).

Tratamiento 3 (T3): Esponja intravaginal de poliuretano durante 7 días, impregnada con 250 mg. de acetato de Medroxiprogesterona (MAP) mas destete temporario durante 5 días mas 0.5 mg. de Benzoato de Estradiol a las 24 hs. de retirado el dispositivo. (T3: **MAP+BE+DT**; n=171)

3.4 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se controló la parición diariamente, determinándose fecha de parto, estado y peso corporal a todos los animales paridos en ese período una vez a la semana. El estado corporal fue realizado utilizando una escala de 1 a 8 (1- muy flaca, 8- muy gorda) (Méndez y col., 1988). Las determinaciones fueron realizadas por el mismo operario en cada uno de los lugares. Se determinó peso y estado corporal nuevamente a la colocación de la esponja.

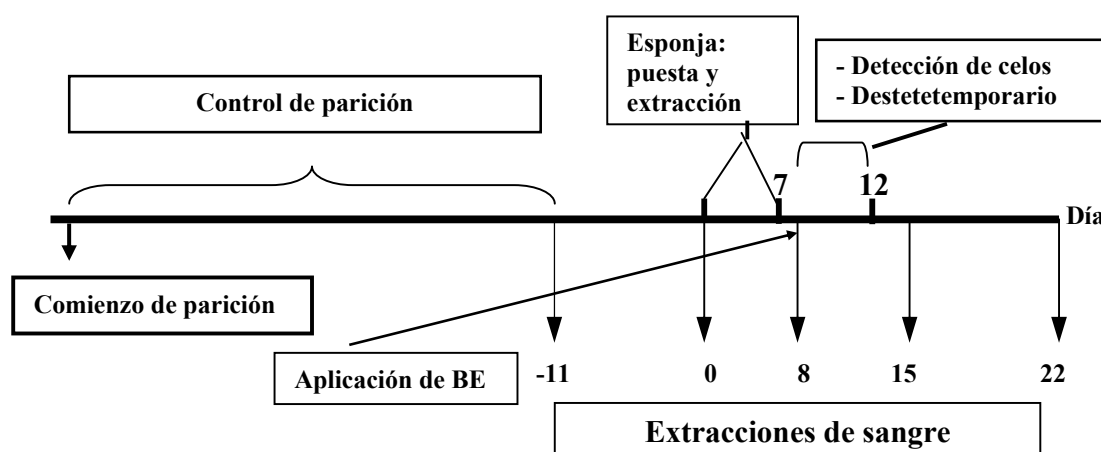
Se extrajo sangre para determinar progesterona (P4) los días -11, 0, 8, 15 y 22

(Día 0 = aplicación de la esponja/comienzo del tratamiento). Para poder diferenciar las vacas en anestro y las que estaban ciclando normalmente se consideró la concentración de progesterona en los días -11 y 0.

La extracción de sangre se realizó vía yugular con jeringa descartable de 10 ml. con el animal encefado. Una vez finalizada esta etapa se trasladaron las muestras de sangre al laboratorio donde inmediatamente se centrifugaron a 2000 rpm. durante 20 minutos. El suero obtenido se colocó en tubos de Eppendorff que se conservaron en freezer a una temperatura de -20°C hasta el traslado al laboratorio para su análisis. La determinación de progesterona en suero se realizó por prueba de radioinmunoanálisis con un kit en fase sólida (Coat-a-count, DPC, Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, USA). El trazador empleado fue el I^{125} . El rango de curva standard o de calibración fue: 0, 1, 5, 10, 20 y 40 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo e interensayo (precisión intra e interensayo) fue 6.3% y 7.7% respectivamente.

En la Figura 6 se esquematiza el procedimiento seguido en el trabajo de campo, siendo idéntico para los todos los animales en los tres años de trabajo.

Figura 6: Esquema del procedimiento seguido con los animales durante y después de la parición.



Se colocó la esponja con ayuda de un vaginoscopio. La esponja artesanal está diseñada de poliuretano (Extrafirme D20) impregnada con Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) la cual posee un hilo de algodón parafinado que la atraviesa para facilitar el retiro de la misma. Se administraron 50 mg. de oxitetraciclina a la esponja previo a la colocación para prevenir infecciones locales.

Al retirar la esponja intravaginal no se registraron infecciones locales. Las pérdidas de estos dispositivos fueron 0.35% (2/548) para los dos lugares y los tres años. Las vacas ciclando antes de comenzar el tratamiento fueron del 2.5%(14/548).

Las vacas de los tres tratamientos fueron llevadas a un potrero alejado de modo que los animales correspondientes al tratamiento 2 y 3 (T2 y T3) no pudieron tener contacto con sus terneros de forma auditiva, olfativa o visual. El potrero asignado era de campo natural con disponibilidad de agua y sombra. A partir de la tarde de sacada la esponja (12 horas después), se comenzó con la determinación de celo hasta el día 12, momento en que las vacas regresaron con sus terneros (Figura 6). La determinación de celo se realizó con la regla AM/PM por un espacio mínimo de 45 minutos, dos veces por día. Durante los tres años y las dos localidades estuvo presente el mismo operario en la etapa de detección de celos.

Los datos fueron clasificados según las siguientes categorías:

- 1) Conducta homosexual pasiva
- 2) No mostró celo. Estas vacas no exhibían ninguna conducta de celo
- 3) Vacas nerviosas que no presentaron conducta homosexual. Este tipo de vacas no se observó en ninguno de los dos lugares ni en los tres años.

El criterio para la elección de los animales fue el de haber tenido partos normales, que tuviesen ternero al pie, que se encuentren en anestro (determinado por análisis de progesterona) y con un intervalo parto-tratamiento mínimo de 25 días. Las vacas que perdieron la esponja y/o que se encontraban ciclando se sacaron del análisis.

Para determinar el estado de anestro al inicio del tratamiento, se estableció el criterio de 0.5 ng/ml. de progesterona, como mínimo, entre los días -11 y 0. Este fue utilizado por Perry y col. (1991) demostrando que esta cantidad es suficiente para indicar presencia de cuerpo lúteo en vacas amamantando.

Aquellos animales que quedaron se clasificaron luego de la aplicación de los tratamientos, de acuerdo con su actividad luteal según la clasificación de Fike y col. (1997). Se consideró que levantaron anestro las vacas pertenecientes a los grupos 2, 3, 4 y 5.

- 1) **Anestro:** aquellas vacas que tuvieron concentraciones menores a 0.5 ng/ml en los días 8, 15 y 22.
- 2) **Ciclo estral “corto” (CL de vida corta):** aquellas vacas que tuvieron concentraciones basales de progesterona en los días 0 y 8, un incremento mayor a 0.5 ng/ml en el día 15 pero volvieron a valores basales en el día 22.

