



FACULTAD DE
AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

**EFEECTO DE LA UTILIZACION DE GnRH Y/O hCG
SOBRE LA TASA DE CONCEPCION
DE VACAS HOLANDO EN EL
POSTPARTO TEMPRANO**

por

María Soledad MARTINEZ BRIANZA
Gonzalo Ariel SALVO PACIFICO
Juan Miguel SURROCA SANTOS

T E S I S

1999

MONTEVIDEO

URUGUAY

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

FACULTAD DE AGRONOMIA

**EFFECTO DE LA UTILIZACION DE GnRH Y/O hCG SOBRE LA
TASA DE CONCEPCION DE VACAS HOLANDO EN EL
POSTPARTO TEMPRANO**

por

María Soledad MARTINEZ BRIANZA
Gonzalo Ariel SALVO PACIFICO
Juan Miguel SURROCA SANTOS

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Agrícola - Ganadera)

MONTEVIDEO
URUGUAY
1999

Tesis aprobada por:

Director: Ing. Agr. Daniel Fernández Abella

Ing. Agr. Danilo Bartaburu

Dr. Edgardo Rodas

Fecha: _____

Autor: María Soledad Martínez Brianza

Gonzalo Salvo Pacífico

Juan Miguel Surroca Santos

AGRADECIMIENTOS

- Al prof. Ing. Agr. Ph.D Daniel Fernández Abella por la dirección y corrección del trabajo.
- Al Ing. Agr. Danilo Bartaburu y al Dr. Edgardo Rodas por la corrección del trabajo.
- Al Dr. Marcelo Lust por brindarnos la oportunidad de realizar el estudio en el establecimiento “La Armonía” y por la ayuda prestada.
- Al Dr. Miguel Lesama (Laboratorio Hoechst) y al Dr. Amaro (Laboratorio Dispert) por suministrarnos las hormonas para la realización del trabajo.
- Al Dr. Rivero del Laboratorio Rubino de Paysandú y a la cátedra de Producción Animal de la Facultad de Agronomía por asesorarnos en el análisis de progesterona.
- A nuestras familias y amigos, por habernos apoyado y acompañado durante toda la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS.....	IV
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
A. INTRODUCCION.....	3
B. UTILIZACION DE GnRH.....	4
1. <u>Generalidades</u>	4
2. <u>Efecto en la liberación de LH y FSH</u>	5
3. <u>Efecto sobre el folículo</u>	6
4. <u>Efecto sobre el cuerpo lúteo</u>	7
5. <u>Nueva onda folicular</u>	8
6. <u>Parámetros reproductivos</u>	9
7. <u>Infecciones uterinas</u>	10
C. UTILIZACION DE hCG.....	11
D. UTILIZACION DE PROSTAGLANDINAS.....	12
1. <u>Generalidades</u>	12
2. <u>Luteólisis y concentración de progesterona</u>	12
3. <u>Parámetros reproductivos</u>	14
4. <u>Efectos sobre la actividad uterina</u>	15
E. CONSIDERACIONES DE LOS PROTOCOLOS HORMONALES.....	17
F. PRINCIPALES FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS HORMONALES.....	20
1. <u>Nutrición, condición corporal y peso</u>	20
2. <u>Temperatura ambiente y fotoperíodo</u>	22

III. MATERIALES Y METODOS.....	24
A. LOCALIZACION.....	24
B. ANIMALES UTILIZADOS.....	24
C. TRATAMIENTOS	24
D. ANALISIS ESTADISTICOS.....	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
A. CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES EVALUADOS	27
1. <u>Condición Corporal y Peso Vivo</u>	27
2. <u>Número de lactancias y producción de leche</u>	28
B. PERFORMANCE REPRODUCTIVA	28
C. ANALISIS ECONOMICO.....	34
V. CONCLUSIONES	35
VI. RESUMEN.....	37
VII. SUMMARY	38
VIII. BIBLIOGRAFIA	39
IX. ANEXOS.....	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Esquema de los protocolos hormonales.....	25
Cuadro 2: Momento de aplicación de las hormonas.....	25
Cuadro 3: Condición corporal, peso vivo, número de lactancias y producción de los animales tratados y el testigo.....	27
Cuadro 4: Días entre parto – 1° inseminación y porcentaje de preñez.....	29
Cuadro 5: Días entre 1° y 2° inseminación, días entre parto - 2 da. inseminación y porcentaje de preñez de la 2° inseminación	29
Cuadro 6: Concentración de progesterona en plasma en ng/ml y estado reproductivo.....	32
Cuadro 7: Costo de los protocolos hormonales (U\$S).....	34

I. INTRODUCCION

El rubro lechero a nivel nacional ha mostrado un fuerte dinamismo en las últimas dos décadas. La producción, la industrialización y la exportación han crecido en los últimos años. Este crecimiento ha estado sustentado en un importante proceso de transformaciones tecnológicas.

En lo que refiere a la ubicación geográfica de la producción, ésta se realiza en casi todo el territorio nacional, pero existen zonas donde esta actividad tiene real importancia. Se destacan dos zonas, la cuenca tradicional sur integrada por los departamentos de Florida, San José y Canelones y la cuenca del litoral oeste integrada por Colonia, Soriano, Río Negro y Paysandú. Estas dos cuencas concentran el 89 % de la producción (sur 53% y litoral 36%).

La lechería genera US\$ 150 millones anuales por concepto de sus exportaciones. Constituye una actividad ocupadora de mano de obra muy importante; más de 11.500 personas trabajan con diferente grado de dedicación en el sector primario. En la industria láctea trabajan otras 3.000 personas aproximadamente.

El área abarcada por la lechería se encuentra entorno a los 1,1 millones de hectáreas. El número de establecimientos lecheros al final de 1997 se ubica en 5.657 de los cuales cerca de 4.500 remiten a planta. La superficie media lechera de éstos es de 149 hectáreas y la producción media anual son 1.681 litros por hectárea. Los litros producidos por vaca masa son 2950 y dicha categoría representa el 60 % del rodeo nacional. La relación vaca ordeño / vaca masa es de 64 % y el intervalo interparto es de 18,8 meses (DIEA, 1998).

Las fallas en la fertilidad de las vacas, son en gran parte, la causa de la baja productividad y eficiencia económica de la mayoría de los tambos. El factor de mayor influencia, es el ambiental-nutricional en diferentes etapas del año y su efecto negativo, principalmente en la ciclicidad normal de las vacas y la aparición de celos. Vacas con pérdida de peso (balance energético negativo), tardan en la recuperación de la función ovárica postparto, tienen más alto porcentaje de celos silenciosos, con irregularidad en la ciclicidad. Ya que el inicio de la lactación requiere que la gestación de un ternero sea finalizada, la producción de leche es dependiente de la eficiencia reproductiva del rodeo, la cual tiene como objetivo lograr que un amplio porcentaje de las vacas se preñen en el menor tiempo posible. Con un índice de parición de 63,5 % las vacas de nuestro país producen en promedio un ternero cada 18,8 meses, demorando 9 meses en quedar preñadas luego del parto. Esta excesiva prolongación del intervalo parto - concepción, determina que la lactancia y el período seco tengan una mayor duración (13 y 5,8 meses respectivamente) (Garrido y Herrera, 1996).

Mejorando la eficiencia reproductiva, llegando a lactancias de 10 meses y períodos secos de 2 meses se ganarán 1.000 litros más por vaca y por año (Garrido y Herrera, 1996). A esto se suma que cuando las vacas de la situación mejorada tengan tres partos, las de la situación actual tendrán sólo dos partos, por lo tanto la situación mejorada produce un tercio de ternero más por año y por vaca. Esto permite incrementar la presión de selección lo que acelera el progreso genético, si se mantiene el porcentaje de reemplazos. En caso de aumentar el mismo, se logra reducir la edad promedio del rodeo, y se anticipa la venta de vacas de refugio.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto sobre la performance reproductiva de tres tratamientos de sincronización con inseminación a tiempo fijo, en un anestro muy temprano, en vacas de alta producción en un predio comercial. El conocer el momento de la ovulación permite realizar la inseminación en un momento determinado sin la necesidad de detectar celo, considerando que ésta última es una limitante en la eficiencia reproductiva. Estos métodos de sincronización combinan el uso de hormonas que promueven la actividad ovárica (Factor de Liberación de Gonadotropinas, GnRH y Gonadotropina Coriónica Humana, hCG) con hormonas luteolíticas (Prostaglandina, PGF2 α).

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

A. INTRODUCCION

Para que una vaca lechera produzca el mayor número de terneros en su vida dentro del rodeo, la misma debe parir por primera vez a los dos años de edad y luego cada 12 meses hasta que es refugada (Louca y Legates, 1976, citados por Etherington *et al.* 1983). Este esquema además permite obtener la mayor producción de leche por día del rodeo. Esto ocurre raramente debido a que el intervalo desde el parto hasta la siguiente concepción se prolonga superando dicho intervalo. Los factores que podrían estar explicando esta prolongación, incluyen una inadecuada nutrición, infecciones uterinas, pobre detección de celos o una decisión del productor de realizar el primer servicio 60 a 80 días postparto (Sandals *et al.* 1979, Williamson *et al.* 1980, citados por Etherington *et al.* 1983).

Los altos niveles de estrógenos liberados al comienzo del parto suprimen la secreción de la hormona GnRH y disminuyen la receptividad hipofisaria a dicha hormona. Esta refractariedad se mantiene durante por lo menos los siguientes 6 días luego del parto y no se restablece una receptividad total hasta por lo menos los 10 a 20 días postparto. Esto es debido a que los niveles hormonales establecidos para mantener la gestación y subsecuentemente el parto se reajustan gradualmente hasta que los ciclos normales se logran reiniciar. La receptividad de la hipófisis a la GnRH se restablece recién en el día 14 postparto y aún el día 20 la secreción de hormonas hipofisarias no parece estar totalmente restablecida (Cavestany, 1982). Por otro lado Kesler *et al.* (1977), indicaron que los incrementos sistemáticos en la LH (hormona luteinizante) durante el postparto temprano y la sensibilidad pituitaria a la GnRH, evidenciada por la concentración de LH en plasma, aparentan como recuperados luego de 7 u 8 días postparto y mencionan que las altas concentraciones combinadas de progesterona (P4) y estrógenos (E2), están involucradas en reducir la sensibilidad de la glándula pituitaria a la estimulación de la GnRH durante la gestación. Esta refractariedad inicial puede estar destinada a prevenir una ciclicidad muy temprana, en presencia de un útero no totalmente involucionado y puede ayudar a mantener un cierto intervalo mínimo entre partos.

El intervalo entre el parto y la primera ovulación es muy variable, ocurriendo ésta entre los 15 y 40 días postparto. Pueden encontrarse folículos de 10 mm de diámetro en la superficie ovárica tan pronto como 7 días luego del parto. También pueden ser detectados por palpación rectal entre los 7 y 15 días postparto. Esta variación está dada por regímenes de lactación o diferentes consumos de energía (Cavestany, 1982).

El intervalo parto a primer celo es sensiblemente más largo que el intervalo parto a primera ovulación, debido a la interacción de la incidencia de celos silenciosos. El 50 % o más de las primeras ovulaciones ocurren sin manifestación de celo, incidencia que

disminuye a medida que el intervalo postparto aumenta. Estas ovulaciones silenciosas se deben a bajos niveles circulantes de hormonas o a la falta de una estimulación previa por P4. Pero aún siendo esto cierto, la falla en detectar vacas en celo es probablemente el factor más importante en determinar la real incidencia del intervalo parto a primer celo visto (Cavestany, 1982).

El primer ciclo luego del parto es más corto que lo normal con una duración de 13 a 17 días. Estos ciclos más cortos están asociados a un porcentaje de infertilidad más alto, ya que una incompleta involución uterina puede provocar la liberación de factores luteolíticos antes de lo normal. Por otra parte, el reconocimiento materno de la concepción requiere una fase luteal de duración normal. Los subsecuentes ciclos estrales tienden a ser de longitud normal (21 días), a la vez que disminuye la incidencia de celos silenciosos.

Al plantearse como objetivo la obtención de un ternero por vaca y por año, el intervalo parto - concepción debería ser menor o igual a 85 días. El porcentaje de preñez obtenido durante este intervalo está determinado por el porcentaje de concepción y el de detección de celos cuando se trata de un programa de inseminación artificial.

LeBlanc *et al.* (1998), mencionan que los manejos reproductivos típicos de los rodeos lecheros esperan un porcentaje de detección de celos del 50 %. Un año de datos de 6.000 vacas en Estados Unidos, indicaron una media en el porcentaje de detección de celos de 37 %. Estos bajos valores obtenidos determinan que éste sea el factor más limitante en optimizar la performance reproductiva.

Para superar esta limitante surge el desarrollo de protocolos hormonales que realizan la inseminación a tiempo fijo, evitando la detección de celos. Estos métodos de sincronización combinan el uso de hormonas que promueven la actividad ovárica como son la GnRH y la hCG con hormonas luteolíticas como la PGF2 α .

B. UTILIZACION DE GnRH

1. Generalidades

En el sistema reproductivo una única hormona hipotalámica, denominada Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH), regula la secreción de la Hormona Folículoestimulante (FSH) y de la Hormona Luteinizante (LH) (Schally *et al.* 1971, citados por Hafez, 1989). Se han producido análogos sintéticos de la GnRH de larga vida media (Sandow *et al.* 1978, citados por Cavestany y Foote, 1985), y el más potente de todos ellos es el D-ser (TBU) conocido comunmente como Buserelina (Siddall y Crighton, 1977, citados por Cavestany y Foote, 1985).

La regulación hipotalámica se realiza a través de dos diferentes niveles, el primer nivel o centro tónico, responsable de mantener un nivel relativamente bajo y constante de FSH y LH y el segundo nivel o centro cíclico, base de la naturaleza cíclica del comportamiento reproductivo de la hembra (Halasz 1972, citado por Cavestany, 1982). Tanto la secreción de GnRH por el hipotálamo, como la liberación de LH en respuesta a la GnRH están afectados por la etapa del ciclo reproductivo en que se encuentre la hembra y por los niveles circulantes de hormonas gonadales. Durante la fase luteal del ciclo estral, los altos niveles de P4 inhiben la liberación de GnRH por el hipotálamo (Convey *et al.* 1977, citados por Cavestany, 1982). Hacia final del ciclo y al producirse la regresión del cuerpo lúteo, bajan los niveles plasmáticos de progesterona (P4), liberando a los centros hipotalámicos de la influencia inhibitoria de dicha hormona. El centro tónico libera pequeñas cantidades de GnRH hacia la circulación portal lo que promueve, a nivel hipofisario, la secreción de pequeñas pero constantes cantidades de FSH y LH.

2. Efecto en la liberación de LH y FSH

Está comprobado que al no existir receptores específicos de la GnRH en el ovario bovino, ésta actúa en el desarrollo folicular del ovario y en la función del cuerpo lúteo, indirectamente mediante la liberación de LH y FSH. La estimulación folicular debida a la liberación de FSH, ocurre 2 a 4 horas después de la administración de GnRH, acompañada indefectiblemente con un pico de LH. (Schallenberger *et al.* 1978, citados por von Frey *et al.* 1989; Chenault *et al.* 1990; Rettmer *et al.* 1992)

Kesler *et al.* (1977), observaron que en vacas que poseían quistes ováricos o en vaquillonas tratadas con GnRH, se aumentaba gradualmente las concentraciones plasmáticas de LH hasta alcanzar valores máximos 1,5 a 2,5 horas después de tratadas. La concentración de LH es superior cuando las vacas son tratadas durante el comienzo del celo que al final del mismo (Mee *et al.* 1990, citados por Tanabe *et al.* 1994). La liberación de LH inducida por la GnRH presenta una vida media de corta duración, debido a que el incremento de la concentración de LH en plasma no se prolonga por más de 4 a 6 horas (Mee *et al.* 1993, citados por Tanabe *et al.* 1994).

La liberación de LH como respuesta a la GnRH, está correlacionada negativamente con la concentración de P4 al momento del tratamiento, inhibiendo altas concentraciones de esta hormona los pulsos de LH (Roberson *et al.* 1989, Stock y Fortune, 1993, citados por Twagiramungu *et al.* 1995b). Sin embargo, en el anestro temprano, las bajas concentraciones de P4 no afectan los niveles máximos de LH (Kesler *et al.* 1977).

Los estrógenos incrementan la capacidad de la hipófisis para responder a los pulsos de GnRH, a través de la liberación de LH (Cavestany y Foote, 1985). En un estudio realizado por Garverick *et al.* (1980), citados por Hussein *et al.* (1992), comprobaron que la respuesta ovárica-ovulatoria, en el postparto depende fundamentalmente del tamaño folicular y de los niveles de estradiol en el momento de la administración de la GnRH. Stevens *et al.* (1993b), mediante la aplicación exógena de GnRH estimularon el pico de

LH, que indujo la maduración final del ovocito-folículo y la posterior ovulación. También verificó que folículos activos en producción de estrógenos el día 7 presentan mayores niveles estrogénicos y mayor cantidad de receptores a la gonadotropina comparado con folículos inactivos en la producción de estrógeno el día 9, 11 o 13 del ciclo estral. El estado del folículo dominante al momento del tratamiento determinó la respuesta ovárica.