- 3) **Cuerpo lúteo “tardío”**: aquellas vacas con concentraciones basales de progesterona en los días 0 y 8, seguidos por un incremento no mayor de 0.5 mg/ml en el día 15, pero con valores mayores a 0.5 ng/ml en el día 22.
- 4) **Cuerpo lúteo “temprano”**: se consideraron aquellas vacas con concentraciones basales de progesterona en el día 0 y que superaron al valor de 0.5 ng/ml en el día 8 fueron consideradas que estaban en metaestro en el día 0 o habían ovulado en el período de 7 días de colocada la esponja.
- 5) **Cuerpo lúteo “de vida normal”**: se consideraron aquellas vacas que presentaban concentraciones basales de progesterona los días 0 y 8 y que ésta se elevó a valores mayores de 0.5 ng/ml en los días 15 y 22.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las variables analizadas fueron:

- Porcentaje de celos (**%C**): vacas en celo sobre el total de vacas x 100.
- Porcentaje de formación de cuerpo lúteo total (**%FCL total**): vacas con FCL sobre el total de vacas x 100.
- Porcentaje de formación de cuerpo lúteo tipo 5 total (**%FCL total fase luteal normal**): vacas con FCL de fase luteal normal (tipo 5) sobre el total de vacas x 100.
- Porcentaje de vacas con formación de cuerpo lúteo que manifestaron celo (**%FCL con celo**): vacas con FCL con celo detectado sobre el total de vacas x 100.
- Porcentaje de vacas con formación de cuerpo lúteo de fase luteal normal con manifestación de celo (**% FCL fase luteal normal y celo**): vacas con FCL de fase luteal normal con celo sobre el total de vacas x 100.
- Intervalo fin de tratamiento-celo (**ITC; horas**): intervalo entre el retiro de la esponja y la detección de celo.

Para establecer diferencias estadísticas se utilizó un nivel de significancia del 5% de probabilidad de cometer error Tipo 1 ($P < 0.05$), en el siguiente cuadro se muestran los diferentes modelos utilizados para cada una de las variables analizadas.

Las variables peso vivo, condición corporal, intervalo parto-tratamiento e intervalo fin de tratamiento celo, fueron analizadas usando modelos lineales

generalizados. Para ello se usó el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS versión 8.2.

Las variables celo, formación de cuerpo lúteo total y formación de cuerpo lúteo de vida normal, fueron analizadas usando modelos lineales generalizados, asumiendo que la presencia de respuesta positiva en un individuo tiene distribución Bernoulli. Se usó el procedimiento GENMOD del mismo paquete estadístico.

Para determinar si la formación de grupos estuvo bien realizada en cada localidad y año, para las variables peso, condición corporal e intervalo parto-tratamiento, se ajustó un modelo lineal de la forma:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} es la variable de respuesta

μ es la media general

t_i es el efecto del i-ésimo tratamiento hormonal

ε_{ij} es el error experimental

Los modelos para evaluar las horas desde la extracción de la esponja hasta la determinación de celo (ITC), variaron de acuerdo a si el análisis era conjunto para vacas de parición temprana, o en una sola localidad (parición temprana y tardía para EEFA y sólo temprana para La Carolina). Para el análisis conjunto de las vacas de parición temprana, el modelo lineal fue de la forma:

$$Y_{nklmno} = \mu + \lambda_i + \varphi_j(\lambda_i) + \alpha_k + t_l + (\alpha_t)_{kl} + \eta_m + \phi_n (\eta_t)_{lm} (\phi\tau)_{ln} + \varepsilon_{ijklmno}$$

Donde:

Y_{nklmno} es la variable de respuesta: horas desde aplicación de la esponja.

μ es la media general.

λ_i es el efecto de la i-ésima localidad.

$\varphi_j(\lambda_i)$ es el efecto de la j-ésima categoría anidada en la localidad.

α_k es el efecto del k-ésimo año.

t_l es el efecto del l-ésimo tratamiento hormonal.

$(\alpha_t)_{kl}$ es la interacción entre año y tratamiento

η_m es el efecto de la m-ésima categoría de día de parto.

ϕ_n es el efecto de la n-ésima categoría de condición corporal

$(\eta_t)_{lm}$ es la interacción entre días de parto y tratamiento
 $(\phi_t)_{lm}$ es la interacción entre condición corporal y tratamiento.
 $\varepsilon_{ijklmno}$ es el error experimental.

Las medidas de los factores significativos, fueron separadas usando el test de Tukey.

Para las variables celo, formación de cuerpo lúteo y formación de cuerpo lúteo de vida normal, los modelos lineales generalizados tuvieron la siguiente forma en el caso de análisis conjunto de EEFAS y La Carolina de vacas de parición temprana:

$$\text{Ln} (P_{ijklmn} / (1-P_{ijklmn})) = \mu + \lambda_i + \varphi_j(\lambda_i) + \alpha_k + t_l + (\alpha_t)_{kl} + \eta_m + \phi_n (\eta_t)_{lm} (\phi_t)_{lm}$$

Donde:

P_{ijklmn} es la probabilidad de éxito (celo, formación de CL o formación de CL de vida normal)

μ es la media general.

λ_i es el efecto de la i-ésima localidad.

$\varphi_j(\lambda_i)$ es el efecto de la j-ésima categoría anidada en la localidad.

α_k es el efecto del k-ésimo año.

t_l es el efecto del l-ésimo tratamiento hormonal.

$(\alpha_t)_{kl}$ es la interacción entre año y tratamiento

η_m es el efecto de la m-ésima categoría de día de parto.

ϕ_n es el efecto de la n-ésima categoría de condición corporal

$(\eta_t)_{lm}$ es la interacción entre días de parto y tratamiento

$(\phi_t)_{lm}$ es la interacción entre condición corporal y tratamiento.

La función $\text{Ln} (p/(1-p))$ es la función nexo logit, que relaciona el parámetro de interés (probabilidad de ocurrencia) con el modelo lineal.

En todos los modelos lineales generalizados, el supuesto fue que la variable número de éxitos (celos, formación cuerpos lúteos o formación de cuerpos lúteos categoría 5), en relación al número de vacas tratadas, tuvo distribución binomial. En todos los casos se ajustó por sobredispersión.

4. RESULTADOS

Los grupos de animales seleccionados para cada tratamiento no presentaron diferencias significativas ($P>0.005$) para peso y estado corporal determinado al parto y al momento de colocación de la esponja, ni para el intervalo parto-tratamiento ($P>0.10$).

Cuadro N°2: Valores promedio y desvíos estándares de condición corporal y peso al parto y al momento de colocación de la esponja e Intervalo parto-tratamiento de las vacas utilizadas para Salto según Año y Tratamiento.

SALTO							
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2001	1	45	378.7±48.6	380.5±51.3	3.75±0.49	3.72±0.47	44.5±9.50
	2	43	386.4±50.7	382.9±50.7	3.67±0.53	3.66±0.44	45.4±9.83
	3	42	389.6±54.4	395.5±52.8	3.71±0.56	3.82±0.44	46.4±8.49
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2002	1	25	387.2±50.7	391.6±48.5	3.60±0.50	3.58±0.73	44.2±7.96
	2	27	383.6±41.2	390.6±44.6	3.55±0.62	3.59±0.60	47±7.86
	3	25	391.7±44.4	397.9±40.5	3.72±0.59	3.78±0.50	45.4±7.0
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2003	1	34	376.2±43.1	370.8±98.2	3.41±0.68	3.38±0.59	46.8±10.89
	2	34	383.0±50.9	372.2±53.4	3.27±0.65	3.24±0.56	47.4±10.64
	3	29	394.3±37.7	386.1±39.8	3.43±0.53	3.53±0.50	45.8±9.83

LA CAROLINA							
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2001	1	19	406.4±42.2	415.5±39.9	3.74±0.51	3.58±0.65	53.1±17.4
	2	19	403.5±31.9	414.2±33.8	3.73±0.42	3.79±0.61	52.7±17.2
	3	18	409.4±39.9	417.4±46.2	3.75±0.55	3.91±0.79	53.4±16.6
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2002	1	34	379.5±31.9	400.6±37.8	3.19±0.43	3.55±0.38	43.9±10.6
	2	34	393.7±33.0	414.2±34.4	3.35±0.48	3.66±0.40	43.9±12.6
	3	34	392.2±30.4	406.1±37.6	3.42±0.58	3.58±0.48	44.6±14.2
Año	Trat	n	P0	P1	E0	E1	IPT
2003	1	23	391.9±35.2	423.7±35.2	3.54±0.54	4.23±0.49	49.1±13.9
	2	24	391.2±49.9	403.1±42.1	3.68±0.44	4.10±0.39	47.3±12.2
	3	23	392.9±42.2	406.6±33.8	3.63±0.48	4.08±3.32	50.9±13.7

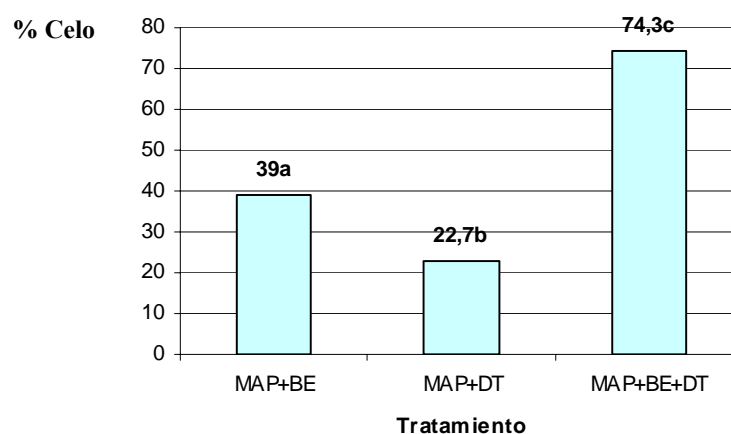
Referencias: P0=peso al parto; P1=peso al inicio del tratamiento; E0= estado corporal al parto (1 a 8); E1= estado corporal al inicio del tratamiento (1 a 8); IPT= intervalo parto - tratamiento.

En el Cuadro 2 se resumen datos para cada una de las localidades, de días desde el parto a colocación de la esponja (IPT), Estado corporal (E0 y E1) y Peso (P0 y P1) al parto y al inicio del tratamiento, para los tres años y tratamientos (ver ítem 3.3).

Para la variable **%Celo** se encontró efecto del tratamiento, del año, de la localidad y de la interacción año x tratamiento. No se obtuvieron efecto de la categoría, estado corporal a la colocación de la esponja, intervalo parto-tratamiento ni de las interacciones simples de estas tres últimas variables con tratamiento ($P>0.77$) (ver Cuadro 4).

El tratamiento con mayor porcentaje de celo lo mostró MAP+BE+DT (74.3%) seguido por MAP+BE (38.7%) y MAP+DT (22.7%) que resultaron tener diferencias estadísticas ($P<0.05$) entre sí (Gráfico 1 y Cuadro 5).

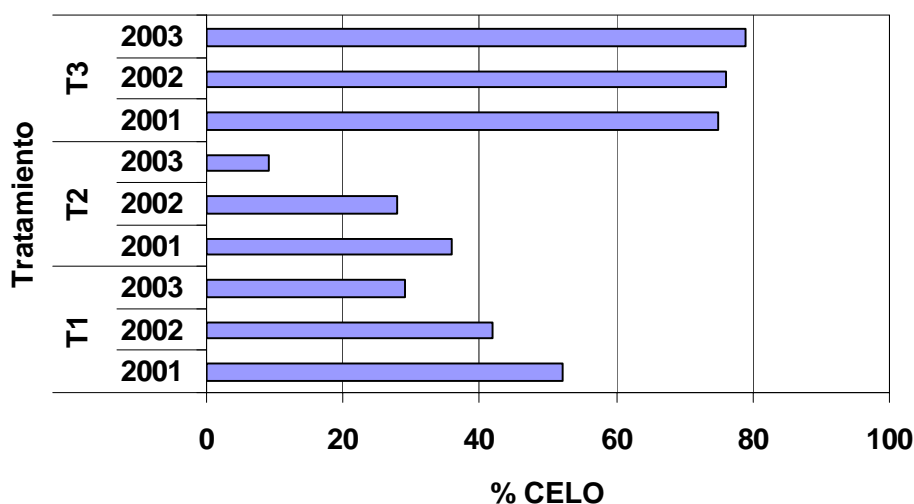
Gráfico 1: Porcentaje de celo según tratamiento.



a,b,c: Diferentes letras difieren significativamente entre sí ($P<0.05$).

En el gráfico 2 se observa el porcentaje de celo según año para los tres tratamientos. Para los años 2001, 2002 y 2003 los porcentajes de celo fueron 55% (a), 47% (a) y 32% (b) respectivamente.

Grafico 2: Porcentaje de celo total según año y tratamiento.



En cuanto al efecto de la localidad en el porcentaje de celos se observó superioridad en La Carolina (54.6%) respecto a Salto (34.6%).

Cuadro 3: Probabilidades obtenidas de los modelos corridos.

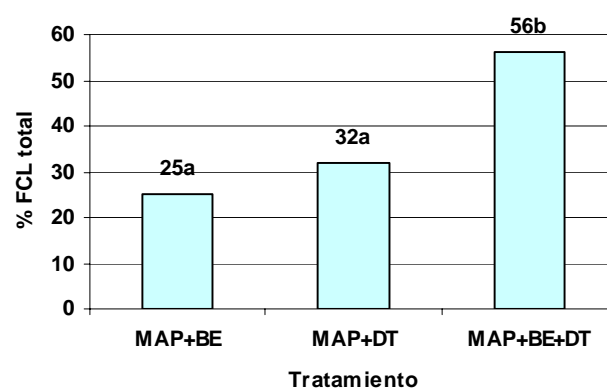
VARIABLES DEPENDIENTES	VARIABLES INDEPENDIENTES								
	Año	Trat.	E1	IPT	Año-Trat.	E1-Trat.	IPT-Trat.	Categ.	Loc.
%Celo	0.005	<.0001	0.76	0.98	0.04	0.92	0.84	0.78	0.0003
%FCL total	0.07	<.0001	0.36	0.88	0.92	0.85	0.95	0.58	0.71
%FCL total con celo	0.11	0.003	0.36	0.31	0.56	0.98	0.43	0.78	0.83
%FCL tipo 5	0.01	0.0001	0.33	0.26	0.34	0.31	0.88	0.06	0.20
%FCL tipo 5 con celo	0.22	.0004	0.38	0.003	0.75	0.75	0.15	0.44	0.54
Horas	<.0001	<.0001	0.0002	0.52	0.009	0.0006	0.82	0.13	<.0001

Referencias: E1= Estado corporal al inicio del tratamiento (1 a 8); IPT= intervalo parto – tratamiento; Loc.= localidad; Categ.= categoría; FCL= Formación de Cuerpo lúteo.