3. Efecto sobre el folículo

En respuesta a la GnRH, el folículo de mayor tamaño ovula o continúa la regresión a través de la atresia dependiendo de su estado de desarrollo. La ovulación no se da en todos los casos ya que la habilidad de un folículo para ovular depende del estado de desarrollo al momento del tratamiento.

La GnRH altera el tamaño del folículo durante la fase de “plateau”, pero no durante la fase de regresión. Los receptores de LH en el folículo dominante disminuyen durante la fase de “plateau”, de regresión y cuando la atresia ya está claramente manifiesta (Twagiramungu *et al.* 1995b). Según Macmillan y Thatcher (1991), citados por Twagiramungu *et al.* (1995b), esta pérdida de receptores explica por qué la ovulación no se da en la totalidad de los animales a los que se le aplicó GnRH. Asimismo Stevens *et al.* (1993b), encontraron que las vacas tratadas el día 8 del ciclo estral, tuvieron un folículo dominante que respondió a la GnRH. En cambio las vacas tratadas el día 10 tuvieron un folículo dominante que no respondió, dado que la liberación de LH está relacionada a la concentración de estrógeno en plasma y la respuesta a LH no fue suficiente para causar la ovulación.

La GnRH administrada a través de un implante subcutáneo durante 9 días (2 semanas postparto) induce la liberación de LH y la ovulación (Britt *et al.* 1974).

Twagiramungu *et al.* (1994a), confirman que la GnRH induce la ovulación en vacas que tienen concentraciones de menos de 4 ng/ml de P4, pero no en aquellas que tengan más de 8 ng/ml. Esto concuerda con trabajos previos que indican que las vacas que se encuentran en una fase luteal temprana (día 6 a 7 del ciclo estral) ovularon y tenían un cuerpo lúteo inducido luego del tratamiento con buserelina, mientras que las que se encontraban en una etapa media de la fase luteal (días 11 a 13), no tuvieron una inducción a la ovulación (Rettmer *et al.* 1992). Las concentraciones de P4 superiores a 8 ng/ml, son responsables de la disminución de la pulsatilidad de LH, del número de receptores de LH (Mertz *et al.* 1981, Ireland y Roche, 1982, 1983, Roberson *et al.* 1989, citados por Twagiramungu *et al.* 1994a) y de estar asociadas con la regresión y la atresia del folículo de mayor tamaño (Ginther *et al.* 1989a, Fortune *et al.* 1991, Stock y Fortune, 1993, citados por Twagiramungu *et al.* 1994a). Twagiramungu *et al.* (1994a), reportan que la falla de la buserelina en inducir la ovulación en vacas tratadas, puede ser debida a que el proceso de atresia del folículo de mayor tamaño ya ha comenzado en el momento del tratamiento. El efecto selectivo de la GnRH en inducir la ovulación o la atresia, está relacionado con el

estatus funcional del mayor folículo al momento del tratamiento. También Silcox *et al.* (1993), citados por Twagiramungu *et al.* (1994a), observaron que la habilidad del folículo dominante para responder a la GnRH exógena es dependiente del estado de desarrollo del mismo al momento del tratamiento. Por esto, la ovulación inducida con buserelina en un postparto temprano (24-25 días), en vacas acíclicas tratadas indica la existencia de un folículo saludable en los ovarios al momento del tratamiento (Twagiramungu *et al.* 1994a).

4. Efecto sobre el cuerpo lúteo

El tratamiento con GnRH induce la ovulación y en consecuencia la formación de un nuevo cuerpo lúteo, temprano en la fase luteal, como también en vacas acíclicas con ausencia de un cuerpo lúteo funcional (Twagiramungu *et al.* 1995a).

La inducción a la ovulación lleva a la formación de un cuerpo lúteo de corta vida en las vacas acíclicas y a un cuerpo lúteo normal en las vacas que están ciclando (Fricke *et al.* 1993; Lishman *et al.* 1979, Pratt *et al.* 1982, citados por Twagiramungu *et al.* 1995a). Esto fue comprobado por las bajas concentraciones de P4 (< 2 ng/ml) medidas el día 6 en vacas acíclicas, que caracterizaban una fase luteal anormal (Garverick y Smith, 1986, Guibault *et al.* 1988, Hunter, 1991, citados por Twagiramungu *et al.* 1995a).

Los tratamientos con buserelina incrementan el número de células grandes del cuerpo lúteo y el volumen del cuerpo lúteo presente al momento de la inyección. Los receptores a la PGF2 α están localizados en las células grandes del cuerpo lúteo (Chegini *et al.* 1991, citados por Twagiramungu *et al.* 1995a). El incremento en el número de células grandes en el cuerpo lúteo, indica que los animales tratados con buserelina tienen mayores chances de tener una luteólisis completa con una inyección de PGF2 α . La mayor diferencia entre el cuerpo lúteo inducido por la GnRH en vacas ciclando y acíclicas, fue el mayor número de células grandes del cuerpo lúteo que se encontró en vacas acíclicas (Twagiramungu *et al.* 1995a). Como los receptores a la PGF2 α están localizados en las células grandes, ésto indica que el cuerpo lúteo inducido que se espera que sea subfuncional en vacas acíclicas, podría ser más sensible a una luteólisis uterina en postparto temprano (Fitz *et al.* 1982, Lindell *et al.* 1982, Guibault *et al.* 1984, Niswender *et al.* 1985, citados por Twagiramungu *et al.* 1995a).

La aplicación de GnRH exógena induce la ovulación del folículo de mayor tamaño, provocando una caída en la concentración de estradiol en la circulación periférica (Twagiramungu *et al.* 1995b).

Por otro lado Tanabe *et al.* (1994), mencionan que la secreción de P4 se vio incrementada en las vacas tratadas con GnRH, debido a la ovulación inducida por dicha hormona. Es necesario tomar en cuenta que normalmente transcurren de 3-4 días entre la ovulación y la elevación de los niveles de P4 (Martínez *et al.* 1988, citados por Revah *et al.*

1989). Pursley *et al.* (1997b), midieron la concentración de P4 luego de cada inyección de GnRH, indicando que la primer aplicación sincronizó la función luteal de vacas lactando.

5. Nueva onda folicular

La inyección de GnRH puede causar la ovulación de un folículo dominante y de esa forma iniciar una nueva onda folicular, o puede ser inyectada en un momento del ciclo estral en que una nueva onda folicular se está formando espontáneamente (Pursley *et al.* 1995).

La GnRH, induce la ovulación de los folículos de mayor tamaño, pero la respuesta depende de la etapa del ciclo estral. Los tratamientos con buserelina resultan en la emergencia y selección sincronizada, del folículo en crecimiento de mayor tamaño, en todas las vacas durante los siguientes 6 días luego del tratamiento, por más que el estatus folicular o luteal difiriera enormemente al momento del tratamiento (Twagiramungu *et al.* 1994a).

Independientemente del estado del ovario al momento del tratamiento, emerge una nueva onda de folículos sincronizados de 5 a 10 mm en los siguientes 2 días luego del tratamiento con GnRH (Twagiramungu *et al.* 1995b). Según Pursley *et al.* (1995), la nueva onda folicular emerge en promedio 2,1 días después de la inyección de GnRH.

Según Twagiramungu *et al.* (1994a), la inducción a la ovulación en las vacas que presentaban un cuerpo lúteo al momento del tratamiento, provocó cambios en la dinámica folicular durante los 6 días siguientes al tratamiento. La ovulación inducida por la buserelina, estuvo asociada con la desaparición y remplazo de los folículos F1 (de mayor tamaño) y un incremento transitorio en el número de folículos de tamaño medio y una disminución en las concentraciones de estradiol. Sin embargo en las vacas que no tuvieron una ovulación inducida en respuesta a la buserelina, la emergencia del nuevo F1 ocurrió más tempranamente que en aquellas vacas que tuvieron una ovulación inducida. Esto indica que el proceso del remplazamiento y selección del F1 luego del tratamiento con buserelina, ocurre antes en vacas que no tuvieron una ovulación inducida que en aquellas que sí. Las vacas que no ovularon en respuesta a la GnRH, tuvieron probablemente antes, más FSH disponible para el reclutamiento folicular. Tal emergencia de una nueva onda folicular, podría deberse a una liberación de FSH provocada por la buserelina. Alternativamente, esta emergencia de folículos podría ser también por una liberación endógena de FSH, que es probable que ocurra luego de la desaparición del F1 por la ovulación o la atresia, porque esta situación es similar en el efecto en la liberación de FSH a la destrucción del folículo dominante.