Para la variable **%FCL total** se encontró efecto del tratamiento, no siendo afectado por las demás variables estudiadas ($P \geq 0.36$) (ver Cuadro 3).

El tratamiento que mostró mayor formación de cuerpo lúteo total fue MAP+BE+DT (54 %) con respecto a MAP+BE (25%) y MAP+DT (32%) que resultaron iguales e inferiores como se observa en el Gráfico 3 y Cuadro 4.

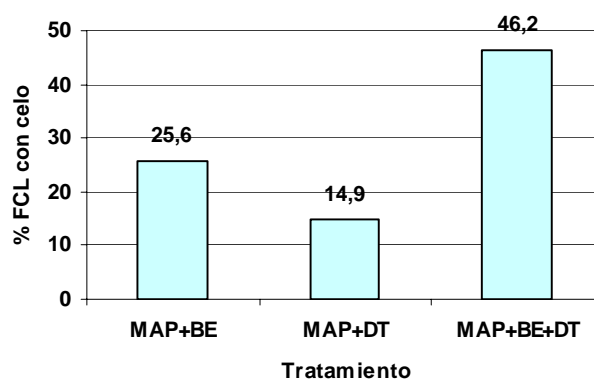
Gráfico 3: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo total según tratamiento.



a,b: Diferente letra difieren significativamente entre sí ($P < 0.05$).

Para **%FCL total con celo** se encontró solamente efecto del tratamiento (Cuadro 3). El tratamiento MAP+DT+BE resultó superior a MAP+BE y a MAP+DT (ver Gráfico 4).

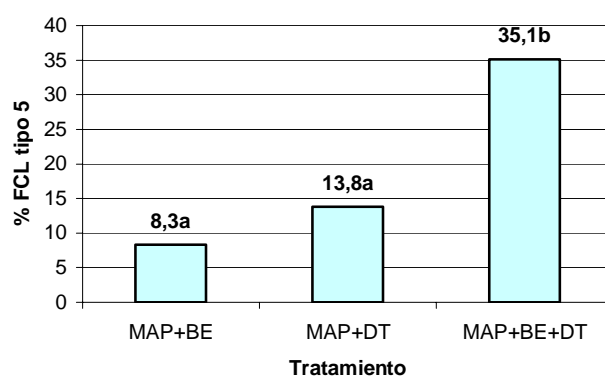
Gráfico 4: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo con celo según tratamiento.



a,b: Diferente letra difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

Para la variable **%FCL de fase luteal normal** (tipo 5), se encontró efecto de los tratamientos y del año. No hubo efecto del resto de las variables analizadas (Cuadro 3).

Grafico 5: Porcentaje de FCL de vida normal según tratamiento.



a,b: Diferente letra difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

El tratamiento MAP+BE+DT fue superior a los otros dos tratamientos, no existiendo diferencia significativa entre estos dos últimos (ver Grafico 5 y Cuadro 4). Los resultados fueron 16% y 9% para vacas múltiparas y primíparas respectivamente.

Cuadro 4: Resumen del porcentaje de vacas que presentan celo y distinto tipo de cuerpo lúteo según tratamiento en vacas de parición temprana.

	MAP+BE	MAP+DT	MAP+BE+DT
%Celo	39a	22.7b	74.3c
% FCL total	25a	32b	56.7b
% FCL total con celo	25.6	14.9	46.2
% FCL fase luteal normal	7a	11b	33b
%FCL fase luteal normal con celo	5a	8.3a	29.8b

a,b,c: Valores con diferente letra difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

En cuanto al efecto año se observa en el Cuadro 5 los porcentajes de formación de cuerpo lúteo de vida normal (tipo 5) para los tres años y los tres tratamientos. Se observa como el tratamiento MAP+BE mostró los menores resultados independientemente del año.

Cuadro 5: Porcentaje de formación de cuerpo lúteo de vida normal para los tres años y tratamientos.

AÑO	MAP+BE	MAP+DT	MAP+BE+DT
2001	12	37.5	46
2002	3	22	40
2003	8.5	23.5	27

El % FCL de fase luteal normal y celo, fue afectado únicamente por el tratamiento y por el intervalo parto-tratamiento. El resto de las variables no tenían efecto estadísticamente significativo ($P>0.15$) (cuadro 3). El tratamiento 3 resultó mayor a los otros dos tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 6: Número y porcentaje de vacas para cada tratamiento con y sin celo que formaron los distintos tipos de cuerpo lúteo.

		CLASIFICACION POR ACTIVIDAD LUTEAL						
Celo	Trat.	1	2	3	4	5	Total	Σ
0	1	89 (81%)	6 (5.5%)	7 (6.3%)	2 (1.8%)	6 (5.4%)	110	294
	2	108 (77%)	6 (4.3%)	8 (5.7%)	8 (5.7%)	10 (7.1%)	140	
	3	26 (59%)	5 (11.3%)	3 (6.8%)	1 (2.3%)	9 (20.4%)	44	
1	1	46 (65%)	7 (10%)	4 (5.7%)	4 (5.7%)	9 (12.8%)	70	238
	2	14 (34%)	8 (19.5%)	4 (9.7%)	0	15 (36.6%)	41	
	3	48 (37.8%)	12 (9.4%)	9 (7%)	7 (5.5%)	51 (40.1%)	127	
total		331	44	35	22	100	532	532

Referencias: Celos 0 - no mostraron conducta sexual; Celos 1 - mostraron conducta sexual; 1- anestro; 2-CL corto; 3- CL tardío; 4- CL temprano; 5- CL de vida normal.

En el cuadro 6 se observa que del total de animales ($n= 532$), 331 no salieron del estado de anestro y 100 de ellos “formaron” cuerpos lúteos de vida normal, el resto de las vacas formaron los otros tipos de cuerpos lúteos (2, 3 y 4).

El cuadro 7 muestra el número y porcentaje de animales para algunas de las variables analizadas (FCL total y FCL tipo 5) y para los tres tratamientos.

Cuadro 7: Número y porcentaje de vacas que presentaron FCL total y FCL de vida normal según tratamiento con y sin celo.

	FCL total		FCL tipo 5	
	n	%	n	%
TRATAMIENTO 1 (n= 180)				
Sin celo	21	11.7	6	3.3
Con celo	46	25.6	24	13.3
Combinada	67	37.2	30	16.7
TRATAMIENTO 2 (n= 181)				
Sin celo	32	17.7	10	5.5
Con celo	27	14.9	15	8.3
Combinada	59	32.6	25	13.8
TRATAMIENTO 3 (n= 171)				
Sin celo	18	10.5	9	5.3
Con celo	79	46.2	51	29.8
Combinada	97	56.7	60	35.1

Otros tipos de cuerpos lúteos no fueron considerados en el análisis estadístico por representar tamaño de muestra insuficiente para utilizar en el modelo y obtener resultados confiables. El número y porcentaje de animales que presentaban los distintos tipos de cuerpos lúteos se observan en los cuadros 7 y 8 para los tres años, los tres tratamientos y la presencia o no de celo.

El **Intervalo fin de tratamiento – celo** (tiempo medido en horas desde que se sacó la esponja hasta que las vacas mostraron celo) fue afectada por la localidad, el año, tratamiento, el estado corporal, la interacción año x tratamiento y la interacción tratamiento x estado corporal (ver Cuadro 3 y Cuadro 8).

Respecto a la localidad se observó en la Estación Experimental de Salto, que las horas desde que se extrajo la esponja hasta que las vacas mostraron celo fueron superiores estadísticamente a las de La Carolina (65.5 horas vs. 57.6 horas).

El intervalo fin de tratamiento – celo varió entre años, siendo 70.9a, 60.5b y 53.1c horas para el 2001, 2002 y 2003 respectivamente.

Para el tratamiento 1, 2 y 3 se observaron 60±8a, 70±20.4b y 54±9.5c horas respectivamente.

El Cuadro 8 resume el intervalo en horas y el desvío estándar correspondiente, observado para los tres tratamientos en las dos localidades y los tres años.

Cuadro 8: Intervalo en horas fin de tratamiento-celo para los tres tratamientos según localidad y año (medida \pm DE).

	MAP+BE	MAP+DT	MAP+BE+DT
Salto			
2001	81.3 \pm 5.1	81.0 \pm 5.1	74.0 \pm 7.5
2002	58.8 \pm 3.8	60.0 \pm 20.8	52.0 \pm 5.8
2003	48.0 \pm 0.0	54.0 \pm 6.9	51.0 \pm 5.3
La Carolina			
2001	52.0 \pm 7.8	78.5 \pm 26.5	48.8 \pm 5.5
2002	52.8 \pm 6.1	75.7 \pm 23.7	49.3 \pm 3.8
2003	58.7 \pm 4.0	-	51.0 \pm 5.3

Los resultados para los tratamientos 1 y 2, para las vacas que presentaban estados corporales mayores a 4, fueron que tenían más horas desde la extracción de la esponja hasta que mostraban celo (64.8 horas) comparado con las que tenían valores de condición corporal \leq 3.5 (58 horas).

5. DISCUSIÓN

Los factores que pueden explicar las diferencias en los resultados obtenidos pueden identificarse como: condición corporal, uso de benzoato de estradiol, categoría, intervalo entre el parto y tratamiento.

Fike y col. (1997) obtuvieron valores de 60% de Celo y 82% de FCL total, usando un progestágeno por 7 días (CIDR) y 1 mg. de Benzoato de Estradiol, trabajando con vacas amamantando en anestro (25-50 días entre parto y tratamiento), estando el 75% de ellas con condición corporal entre 3.5 y 5.4 (escala 1-9). Los resultados obtenidos en el presente experimento fueron de 40% y 25% para las variables citadas anteriormente. Los resultados superiores obtenidos podría deberse a que estos autores utilizan animales con mejor condición corporal y una dosis mayor de BE (1 mg).

La misma dosis utilizaron Lammoglia y col. (1998). Estos encontraron que para vaquillonas y vacas múltiparas postparto (30 a 60 días) de un rodeo mixto (en anestro y ciclando), aplicándoles un dispositivo intravaginal (CIDR) durante 7 días junto a una dosis luteolítica inicial de PGF 2α y una dosis de 1 mg. por animal de Benzoato de Estradiol al retiro del dispositivo, se obtuvieron 64% de celos en los 5 días posteriores a la remoción del CIDR, similares a los encontrados por Fike y col. (1997) trabajando con vacas en anestro únicamente.

Bó y col. (2001) también mencionan como dosis óptima a utilizar 1 mg de BE 24 horas después de la remoción del dispositivo intravaginal. Pero Alberio y col., (1999a) no obtuvieron diferencias entre utilizar una dosis de BE de 0.45 mg o de 0.7 mg 24 hs luego de retirado el dispositivo intravaginal. Estos autores mostraron en vacas Aberdeen Angus con terneros al pie (30 a 60 días de paridas), sin especificar el estado de ciclicidad de las hembras, y con similar condición corporal que la del presente experimento, que aplicando una esponja impregnada con MAP y una dosis de 0.45 mg de Benzoato de estradiol 24 hs después de la remoción de la misma, se obtuvo un porcentaje de celos de 69.6%, valor muy superior al obtenido por el tratamiento I del presente experimento.

Driancourt (2000), aseveró que no hay diferencias entre los distintos progestágenos disponibles comercialmente. Alberio y col. (1999b) mostraron que el uso de CIDR o esponja impregnada con MAP en vacas con terneros de 30 a 60 días de edad, presenta resultados biológicos similares.

Doray y col. (1995) trabajando con 41 vacas Angus múltiparas en anestro obtuvo bajos valores de actividad luteal (37.5% de FCL total) aplicándoles una esponja intravaginal con MAP y destete temporario durante 48 horas.

Es posible que los bajos valores de %FCL se deban al tiempo de destete realizado. Los destetes de corta duración (48-72 horas) usualmente no resultan en un

mayor número de celos o en mayores respuestas ovulatorias (Shively y Williams, 1989), por lo que la remoción del ternero por 48 horas restablece rápidamente esa inhibición luego de que el ternero vuelve a tener contacto con su madre. Por lo que sería de cuestionable utilidad para inducir actividad cíclica en la mayoría de las vacas (Shively y Williams, 1987; Williams y col., 1987; Williams, 1990).

Smith y col. (1979), mostraron que el uso de destete temporario de corta duración (48 a 60 horas) en combinación con un progestágeno incrementó el número de vacas detectadas en celo y preñadas entre los 4 y 21 días de remoción del implante con progestágeno (Norgestomet), no habiendo diferencia estadística entre ambos tiempos de separación.

En el trabajo citado anteriormente, Doray y col. (1995) trabajando con los mismos animales, obtuvieron bajos valores de ovulación (40% FCL total), similares al presente trabajo, aplicándoles esponja con MAP, destete temporario durante 48 horas y 0.40 mg de Benzoato de Estradiol.

El tratamiento MAP+BE+DT con clara superioridad de resultados, utilizaría el efecto sinérgico del aumento de LH provocado por el destete temporario, y por otro lado, el aumento de LH provocado por la dosis de BE administrada.

La variable % Celo fue afectado por tratamiento, localidad, efecto año e interacción año-tratamiento. El tratamiento que mostró los resultados mas altos para esta variable fue el tres, incluso si se observan los resultados dentro de cada año. El efecto año se puede deber en parte a que la baja eficiencia de detección de celos a campo la que depende de la hora, frecuencia y duración de las observaciones. La detección dos veces al día (mañana y tarde), una hora al amanecer y una al atardecer, como se realizó en este experimento, es tan efectiva como la detección tres veces por día (mañana, mediodía y tarde), siempre y cuando la detección de la mañana se realice al amanecer por la mayor ocurrencia de celos en estas horas (INIA, 1993). El efecto localidad que se vió en esta variable puede estar dado por las distintas razas predominantes en cada lugar viéndose que hubo mayor porcentaje de celos en La Carolina donde predominó la raza Aberdeen Angus.

Para la variable % FCL total se vio que el mayor porcentaje lo mostró el tratamiento MAP+BE+DT. Al mismo tiempo esta variable es de gran importancia en establecimientos donde se aplique IATF, así se logra independizarse del comportamiento estral y la detección de celos, como ya fue mencionado.

Se puede observar que el tratamiento 3 presenta el menor número de animales en anestro después de la aplicación del tratamiento, y el mayor número de cuerpos lúteos formados de vida normal. Es de destacar que el porcentaje de formación de cuerpo lúteo

no se vio afectado por estado corporal, intervalo parto-tratamiento, categoría ni por localidad al igual que los resultados obtenidos por Fike y col. (1997).