La administración de GnRH induce la emergencia de una nueva onda folicular, pero limita el crecimiento posterior de estos folículos que emergieron por incrementar la atresia (Twagiramungu *et al.* 1995b).

La remoción del folículo dominante mediante la ovulación o la atresia con el tratamiento con GnRH, estimula el desarrollo de folículos de tamaño medio (Ko *et al.* 1991).

Esta estimulación en el crecimiento de folículos de tamaño medio, está asociado al incremento en los niveles de atresia, que limita un crecimiento posterior hacia un folículo de tamaño grande. Los niveles de atresia en los folículos de tamaño medio, detectados 6 días luego del tratamiento con GnRH, son parte del proceso de selección del folículo dominante, que ocurre como resultado de un insuficiente aporte de FSH. Por cierto, las disminuciones en la concentración de FSH, están implicadas en el proceso de selección del folículo dominante, por prevenir el desarrollo de folículos de tamaño medio más dependientes de la FSH (Sirois y Fortune, 1990).

Stevens *et al.* (1993b), mencionan que se indujo la atresia folicular y que no existieron folículos mayores a los 10 mm en los ovarios de las vacas tratadas con PGF2 α y GnRH el día 8 del ciclo estral. En esta nueva onda folicular, un folículo es dominante luego de siete días y puede ser inducido a ovular con una segunda inyección de GnRH (Pursley *et al.* 1997b).

6. Parámetros reproductivos

Varios estudios demostraron que la administración de repetidas dosis de GnRH entre el día 10 y 18 postparto, incrementan los parámetros reproductivos en vacas lecheras, incluyendo mayor porcentaje de concepción (Nash *et al.* 1980; Lee *et al.* 1983), disminución en el intervalo parto – concepción y menos servicios por concepción (Nash *et al.* 1980; Benmrad y Stevenson, 1986). También las vacas que tenían desordenes reproductivos, mostraron celos más temprano, tuvieron menos servicios por concepción y menos días abiertos (intervalo parto - concepción) (Leslie *et al.* 1984; Benmrad y Stevenson 1986).

Cuando se obtuvieron mejoras en la fertilidad usando GnRH, éstas fueron asociadas con menores porcentajes de refugio, menor número de quistes foliculares (Britt *et al.* 1977, citados por Stevenson y Call, 1988), una acelerada involución uterina, una ovulación postparto más temprana, menor intervalo parto – primer estro, y un restablecimiento más temprano de los ciclos estrales de normal duración. (Benmrad y Stevenson 1986; Britt *et al.* 1977, Fernández *et al.* 1978, Rieck *et al.* 1982, citados por Stevenson y Call 1988). También fue observada una mayor frecuencia de dobles ovulaciones en los tratamientos con GnRH, que puedan ser parcialmente consideradas en incrementos en la fertilidad obtenidos en investigaciones.

En otros dos experimentos (Richardson *et al.* 1983; Benmrad y Stevenson 1986), con tratamientos donde se dio GnRH y PGF2 α con 9 a 10 días de diferencia, no existió incremento en desordenes reproductivos, pero no se obtuvieron mejoras en la reproducción,

excepto por un menor número de servicios por preñez. En contraste dos informes (Etherington *et al.* 1984; Cavestany y Foote 1985) no manifiestan mejoras en la performance reproductiva cuando se suministró GnRH en el postparto temprano. Por otro lado Risco *et al.* (1995), informaron que la GnRH tiende a retrasar la concepción mediante tres formas, primero retrasando el primer celo, segundo incrementando los niveles de P4, y tercero incrementando el riesgo de piometra.

7. Infecciones uterinas

Etherington *et al.* (1984), revelan un incremento del intervalo entre partos en las vacas tratadas con GnRH el día 15 postparto, el cual es explicado por varios factores. El útero es más susceptible a los procesos infecciosos durante la fase luteal del ciclo y las vacas que recibieron GnRH tienen un elevado nivel de progesterona el día 28. En una gran proporción de las vacas, durante el proceso de involución uterina, fue demostrado que puede existir cultivo de bacterias. De ahí que la administración de GnRH resulte en un mayor número de ovulaciones, formación de un cuerpo lúteo y un incremento en las concentraciones de P4 en plasma previo a los 24 días postparto. El aumento de la P4 cuando está presente una infección uterina, resulta en un aumento en la incidencia de piometra (Roth *et al.* 1953, Rowson *et al.* 1953, citados por Etherington *et al.* 1984). La cual en definitiva está asociada con el aumento en la incidencia de quistes ováricos y anestro. El hecho de que la piometra incremente el intervalo parto – concepción en 54.4 días, indica que un diagnóstico de infección en el tracto reproductivo durante 22 a 60 o más días postparto, resulta en un aumento del intervalo parto concepción de 26,3 y 61,3 días respectivamente. Igualmente la formación de quistes ováricos resulta en un incremento de 31,6 días en el intervalo parto – concepción (Dohoo y Martin, 1984).

El incremento en el intervalo parto – primer celo cuando se suministró GnRH el día 15 postparto, es debido al aumento en los casos de piometra y anestro (Nash *et al.* 1980).

Sin embargo, Etherington *et al.* (1984) concluyen que la GnRH ejerce alguna otra influencia aparte de su efecto en los niveles de concentración de P4 que causa un aumento en la incidencia de piometra en la población estudiada.

A pesar que la GnRH acelera el establecimiento de la normal ciclicidad en vacas, cuando es suministrada el día 15 postparto (Etherington *et al.* 1984), la misma aumenta la incidencia de piometra y anestro si no se tratan con PGF2 α 10 días después del tratamiento (Stevenson y Call, 1988).

La GnRH es efectiva en iniciar los ciclos estrales en vacas con quistes foliculares, también puede prevenir anomalías en la actividad ovárica y puede ser un agente terapéutico útil en estimular los ciclos del ovario en el postparto (Kittok *et al.* 1973). Desde que una temprana ovulación y manifestación de celo mejora la fertilidad durante la época

de inseminación, un tratamiento temprano con GnRH podría incrementar la misma (Thatcher y Wilcox, 1973).

C UTILIZACION DE hCG

La gonadotropina mas utilizada en las últimas décadas ha sido la PMSG (Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada) o eCG (Gonadotropina Coriónica Equina). La misma se obtiene de la yegua preñada, siendo el pico de su producción entre los 60 y 80 días de preñez (Allen, 1969, citado por Fernández Abella, 1993). Esta hormona incrementa el crecimiento folicular terminal y disminuye la tasa de atresia (Cahill y Dofour, 1979, Mc Natty *et al.* 1982, citados por Fernández Abella, 1993); posee una actividad FSH/LH cercana a 1, siendo la vida media en circulación sanguínea de 24 horas (Saumande, 1977, citado por Fernández Abella, 1993).

Otra hormona que ha sido utilizada pero en menor escala es la Gonadotropina Coriónica Humana (hCG). Esta tiene grandes desventajas como su corta vida media (10 horas) (Thibault y Levasseur, 1979, citados por Fernández Abella, 1993). Su actividad es primariamente de tipo LH con algunos efectos similares a los causados por la FSH. La fuente de la hormona es el citotrofoblasto de las vellosidades coriónicas de la placenta humana. La hCG aparece en la orina pocas semanas después de la concepción, alcanza un máximo aproximadamente a los 50 días de embarazo y disminuye después a cantidades insignificantes (Hafez, 1989).

La hCG induce la ovulación cuando es administrada durante el crecimiento o en etapas tempranas de la fase estática del folículo dominante (Fricke *et al.* 1993). Según Schmitt *et al.* (1996a), una inyección de hCG entre el día 4 y 7 del ciclo estral, induce a la ovulación del folículo dominante de la primer onda y la formación de un cuerpo lúteo accesorio. Hariardi *et al.* (1997) también demostraron, que la hCG provoca la ovulación del folículo dominante de la primer onda, cuando es administrada en el día 5 a 7 del ciclo estral, y comprobaron un aumento de P4 en plasma comparado con las vacas no tratadas. Schmitt *et al.* (1996a), mencionan que el incremento de P4 en plasma, es consecuencia del cuerpo lúteo inducido por la hCG el día 5 del ciclo estral. Esto es sustentado porque la P4 en plasma no difirió entre el grupo testigo y el tratado con hCG una vez removido el cuerpo lúteo inducido (se removió el día 13), y agregan que la secreción de LH es fundamental para un desarrollo completo de un cuerpo lúteo funcional durante el metaestro y que la persistencia de la hCG en plasma y en la superficie celular puede proveer un aporte gonadotrópico para un mejor crecimiento del cuerpo lúteo inducido.