La variable %FCL con celo mostró los mejores resultados en los tratamientos MAP+DT y MAP+BE+DT. Este, cuantifica el impacto de los tratamientos en los animales, buscando aquellos que presentaron celo y a su vez formación de cuerpo lúteo.

Como ya fue mencionado, el tratamiento MAP+BE+DT también resultó superior en cuanto a % FCL de vida normal. No se observó efecto de la condición corporal sobre esta variable, posiblemente porque todos los animales se encontraban con un estado nutricional adecuado para cumplir funciones reproductivas.

Las concentraciones bajas de progesterona se asocian a ciclos cortos anovulatorios, pero altas concentraciones (>1 ng/ml) obtenidas mediante la aplicación de dispositivos intravaginales impregnados con progesterona, provocan el recambio folicular, induciendo la diferenciación normal a nivel de las células de la granulosa determinando la aparición del estro y el desarrollo de un cuerpo lúteo con fases luteales normales (Biogénesis, 2003).

Los tratamientos que incrementen la progesterona antes de la ovulación como también la pulsatilidad de LH para promover crecimiento folicular y secreción de estradiol, son claves para inducir ciclos estrales fértiles en vacas en anestro (Day, 2004)

El Intervalo tratamiento – celo (ITC) fue afectado por el año, tratamiento, localidad, estado corporal e interacciones con Tratamiento.

Fike y col. (1997) no obtuvieron diferencias para estado corporal ni para intervalo desde el parto al inicio del tratamiento al igual que el presente trabajo. Respecto al intervalo desde el parto a la aplicación de los tratamientos, las vacas a las que se le aplicaba el tratamiento antes de 49 días de paridas tenían valores superiores para esta variable (34%) respecto a las que tenían intervalos mayores a 50 días (11%).

5.1 Consideraciones finales

Los resultados obtenidos no permiten concluir una clara superioridad del tratamiento que combina MAP+BE+DT ya que no se estudió la fertilidad de las vacas luego de los tratamientos medido como preñez efectiva. Los valores de progesterona hallados en sangre se asociaron a posibles formaciones de cuerpos lúteos sin ser vistos en ecografía por lo que el valor crítico tomado (en este caso 0.5 ng/ml) toma primordial importancia ya que determina todas las conjeturas hechas posteriormente.

El bajo porcentaje obtenido por los tratamientos en cuanto a % FCL fase luteal normal, que podría asociarse a mayor fertilidad si efectivamente existió, es muy bajo. Si

a esta vacas a su vez, se les aplicara una IATF y tomando en cuenta la efectividad del tratamiento (% de preñez) los porcentajes de concepción serían aun menores.

La concentración de los celos en pocas horas y el alto porcentaje de vacas que muestran celo pero no actividad lútea podría estar hablando de celos farmacológicos dados por efecto del benzoato de estradiol, por lo que se cuestiona su uso para IA a pesar de los altos porcentajes vistos en el tratamiento 3. Una de las ventajas del uso de la esponja artesanal es la no reutilización, a diferencia de otros pesarios vaginales, lo que disminuye la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas.

Quedarían cosas por determinar para efectivamente recomendar el uso de esta tecnología en las condiciones en que se dio este estudio. Algunas de ellas las podemos puntar como: realizar ecografía para precisar la presencia de cuerpo lúteo, estudiar preñez posteriormente a la aplicación de los tratamientos y determinar si las vacas vuelven o no a caer en estado de anestro.

6. CONCLUSIONES

El tratamiento MAP+BE+DT mostró los mayores resultados en % Celo, % FCL total con celo y en %FCL fase luteal normal con celo; y conjuntamente al tratamiento MAP+DT fueron superiores en %FCL total y en %FCL de vida normal. Los porcentajes de formación de cuerpo lúteo fueron igual bajos para el mejor tratamiento, no así para los porcentajes de celo logrado por MAP+BE+DT.

7. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar en un esquema de inducción y sincronización de celos y ovulaciones, la aplicación de un destete temporario (DT) y/o Benzoato de Estradiol (BE) a un tratamiento con esponja intravaginal artesanal impregnada con 250 mg. de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP). Se evaluó porcentaje de celo (%C), porcentaje de formación de cuerpo lúteo total (%FCL), porcentaje de formación de cuerpo lúteo total y celo (%FCL total con celo), porcentaje de formación de cuerpo lúteo de vida normal y éste conjuntamente con celo (%FCL vida normal y %FCL vida normal con celo) y el intervalo entre fin de tratamiento y manifestación de celo (IPT) en vacas pluríparas y primíparas amamantando en anestro.

Se usaron 532 vientres en dos localidades, durante tres años (186, 179 y 167 para los años 2001, 2002, y 2003 respectivamente) de razas Hereford, Aberdeen Angus y su cruce, paridas en primavera, de partos normales, con un intervalo parto-tratamiento (IPT) de 25 a 91 días. Los tratamientos fueron: 1) Esponja intravaginal durante 7 días mas 50 mg. de oxitetraciclina al momento de la colocación y 0.5 mg. de Benzoato de Estradiol a las 24 hs de retirada la misma (T1: **MAP+BE**; n= 180). 2): Esponja intravaginal artesanal durante 7 días mas 50 mg. de oxitetraciclina mas destete temporario a corral durante 5 días al momento de remoción de la misma (T2: **MAP+DT**; n= 181). 3): Esponja intravaginal durante 7 días mas 50 mg. de oxitetraciclina mas destete temporario durante 5 días mas 0.5 mg. de Benzoato de Estradiol a las 24 hs (T3: **MAP+BE+DT**; n=171).

Los tratamientos mostraron efecto en todas las variables analizadas ($P < 0.05$). El tratamiento MAP+BE+DT mostró los mayores resultados en % Celo, % FCL total con celo y en %FCL fase luteal normal con celo; y conjuntamente al tratamiento MAP+DT fueron superiores en %FCL total y en %FCL de vida normal.

8. BIBLIOGRAFÍA

- ALBERIO, R.H.; ALLER, J.; QUINTEROS, R.; FERRE, L.; MELUCI, L. 1999a. Momento de aplicación y dosis de Benzoato de Estradiol al final de un tratamiento con progestágenos sobre celo y fertilidad. III Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. Abstract. pp 182.
- ALBERIO, R.H.; ALLER, J.; QUINTEROS, R.; FERRE, L.; MELUCI, L. 1999b. Utilización de dispositivos intravaginales con progesterona (CIDR) y respuesta comparada con esponjas con progestágeno. III Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. Abstract. pp.183.
- ALBERIO, R.H. 2000. Inducción y sincronización de celos en bovinos. Estrategias para acortar el anestro postparto en vacas de carne. Montevideo-Uruguay. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. 49-52. Serie 108.
- ALBERIO, R.H. 2003. Nuevas biotecnologías reproductivas. Aspectos biológicos y económicos. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. pp. 293-322.
- BIOGENESIS. 2003. Triu-B. Manual del usuario. Buenos Aires. Argentina. Sp.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; BROGLIATTI, G.M.; MEDINA, M.; TRIBULO, R. 2001. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado utilizando progestágenos y estradiol. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal. pp 117-136.
- CAVESTANY, D. 1985. Fisiología del puerperio. In: MGAP. IICA (Ed). Serie de Reproducción Animal. Tema I. Postparto en la hembra bovina. Montevideo. p.1-30. (Miscelánea n. 644).
- CAVESTANY, D.; MENDEZ, J. 1993. Manual de Inseminación artificial en bovinos. INIA. Boletín de divulgación N°39. 87p.
- CAVESTANY, D.; NEGRIN, N.; NEGRIN, R.; GROTH, J.F. 2002. Response of beef heifers and non-suckling beef cows to different oestrus synchronization protocols. *Animal Science*. 74: 547-552.
- CAVESTANY, D.; MEIKLE, A.; KINDAHL, H.; VAN LIER, E.; MOREIRA, F.; THATCHER, W.W.; FORSBERG, M. 2003. Use of medroxyprogesterone acetate (MAP) in lactating Holstein cows an Ovsynch protocol: Follicular growth and hormonal patterns. *Theriogenology*. 59: 1787-1798.

- CROWE, M.A.; GOULDING, D.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. 1993. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *Journal Reproduction Fertility*. 99:551-555.
- CUTAIA, L.; MORENO, D.; VILLATA, M.L.; BÓ, G.A. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology*. 55:4081. Resumen.
- CUTSHAW, J.L.; HUNTER, J.F.; WILLIAMS, G.L. 1992. Effects of transcutaneous thermal and electrical stimulation of the teat on pituitary luteinizing hormone, prolactin and oxytocin secretion in ovariectomized, estradiol-treated beef cows following acute weaning. *Theriogenology* 10: 915-934.
- DAY, M.L. 2004. Hormonal induction of estrous cycles in anestrus *Bos taurus* beef cows. *Animal Reproduction Science* 82-83: 487-494.
- DORAY, J.M.; CALLEJAS, S.S.; CABODEVILA, J.; CATALANO, R.; TERUEL, M.; ALBERIO, R.H. 1995. Estradiol exógeno y destete temporario en vacas de cría tratadas con progestágeno. *Memorias XIV Reunión ALPA. 19° Congreso AAPA. Mar del Plata. Argentina. pp. 1028-1030.*
- DRIANCOURT, M.A. 2000. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 1211-1227.
- FERNANDEZ ABELLA, D. 1995. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo, Universidad de la República. 206 p.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K.; KINDER, J.E.; LEWIS, P.E.; SHORT, R.E.; HAFS, H.D. 1997. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated an intravaginal device containing Progesterone with or without a subsequent injection of Estradiol Benzoate. *Journal of Animal Science*. 75: 2009-2015.
- FIKE, K.E.; WEHRMAN, M.E.; LINDSEY, B.R.; BERGFELD, E.G.; MELVIN, E.J.; QUINTAL, J.A.; ZANELLA, E.L.; KOJIMA, F.N.; KINDER, J.E. 1999. Estrus synchronization of beef cattle with a combination of Melengestrol Acetate and injection of Progesterone and 17 β -Estradiol. *Journal of Animal Science*. 77: 715-723.
- GALINA, C.S. 2000. Destete Temporario, Destete Precoz y comportamiento reproductivo en vacas de cría del Uruguay. Estrategias para acortar el anestro

- posparto en vacas de carne. Montevideo – Uruguay. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. 17-24. Serie 108.
- GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P.E.; TOWNSEND, E.C.; INSKEEP, E.K. 1987. Effects of norgestomec on follicular development in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science*. 64: 1099-1109.
- GIL, M.; VELAZCO, J.I. 2004. Inducción y sincronización de celos y ovulaciones en vacas en anestro amamantando: efecto de un destete temporario y/o Benzoato de estradiol luego de retirado un implante intravaginal (esponja artesanal) conteniendo progestágeno. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 102p.
- GRIFFITH, M.K.; WILLIAMS, G.L. 1996. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance on beef cows. *Biology of Reproduction*. 54:761-768.
- HANSEL, P.J.; HAUSER, E.R. 1984. Photoperiodic alteration of postpartum reproductive function in suckled cows. *Theriogenology*. 22:1
- HOFFAMN, D.P.; STEVENSON, J.S.; MINTON, J.E. 1996. Restricting calf presens without suckling compared weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 74:190-198.
- HU, Y.; SANDERS, J.D.; KURZ, S.D.; OTTOBRE, J.S.; DAY, M.L. 1990. In vitro prostaglandin production by bovine CL destined to be normal or short-lived. *Biology of Reproduction*. 42, 801-807.
- KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G.M.; WEHRMAN, M.E.; FIKE, K.E. 1996. Progestin and estrogen regulation of pulastile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*. 74:1424-1440.
- LAMB, C.G.; LYNCH, J.M.; GRIEGER, D.M.; MINTON, J.E.; STEVENSON, J.S. 1997. Ad libitum suckling by unrelated calf in the presens or absence of a cow's on calf prolongs pospartum anovulation. *Journal of Animal Science*. 75:2762-2769.
- LAMB, C.G.; MILLER, B.L.; LYNCH, J.M.; THOMPSON, K.E.; HELDT, J.S.; LOEST, C.A.; GRIEGER, D.M.; STEVENSON, J.S. 1999. Twice daily suckling but no milking with calf presence prolongs postpartum anovulation. *Journal of Animal Science*. 77:2207-2218.

- LAMMOGLIA, M.A.; SHORT, R.E.; BELLOWS, S.E., BELLOWS, R.A.; MCNEIL, M.D.; HAFS, H.D. 1998. Induced and synchronized estrus in cattle: Dose Titration of Estradiol Benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with and intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. *Journal of Animal Science*. 76:1662-1670.
- LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. 1992. Regulation of estrus cycles in dairy cattle: A Review. *Theriogenology*. 38:255-267.
- LUCY, M.C.; SAVIO, J.; BODINGA, L.; DE LA SOTA, R.L. THATCHER. W.W. 1992. Factores que afectan la dinámica folicular en ganado. *Journal of Animal Science*. 70:3615-3626.
- LUCY, M.C.; BILLINGS, H.J.; BUTLER, W.R.; EHINS, L.R.; FIELDS, M.J.; KESLER, D.J.; MATTOS, R.C.; SHORT, R.E.; THATCHER, W.W.; WETTMANN, R.P.; YELICH, J.V.; HAFS, H.D. 2001. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an inyection of PGF_{2α} for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers. *Journal of Animal Science*. 79: 982-995.
- MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R. 1996. Efects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*. 42:307-320.
- MAPLETOFT, R.; MARTINEZ, M.; ADAMS, G.; KASTELIC, J. 2001. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en ganado. 4° Simposio Internacional de Reproducción Animal. pp. 83-94.
- MCVEY, W.R.; WILLIAMS, G.L. 1991. Mechanical masking of neurosensory pathways at the calf-teat interface: endocrine, reproductive and lactational features of the suckled anestrous cow. *Theriogenology*. 35(5):931-941.
- MENDEZ, J.; VIZCARRA, J.; ORCASBERRO, R. 1988. Condición corporal por apreciación visual en vacas Hereford. *Revista del Plan Agropecuario* N° 44. 33-34.
- MGAP-DIEA. 2002. [http:// mgap.gub.uy/DIEA/trabajos%20Especiales/](http://mgap.gub.uy/DIEA/trabajos%20Especiales/). Estimación de la producción Nacional de terneros. Diciembre 2002. Trabajos especiales N° 2.
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. 1990. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckler cows. *J. Reprod. Fertil.* 90:523-533.