Contrariamente Fricke *et al.* (1993), mencionan que aparenta improbable, que la estructura luteal formada por la administración de hCG el día 6, pudiera contribuir a las diferencias observadas en las concentraciones de P4 en plasma el día 8. Por lo tanto, es

más probable que el incremento en las concentraciones de P4 en plasma resulten de los efectos de la hCG sobre el funcionamiento del cuerpo lúteo presente al momento de la administración de la misma y mencionan que la contribución que realiza el cuerpo lúteo inducido a las concentraciones de P4 sistémicas, no pudieron ser determinadas. La administración de hCG durante la fase luteal del ciclo estral, incrementa la P4 en plasma e incrementa la duración del ciclo (Seguin *et al.* 1977, Breuel *et al.* 1989, Howard *et al.* 1990, citados por Fricke *et al.* 1993).

Por otro lado, Seguin *et al.* (1977), citados por Fricke *et al.* (1993), mencionan que la administración de hCG en el período de proestro (día 17), luego de la administración inicial de P4, debido a la regresión inicial del cuerpo lúteo, no extiende los ciclos estrales en vaquillonas.

D. UTILIZACION DE PROSTAGLANDINAS

1. Generalidades

Las prostaglandinas son lípidos no saturados que actúan generalmente a nivel local, es decir en el mismo tejido de formación, como también pueden ser transportadas por la sangre para actuar en un tejido blanco o efector. Actualmente se conocen más de 20 prostaglandinas naturales, la PGF₂α y la PGE₂ son las más importantes desde el punto de vista reproductivo, actúan sobre la inducción al parto, de la ovulación, lisis de cuerpo lúteo y transporte de gametos (Fernández Abella, 1993). Las prostaglandinas son liberadas por estimulación nerviosa, por sustancias vasoactivas o por varias hormonas. Actúan inhibiendo la adenilciclasa interfiriendo la formación de AMPc, así como interactuando sobre los receptores celulares hormonales y en la despolarización de las membranas (Gimeno y Gimeno, 1985, citados por Fernández Abella, 1993). Las prostaglandinas son destruidas a través de la circulación pulmonar.

2. Luteólisis y concentración de progesterona

La prostaglandina es eficiente en la lisis del cuerpo lúteo maduro. Esta etapa se da durante el diestro, que ocurre entre los días 7-17 del ciclo estral (Ferguson *et al.* 1993). Cuando la PGF₂α induce la luteólisis completa (P4 < 1,0 ng/ml), ocurre el estro y la subsecuente ovulación del folículo dominante seleccionado descendiendo luego los niveles de E2. Cuando la luteólisis es incompleta (P4 > 2,0 ng/ml), no ocurre el estro, se mantienen los incrementos en la concentración de E2 y el folículo dominante se vuelve persistente (Twagiramungu *et al.* 1995b).

Luego de una inyección de PGF₂α el 90-95% de las vacas presentan celo después de 3-7 días de la aplicación de la misma (Ferguson *et al.* 1993). Normalmente las vacas que

no tienen un celo sincronizado, no es consecuencia de un desarrollo folicular incorrecto, sino de una incompleta luteólisis (Twagiramungu *et al.* 1995b).

Las concentraciones subluteales de P4 (luteólisis incompleta) por períodos prolongados, están asociadas con el incremento en la frecuencia de los pulsos de LH, inhibición de la inducción del pico preovulatorio de LH y el desarrollo de un folículo dominante persistente (Savio *et al.* 1983, Roberson *et al.* 1989, Stock y Fortune, 1993, Sánchez *et al.* 1995, citados por Twagiramungu *et al.* 1995b).

El resultado en la actividad de sincronización usando PGF2 α , depende de la etapa del ciclo estral en que se encuentren los animales cuando se inyecta la misma (Pursley *et al.* 1995). Revah *et al.* (1989) informaron que el 84 % de las vacas que tenían un cuerpo lúteo, al ser inyectadas con PGF2 α sufrieron la regresión del mismo, lo que está más cercano al porcentaje de efectividad generalmente encontrado en la literatura consultada. En la mayoría de las vacas en las que no se produjo la luteólisis los perfiles de P4 indicaron que se encontraban al inicio de la fase lútea, por lo que es probable que estas vacas hayan sido inyectadas durante el período refractario del cuerpo lúteo (proestro, estro y metaestro), lo cual es una de las causas esperadas de falla en la luteólisis al utilizar PGF2 α .

Las respuestas obtenidas en las luteólisis en los tratamientos con PGF2 α aplicados temprano en el diestro (días 7 a 8), fueron más uniformes que los aplicados durante la mitad del diestro (días 10 a 13), las que muestran una respuesta más variable (Stevens *et al.* 1993b). Concordando con esto, Ryan *et al.* (1995) encontraron que más del 70 % de las vacas que se les inyectó PGF2 α durante el diestro temprano (día 7) estaban en celo 48 a 72 horas luego de la inyección, comparado con menos del 30 % de las vacas tratadas en el diestro más tardío (días 11 a 12).

Como se esperaba, la interrupción de la fase lútea en las vacas que tenían un cuerpo lúteo al ser inyectadas, causó un acortamiento del ciclo, originando que en las vacas que se les suministró PGF2 α el día 30 postparto, se iniciaran un mayor número de ciclos estrales durante los primeros 50 días postparto (2,1) comparándolo con el grupo testigo (1,7) (Revah *et al.* 1989). Benmrad y Stevenson (1986), también encontraron un acortamiento del ciclo estral en las vacas inyectadas con PGF2 α entre los días 20 a 24 del puerperio, de tal forma que para el día 42 postparto las vacas tratadas habían tenido en promedio 1,7 ovulaciones comparadas con 1,5 ovulaciones en las vacas testigo. La concentración de P4 bajó marcadamente luego del tratamiento con PGF2 α (4,1 ng/ml a 0,4 ng/ml en 5 días), similar a los valores vistos en vacas durante el celo normal, lo que demuestra el efecto de la PGF2 α sobre el cuerpo lúteo (Elmarimi *et al.* 1982).

Etherington *et al.* (1983) confirman las propiedades luteolíticas del clorprostenol que fueron demostradas por el mayor número de vacas tratadas que manifestaron una caída en los niveles de P4 de más de 1 ng/ml a menos de 1 ng/ml, entre el día 24 al 28 postparto.

comparadas con el grupo testigo. Los niveles de P4 menores a 1 ng/ml en suero se asocian con animales en metaestro, proestro y anestro (Ryan *et al.* 1995). Por otro lado se considera que los niveles superiores a 1 ng/ml son indicativos de la presencia de un cuerpo lúteo funcional (Martínez 1988, citado por Revah *et al.* 1989).

3. Parámetros reproductivos

Los estudios que utilizan una sola inyección de PGF2 α entre el día 14 y 28 postparto, reportan un mayor porcentaje de concepción al primer servicio y un menor intervalo parto - concepción (Stevenson y Call, 1988).

Las consecuencias obtenidas con la PGF2 α fueron asociadas con intervalos más cortos hasta el primer y subsecuentes estros, restablecimiento más temprano de los ciclos estrales de normal duración e influencias positivas en la involución uterina (Etherington *et al.* 1984; Benmrad y Stevenson 1986; Young y Anderson, 1986).

El cloprostenol fue directamente asociado con una disminución en la concentración de P4 en plasma 4 días después. El hecho de que una disminución en la progesterona fuera directamente relacionada con una disminución en el intervalo parto - concepción admite más de una explicación. Primero, es probable que las vacas que tienen una disminución en la concentración de P4, el día 28 postparto, estén experimentando niveles elevados de estradiol en plasma y estén incrementando el tono uterino. Esta suposición es sustentada por el hecho de que la P4 estuvo inversamente relacionada, con la presencia y madurez de folículos y con el tono uterino detectados por palpación rectal. Segundo, estas vacas tuvieron menos probabilidad de anestro y por eso mostraron un menor intervalo parto primer celo que en definitiva resultó en una disminución en el intervalo parto – primer servicio y concepción (Etherington *et al.* 1984).

Gay y Upham (1994), evidenciaron dos efectos benéficos potenciales de la PGF2 α exógena. El primero fue que el acortamiento de un ciclo estral moverá los siguiente periodos estrales normales más cerca del parto y esto resulta en una concepción más temprana comparado con el control. El segundo efecto fue que los casos de endometritis no detectados por examinación rectal ni vaginal, podrían responder al mejoramiento de los mecanismos de defensa uterina, bajo una influencia de un período estrogénico adicional previo al servicio, resultando en un mayor porcentaje de concepción comparado con el control.