- ODDE, K.G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*. 68:817-830.
- PERRY, R.C.; CORAH, L.R.; KIRACOFÉ, G.H.; STEVENSON, J.S.; BEAL, W.E. 1991. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. *Journal of Animal Science*. 69: 2548.
- PERRY, G.A.; Y COL. 2002 Effect of an orally active progestin a follicular dynamics in cycling and anestrous postpartum beef cows. *Journal of Animal Science*. 80: 1932-1938.
- PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; GEARY, T.W. 2004. Ability of intravaginal progesterone inserts and melengesterol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science*. 82:695-704.
- PETERS, A.R.; BALL, P.J.H. 1995. *Reproduction in cattle*. 2da. Ed. Londres. Osney Mead OX2 OEL. 216p.
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using FGF2 α and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
- QUINTANS, G. 2000. Estrategias para acortar el anestro posparto en vacas de carne. Montevideo – Uruguay. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. 29-31. Serie 108.
- RHODES, F.M.; CLARK, B.A.; DAY, M.L.; MACMILLAN, K.L. 1997 Can persistent ovarian follicles be induced in young postpartum dairy cows? In: *Proc. Soc. Reprod. Biol. Canberra, Australia*. 28:103.
- RHODES, F.M.; BURKE, C.R.; CLARK, B.A.; DAY, M.L.; MACMILLAN, K.L. 2002. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrus cycles. *Animal Reproduction Science*. 69:139-150.
- RHODES, E.M.; MCDOWALL, S.; BURKE, C.R.; VERKEK, G.A.; MACMILLAN, K.L. 2003. Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *Journal of dairy Science*. 86:1876-1894.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. 1992. Postpartum anestrus in dairy and beef cows. *Animal Reproduction Science* 21:371-378.

- ROCHE, J.F. 1999. Reproductive efficiency in postpartum cows. In: Congreso Ibérico de Reproducción Animal (2º, 1999. Lugo, España) pp.17-32.
- RODRIGUEZ BLANQUET, J.B. 2002. Bioestimulación: una alternativa para incrementar la productividad del rodeo de cría. Seminario de actualización técnica: cría y recría ovina y vacuna. INIA Treinta y Tres-Uruguay. Serie 288. 81-97.
- RODRIGUEZ BLANQUET, J.B. 2003. Métodos de uso de Prostaglandina F2 α para sincronizar celos y ovulaciones en bovinos para carne: una discusión crítica. *Agrociencia*. 7(1): 92-104.
- RUBIANES, E.; REGUEIRO, M. 2001. Algunos aspectos del control del ciclo estral en rumiantes. Montevideo. Facultad de Agronomía. 12p.
- SAS/STAT® Software: Changes and Enhancements through Release 6.12, Cary, NC. 1997.
- SHIVELY, T.E.; WILLIAMS, G.L. 1989. Patterns of tonic lutenizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrous beef cows following varying intervals of temporary weaning. *Domestic Animal Endocrinology*. 6:379-387.
- SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E. 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*. 68: 799-810.
- SILVERA, P.A.; SPOON, R.A.; RYAN, D.P.; WILLIAMS, G.L. 1993. Evidence for Maternal Behavior as a Requisite Link in Suckling-Mediated Anovulation in Cows. *Biology of Reproduction*. 49: 1338-1346.
- SIMEONE, A. 2000. Estrategias para acortar el anestro posparto en vacas de carne. Destete Temporario, Destete Precoz y comportamiento reproductivo en vacas de cría del Uruguay. Montevideo – Uruguay. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. 35-38. Serie 108.
- SMITH, M.C.; CURREL, D.; SHIPP, L.; SPROTT, N.; SONGSTER, WILTBANK, J.N. 1979. Hormone treatment and use of calf removal in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*. 48: 1285-1294.
- STAGG, K.; SPICER, L.J.; SREENAN, J.M.; ROCHE, J.F.; DISKIN, M.G. 1998. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels post-partum. *Biology of Reproduction*. 59:777-783.

- STEVENSON, J.S.; KNOPPEL, E.L.; MINTON, J.E.; SALFEN, B.E.; GARVERICK, H.A. 1994. Estrus, Ovulation, Luteinizing Hormone, and Suckling-Induced Hormones in Mastectomized Cows With and Without Unrestricted Presence of the Calf. *Journal of Animal Science*. 72: 690-699.
- VIKER, S.D.; Mc GUIRE, W.J.; WRIGHT, J.M. 1989. Cow-calf association delays postpartum ovulation in mastectomized cows. *Theriogenology*. 3(32): 467-474.
- VIKER, S.D.; LARSON, R.L.; KIRACOFE, G.H.; STEWART, R.E.; STEVENSON, J.S. 1993. Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactile stimulation by the calf. *Journal of Animal Science*. 71:999-1003.
- WALTERS, D.L.; SHORT, R.E.; CONVEY, E.M.; STAIGMILLER, R.E.; DUNN, T.G.; KALTENBACH, C.C. 1982. Pituitary and ovarian in postpartum beef cows. Endocrine changes prior to ovulation in suckled and nonsuckled postpartum cows compared to cycling cows. *Biology of Reproduction*. 26:647-654.
- WILLIAMS, G.L.; KIRSCH, J.D.; POST, G.R. 1984. Evidence against chronic teat stimulation as an autonomous effector of diminished gonadotropin release in beef cows. *Journal of Animal Science*. 4(59): 1060-1069.
- WILLIAMS, G.L.; KOZIOROWSKI, M.; OSBORN, R.G.; KIRSCH, J.D.; SLANGER, W.D. 1987. The Postweaning Rise of Tonic Luteinizing Hormone Secretion in anestrus Cows Is Not Prevented by Chronic Milking or the Physical Presence of the Calf. *Biology of Reproduction*. 36: 1079-1084.
- WILLIAMS, G.L. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *Journal of Animal Science*. 68:831.
- WILLIAMS, G.L.; MCVEY, W.R.; J.R.; HUNTER, J.F. 1993. Mammary Somatosensory Pathways Are Not Required for Suckling-Mediated Inhibit of Luteinizing Hormone Secretion and Delay of Ovulation in Cows. *Biology of Reproduction* 49: 1328-1337.
- WILLIAMS, G.L., GRIFFITH, M.K., 1995. Sensory and behavioural control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. *Journal of reproduction and fertility supplement*.49: 463-475
- WILLIAMS, G.L.; GRIFFITH, M.K.; MCKOWN, C.D. 1995. Use of alien cohabitation in conjunction with temporary weaning for estrous synchronization of beef cows. *Journal of Animal Science* 73(Supp.1):241 abstr.

- WILLIAMS, G.L.; GAZAL, O.S.; GUZMAN, VEGA, G.A.; STANKO, R.L. 1996. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*. 42: 289-297.
- WILTBANK, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21-52.
- YAVAS, Y.; WALTON, J.S. 2000a. Postpartum acyclicity in suckled beef cows. A review. *Theriogenology*. 54: 25-55.
- YAVAS, Y.; WALTON, J.S. 2000b. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows. A review. *Theriogenology*. 54:1-23