La duración de niveles elevados de P4 metabólica en plasma en vacas recién paridas ha sido asociada inversamente con el tiempo requerido para una completa involución uterina y con el intervalo parto primera ovulación. (Majed *et al.* 1984, citados por Morton *et al.* 1992). Sin embargo la administración de PGF2 α exógena entre los días 14-40 postparto ha tenido resultados variables (Benmrad y Stevenson, 1986). Por otro lado,

Gay y Upham (1994), mencionan que las dinámicas foliculares fueron afectadas adversamente por la $\text{PGF2}\alpha$ exógena durante la fase temprana de desarrollo folicular del ciclo estral siguiente al ciclo inducido, ya que el desarrollo de un folículo bovino requiere más de 40 días y además existen otros factores hormonales y nutricionales que lo pueden afectar.

4. Efectos sobre la actividad uterina

Revah *et al.* (1989), en una exhausta revisión comprobaron que la $\text{PGF2}\alpha$ es un agente eficaz tanto para el tratamiento de la piometra en la vaca, como para el tratamiento de la endometritis, cuando ésta cursa con la presencia de un cuerpo lúteo funcional. Por esta razón ha sido recomendada como el tratamiento inicial para infecciones uterinas. Se cree que esta propiedad terapéutica es debida principalmente al efecto luteolítico de la $\text{PGF2}\alpha$, ya que se sabe que las concentraciones elevadas de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral favorecen el establecimiento de infecciones uterinas, en parte debido a que la progesterona inhibe la función normal de los leucocitos polimorfonucleares. También se ha informado que la $\text{PGF2}\alpha$ puede utilizarse profilácticamente destruyendo los cuerpos lúteos que se presenten durante el puerperio temprano impidiendo así que la P4 cree un medio ambiente uterino propicio para el establecimiento de infecciones uterinas (Olson *et al.* 1984; Paisley *et al.* 1986). Además se piensa que al acortarse la fase lútea mediante la administración de $\text{PGF2}\alpha$ se puede lograr una mayor fertilidad en los siguientes estros, ya que existe una correlación positiva entre la fertilidad a primer servicio y el número de estros que se han presentado antes de dicho servicio (Stevenson y Call, 1988).

Todos los usos descritos anteriormente se basan en la destrucción del cuerpo lúteo, por lo que se recomienda utilizar la prostaglandina solamente en vacas que tengan cuerpo lúteo (Benmrad y Stevenson, 1986; Paisley *et al.* 1986). Sin embargo, se ha informado que el útero secreta grandes cantidades de prostaglandina durante el puerperio temprano y se ha especulado que la misma tiene un efecto directo sobre el útero, causando contracciones del miometrio que favorecen la involución uterina (Lindell *et al.* 1983, Kindahl *et al.* 1984, Guilbault *et al.* 1984, 1987, Peter y Bosu, 1987, citados por Revah *et al.* 1989). Esto ha hecho pensar que la administración exógena de prostaglandina durante el puerperio podría tener efectos benéficos aún en vacas que no tuvieran un cuerpo lúteo, ya que en este caso la hormona actuaría directamente sobre el útero. Además, algunos estudios sugieren que la secreción endógena de prostaglandina durante el puerperio temprano favorece el restablecimiento de la actividad ovárica, a causa de la destrucción de residuos funcionales del cuerpo lúteo durante la gestación (Kindahl *et al.* 1984, Guilbault *et al.* 1987, citados por Revah *et al.* 1989), por lo que podría especularse que la administración exógena de prostaglandina pueda favorecer el reinicio de la actividad postparto. Young y Anderson (1986), mencionan que el porcentaje de concepción a primer servicio fue significativamente más alto en vacas tratadas con $\text{PGF2}\alpha$ entre los días 14 y 28 postparto, comparado con vacas no tratadas, y que el efecto fue más marcado en vacas que no tenían

un cuerpo lúteo al momento de ser inyectadas con PGF2 α , por lo que sugieren que este efecto no es debido a la destrucción del cuerpo lúteo sino a un efecto sobre el útero.

En base a las consideraciones anteriores y resultados clínicos, algunos autores han señalado que si todas las vacas lecheras (con o sin cuerpo lúteo, con o sin infección uterina), son tratadas con PGF2 α entre los días 14 y 30 del puerperio se producirá una mejora en los parámetros reproductivos del rodeo (Etherington *et al.* 1984). Sin embargo, estos resultados no parecen ser muy repetibles ya que en ocasiones se ha encontrado que el beneficio obtenido con la aplicación de PGF2 α es más marcado en vacas que han tenido un puerperio anormal que en aquellas con puerperio normal, o que los resultados son afectados por el estado de actividad ovárica existente al momento de aplicar el tratamiento (Young y Anderson, 1986; Benmrad y Stevenson, 1986). Otros autores no han encontrado ningún beneficio al aplicar rutinariamente PGF2 α durante el puerperio de todas las vacas, o durante el puerperio de vacas clínicamente sanas, o se expresan dudas acerca del valor real del tratamiento profiláctico de todas las vacas con PGF2 α (Richardson *et al.* 1983; Paisley *et al.* 1986).

Revah *et al.* (1989), afirman que desde el punto de vista teórico es difícil aceptar que una inyección de PGF2 α pueda tener un efecto tan marcado sobre el útero como para mejorar la fertilidad, ya que aunque se ha logrado acortar en diez días el tiempo necesario para que se complete la involución uterina, para hacerlo fue necesario administrar 25 mg de PGF2 α dos veces al día durante 10 días, es decir que se usaron un total de 20 dosis por vaca comenzando en el día 3 postparto. Es importante tener presente que durante los primeros 10 días del puerperio el útero produce prostaglandina continuamente llegando a producir hasta 28,5 mg por día. En este momento las concentraciones de PGF2 α a nivel uterino son muy elevadas ya que es allí mismo donde se esta produciendo la hormona; de esta forma, para que la prostaglandina administrada de manera exógena alcance niveles uterinos comparables a los presentes en cualquier vaca lechera durante el postparto temprano, sería necesario administrar hasta 67,7 mg de prostaglandina por día en forma de infusión intravenosa (Guilbault *et al.* 1984, citados por Revah *et al.* 1989), por lo que resulta difícil concebir que una sola inyección de 25 mg de PGF2 α , que tiene una vida media muy corta, pueda tener un efecto marcado sobre un útero que ha estado expuesto a concentraciones mucho mayores de la hormona. Al respecto, Cooper y Foote (1986), citados por Revah *et al.* 1989, encontraron que la aplicación de 25 mg de PGF2 α en vacas en estro, no causó un incremento en la presión intrauterina mayor al encontrado durante las contracciones uterinas espontáneas, sugiriendo que en este período el útero ya está estimulado al máximo por las prostaglandinas endógenas. Una situación similar podría ocurrir durante el puerperio. Además Guilbault *et al.* (1987), citados por Revah *et al.* 1989, ponen en duda el papel de la prostaglandina en la involución uterina, ya que la supresión parcial de la secreción de PGF2 α durante el puerperio mediante la administración continua de un inhibidor de su síntesis no alteró el ritmo de involución uterina (diámetro cervical, diámetro de los cuernos uterinos, localización del útero).

Los días abiertos, son el resultado del comportamiento de todos los parámetros discutidos anteriormente. Richardson *et al.* (1983), no encontraron ningún efecto significativo de los tratamientos sobre los días abiertos. Aún los autores que han informado de un efecto benéfico sobre alguno de los parámetros reproductivos, han reconocido que el efecto sobre los días abiertos no es significativo, o lo es solamente en aquellas vacas con puerperio anormal (Benmrad y Stevenson, 1986; Young y Anderson, 1986).

Debido a que la PGF2 α es un agente terapéutico sumamente eficaz para el tratamiento de piometra, endometritis crónica y quistes luteinizados y a que estas condiciones son frecuentes durante el puerperio (Olson *et al.* 1984; Fazeli *et al.* 1980, Guay y Lamonthé, 1980, Bartlett *et al.* 1987, citados por Revah *et al.* 1989), es probable que la ligera mejoría en la eficiencia reproductiva encontrada por algunos autores (Etherington *et al.* 1984; Benmrad y Stevenson, 1986) mediante el tratamiento de todas las vacas con PGF2 α podría haberse también obtenido mediante el tratamiento selectivo de las vacas en las que se hubiese diagnosticado la presencia de alguna de estas condiciones.

El tratamiento rutinario e indiscriminado de todas las vacas con PGF2 α durante el puerperio, no resulta en un mejor desempeño reproductivo ni en un beneficio económico (Richardson *et al.* 1983).

E. CONSIDERACIONES DE LOS PROTOCOLOS HORMONALES

Los protocolos de sincronización estaban limitados en un primer momento al uso de prostaglandinas. El porcentaje de preñez obtenido por inseminación artificial era similar cuando las vacas eran servidas luego de sincronizar el celo, que cuando el celo se manifestaba espontáneamente (Stevenson *et al.* 1987, citados por Pursley *et al.* 1997b). Sin embargo la sincronización del celo no es precisa con el uso de PGF2 α , ya que éste tratamiento no sincroniza el crecimiento folicular sino que regula la duración del cuerpo lúteo. Si se diera una inyección de PGF2 α , se induciría al celo a los animales en diestro (52 %), si a esto le sumamos los que se encuentran en proestro (14 %), en total se encontraría un 66 % de los animales en celo a los 7 días de la inyección, y sólo el 40 o 50 % del total de los animales manifestaría celo a los 3 a 5 días del tratamiento. Los días que se demora en presentar el celo luego de la inyección depende de la etapa de desarrollo en que se encuentre el cuerpo lúteo (Ferguson *et al.* 1993).

Contrariamente a lo antedicho, Fernández Tubino (1998) menciona que la caída en el nivel de P4 (indicador real de la luteólisis) se produce casi simultáneamente en todas las vacas, independientemente del día del ciclo en que fueron inyectadas. Lo que realmente sucede, es que una vez producida la luteólisis, el celo no aparece hasta que exista un folículo preparado para ovular en alguno de los ovarios, y el tiempo necesario para que esto ocurra es variable según la fase del desarrollo de la onda folicular en que se encuentren los

ovarios de cada animal inyectado.

Para mejorar la sincronización se debe repetir la PGF2 α a los 11 – 14 días de la primera inyección. La utilización del método de sincronización utilizando dos inyecciones de PGF2 α separadas por 14 días, hace necesaria la detección de celo, ya que cuando se inseminaron a tiempo fijo (72 a 80 horas luego de la segunda inyección) el porcentaje de preñez fue muy bajo (Stevenson *et al.* 1987, citados por Pursley *et al.* 1997b).

Para evitar la detección de celos se desarrollaron métodos que sincronizan la ovulación mediante el conocimiento de las dinámicas foliculares. Uno de los protocolos más utilizados consiste en el uso combinado de GnRH y PGF2 α . La propuesta básica de este método consiste en lograr sincronizar eficientemente una onda folicular para llevarla a la ovulación en un momento esperado, permitiendo inseminar los animales aún sin presencia de celo evidente, ya que lo que interesa es tener “un óvulo en el útero” y no “un celo en el animal”. La GnRH aplicada el día 0 del tratamiento, iniciado en cualquier momento del ciclo, induce la liberación de LH. En respuesta a la LH desaparece el folículo dominante de la onda folicular en curso, dependiendo de su etapa de desarrollo, ya sea por ovulación y formación de un nuevo cuerpo lúteo o por atresia. En función de esto desciende el nivel de estradiol y se inhibe la posibilidad de celo espontáneo entre los días 0 y 6 del tratamiento. Paralelamente se inicia una nueva onda folicular con un folículo dominante definido al día 6 del tratamiento (Fernández Tubino, 1998).

La administración de PGF2 α siete días más tarde provoca la regresión de las estructuras luteales formadas (Thatcher *et al.* 1995, citados por Viñoles y Cavestany, 1996). Pursley *et al.* (1997b), mencionan que un período de siete días es suficiente para provocar la regresión del cuerpo lúteo accesorio creado por la inyección inicial de la GnRH. La PGF2 α hace regresar el cuerpo lúteo original o inducido para permitir la maduración del nuevo folículo dominante reclutado.

Una segunda dosis de GnRH asegura la ovulación del folículo dominante de la onda formada a partir de la primer dosis. De no aplicarse la segunda inyección, los animales ovularían en un período entre 84 y 120 horas luego de la inyección de PGF2 α (Pursley *et al.* 1995). Viñoles y Cavestany (1996), mencionan que la inseminación a las 15 horas de la segunda aplicación de GnRH, permite la fecundación del ovocito liberado. Sin embargo Pursley *et al.* (1997b), observaron que la última inyección de GnRH provocó la sincronización de la ovulación entre las 24 y 32 horas posteriores a la misma y por lo tanto la inseminación se debe realizar entre 20 y 24 horas después de la última inyección. Aparentemente las reducciones en los porcentajes de concepción y preñez en las vaquillonas, observados en el protocolo de inseminación a tiempo fijo cuando se administra GnRH 24 horas luego de la PGF2 α , son debidas a una mayor ocurrencia de ciclos cortos. La ocurrencia de ciclos cortos no fue antes mencionada por otros autores para vacas multíparas. Las primeras dos inyecciones del protocolo no causaron directamente la

ocurrencia de ciclos cortos ya que los mismos se dan únicamente en las vaquillonas que recibieron una segunda inyección de GnRH. Por eso los ciclos cortos son el resultado de la baja proporción de vaquillonas que formaron un cuerpo lúteo accesorio, luego de la primer inyección de GnRH, comparado con las vacas multíparas. La mayor ocurrencia de ciclos cortos en vacas es debido a la diferencia en el momento de la ovulación espontánea entre vacas y vaquillonas luego de la aplicación de las primeras dos inyecciones del protocolo (Silcox *et al.* 1995, citados por Schmitt *et al.* 1996b). Las vacas lactando desarrollan folículos más grandes que se vuelven antes en el período preovulatorio menos estrogénicos, comparado con las vaquillonas. Esto hace que los folículos preovulatorios, respondan diferente a la liberación de LH inducida por la administración de GnRH. Probablemente, el retraso en el crecimiento preovulatorio en las vaquillonas, podría explicar la mayor frecuencia de ciclos cortos, observada en los tratamiento de inseminación a tiempo fijo. La falla en la regresión luteal no es la causa principal del aumento de la frecuencia de ciclos cortos en vaquillonas (Schmitt *et al.* 1996b).

La reducción en la incidencia de ciclos estrales cortos cuando se suministra la GnRH 48 horas luego de la PGF2 α , en vez de suministrarse 24 horas después, indica que existe un tiempo más prolongado entre la regresión del cuerpo lúteo y el pico ovulatorio de LH, que permite un mayor desarrollo del folículo ovulatorio.

La ovulación de un folículo dominante de la primer onda, puede inducirse con una inyección de GnRH (8 μ g de Buserelina) o 3000 UI de hCG. Sin embargo, el cuerpo lúteo resultante de la ovulación inducida por la GnRH, tiene una capacidad reducida para segregar P4, comparado con el cuerpo lúteo inducido con la hCG (Schmitt *et al.* 1996b). Debe mencionarse que una única inyección de buserelina (10 μ g i.m.), provoca una liberación de LH por 5 horas en vaquillonas, lo cual es aproximadamente la mitad de la duración cuando se da naturalmente, o cuando se da un pico preovulatorio de LH asociado a PGF2 α . La duración normal de la liberación de LH es de 10 horas, e induce una estimulación más completa del folículo ovulatorio y la formación de un cuerpo lúteo de una duración normal. En el ganado, la hCG persiste en el plasma, por un período más prolongado luego de una inyección i.m. (Seguin *et al.* 1977, citados por Schmitt *et al.* 1996b). Cuando se suministró i.m. a una dosis de 3000 UI, la hCG fue detectada en el plasma de las vaquillonas hasta 66 horas luego de la inyección (Schmitt *et al.* 1996). En el ganado, el aumento en la frecuencia pulsátil de LH y en las concentraciones basales, medidas entre la regresión del cuerpo lúteo y el pico preovulatorio de LH (Rahe *et al.* 1980, citados por Schmitt *et al.* 1996b), acelera la maduración del folículo ovulatorio.

Una mayor exposición a la actividad de la LH, mediante una inyección de hCG, elimina la mayor frecuencia de ciclos cortos, mediante una mayor luteinización y diferenciación del folículo ovulatorio, comparado con el inducido por la GnRH.

Cuando se induce un cuerpo lúteo después de la administración de hCG o GnRH,

las concentraciones de P4 en plasma, fueron mayores en aquellas vacas tratadas con hCG comparadas con las tratadas con GnRH (Schmitt *et al.* 1996a).

En otro protocolo donde se utiliza PGF2 α el día 12 del ciclo estral, se aplicó hCG el día 5 del ciclo estral para mejorar la sincronización del celo inducido por la PGF2 α , pero se obtuvo una reducción de la misma y una prolongación del intervalo hasta el estro (Hariardi *et al.* 1997).

La falla de la hCG en la sincronización del celo inducido por la PGF2 α , puede deberse a una falla en la luteólisis inducida por la PGF2 α o a un retraso en la emergencia de una segunda onda folicular. Las mayores concentraciones de P4 en plasma el día 14 en los tratamientos con hCG comparado al testigo, probablemente reflejaron un retraso en la luteólisis y no una incompleta remoción de los altos niveles de P4 presentes el día 12. La razón de esta demora no es clara, pero fue asociada con altas concentraciones de P4 en plasma en el día 12.

Las mayores concentraciones de P4 en plasma en vacas tratadas con hCG el día 12 del ciclo estral, no fueron relacionadas al tiempo de ocurrencia del celo. Esto indica que el retraso en el inicio del estro en vacas tratadas con hCG, no es debido a un efecto de los altos niveles de P4 en plasma en el crecimiento y maduración folicular durante el diestro. Altas concentraciones de P4 durante el diestro no interfieren con los patrones de crecimiento de las ondas foliculares, pero sí disminuyen la secreción de LH y suprimen el crecimiento del folículo dominante (Hariardi *et al.* 1997).

F. PRINCIPALES FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS HORMONALES

1. Nutrición, condición corporal y peso

Un nivel moderado de subnutrición en el último trimestre de la gestación, retrasa la reanudación de la ovulación; esto ocurre sin afectar los patrones regulares de crecimiento y regresión del folículo dominante, o la habilidad de estos folículos para ovular luego de una inyección de LH o GnRH. Por otro lado, una restricción severa en el consumo durante el período del pre y postparto está caracterizada por una disminución en el tamaño máximo del folículo preovulatorio así como a la persistencia de folículos dominantes anovulatorios, y a un incremento en el intervalo parto - estro. Por último una extremada subnutrición, durante este período resulta en una ausencia de folículos mayores a 5 mm de diámetro en el ovario.

El principal déficit endocrino asociado al retraso en la reanudación de la ciclicidad del ovario, es la falla del hipotálamo en reanudar los patrones normales de pulsatilidad de la

GnRH y LH y de esta manera sostener el desarrollo del folículo preovulatorio. Zurek *et al.* (1994) mencionan que uno de los mecanismos más importantes del déficit energético que afecta la reproducción es la inhibición de la hormona liberadora de LH (GnRH) y de la frecuencia en los pulsos de LH necesarios para el crecimiento de los folículos del ovario hasta una etapa preovulatoria. Esslemont *et al.* (1977), citados por Garrido y Herrera (1996), mostraron que los bajos niveles de glucosa en sangre estaban asociados con bajos niveles de nutrición, relacionándose con anestros y tasas de concepción más bajas. La hipoglucemia resulta en fallas de la adenohipófisis para liberar gonadotropinas y como consecuencia la actividad del ovario y del útero se ven afectadas. Este autor sugiere que en animales sufriendo subalimentación, la liberación de FSH y LH es insuficiente para permitir la dominancia folicular, inhibiendo la presentación de celo y ovulación. El estradiol folicular está en una concentración demasiado baja para producir la maduración final del folículo y la ovulación, aunque estos fenómenos algunas veces ocurren sin celo especialmente en vacas recién paridas. Wolfenson *et al.* (1995) también mencionan que en vacas lactando los patrones de desarrollo folicular fueron afectados por el balance energético y por varios factores que afectan el mismo, como son la etapa de lactación, nivel de producción de leche, consumo de concentrados energéticos así como sales de calcio y ácidos grasos de cadena larga.

La condición corporal al parto está inversamente correlacionada con el intervalo entre el parto y el retorno al estro (García Tabar, 1983). Haresign *et al.* (1978), también notaron que la condición corporal o el peso corporal de la vaca al parto es relativamente más importante que el nivel de nutrición postparto. Ryan *et al.* (1995), tomaron como valor aceptable de condición corporal, para realizar un tratamiento de sincronización, a los animales que presentaban una condición corporal mayor o igual a 2,5. Además mencionan que las vacas que tuvieron menos de 2,5 de condición, tendieron a presentar un menor porcentaje de preñez, comparado con las que presentaban una condición corporal mayor a 2,5 al momento de la inseminación.

Por otra parte Esslemont (1977), citado por Garrido y Herrera (1996), estudiaron la influencia del cambio de peso sobre la fertilidad. Aunque no todos los resultados publicados están de acuerdo, una conclusión general es que el peso corporal es menos importante que si el animal está perdiendo peso. De igual forma indicaron que no hubo efecto del peso corporal promedio sobre el intervalo parto - concepción, pero que el peso mínimo, es decir el menor peso durante la lactancia y la tasa de ganancia de peso, después que se alcanzó este peso mínimo afecta el intervalo parto - concepción. Además cuanto mejor es la condición corporal de la vaca al parto, mayor es el grado de pérdida de peso vivo que se puede permitir antes de alcanzar esta condición crítica y por lo tanto la nutrición es menos probable que sea relevante con respecto a la actividad reproductiva.

2. Temperatura ambiente y fotoperíodo

La exposición de vacas lactando a un estrés calórico afecta el normal desarrollo de la primer y segunda onda folicular. Particularmente afecta el patrón de crecimiento folicular y la subsecuente regresión de la primer onda, como también la emergencia y desarrollo de un segundo folículo preovulatorio. Se verificaron incrementos de tamaño de los folículos y un inicio temprano de la segunda onda folicular, debido a la falta de estradiol en plasma.

Estudios recientes han indicado que los folículos ováricos son susceptibles al estrés térmico. En la primer onda folicular (en vacas lactando y bajo un estrés calórico), se encontró que el folículo dominante era de menor tamaño (menor diámetro) y con menos líquido en el día 8 del ciclo estral, respecto a vacas en condiciones de confort térmico. Se verificó con ultrasonografía que durante los primeros 7 días el folículo dominante había sido alterado, se constató también que hubo un descenso en la cantidad de folículos de tamaño medio (Wolfenson *et al.* 1995).

Las alteraciones en el desarrollo folicular durante un estrés calórico en vacas lactando pueden interactuar con otros componentes del sistema reproductivo. Por ejemplo; afectando el normal desarrollo del folículo preovulatorio y en consecuencia influyendo en la secreción de P4 por el cuerpo lúteo. Las bajas secreciones de P4 por las células luteales colectadas en verano respecto al invierno, son debido al daño ocasionado al folículo preovulatorio. También las tasas de concepción en vacas lecheras son afectadas negativamente por las altas temperaturas incidiendo mayormente en la fase folicular (Wolfenson *et al.* 1995).

La segunda onda folicular dura más tiempo en vaquillonas en condiciones termoneutras, respecto a las que están bajo un estrés calórico. La ovulación del folículo dominante de la segunda onda en ambiente termoneutro ocurre entre el día 9 al 11. En vaquillonas expuestas al calor, la segunda onda folicular no se desarrolla completamente, siendo remplazada por una tercer onda. El menor tamaño folicular que presentan dichas vaquillonas está asociado a una menor concentración de estradiol, entre el día 11 al 21 del ciclo estral. El estrés calórico inhibe el crecimiento y el normal funcionamiento del folículo dominante, determinando tres ondas foliculares por ciclo y un retraso en la regresión del cuerpo lúteo.

El tamaño del folículo dominante de la segunda onda, decrece en vacas con estrés calórico, respecto a vacas en un ambiente termoneutro. El mayor tamaño del folículo de dichas vacas está determinado por una mayor pulsatilidad de LH, después de una caída temprana de P4. El estrés calórico retrasa la regresión del cuerpo lúteo, enlenteciendo la caída de P4, llevando a que ocurriera más tarde en el ciclo estral y por lo tanto alargándolo (Wilson *et al.* 1998). Badinga *et al.* (1995), citados por Wilson *et al.* (1998), también verificaron el menor tamaño folicular y la disminución en la actividad del folículo dominante en vacas lactando expuestas a altas temperaturas. En estas condiciones

ambientales, se incrementó el largo del ciclo estral y disminuyó la manifestación del celo. Fueron más susceptibles a estas condiciones las vacas lactando que las vaquillonas.

En cuanto al fotoperíodo el mismo era mayor a las 12 horas al momento de realizar el experimento, lo cual puede mejorar la performance reproductiva. Según Reksen *et al.* (1999), un fotoperíodo mayor a 12 horas disminuyó el intervalo parto – concepción y en consecuencia el intervalo entre partos. A su vez la tasa de no retorno al celo sufrió un incremento y los servicios por concepción se vieron disminuidos.

III. MATERIALES Y METODOS

A. LOCALIZACION

El estudio se realizó en el establecimiento lechero comercial "La Armonía", perteneciente al Sr. Federico Rinke. Dicho establecimiento, está ubicado en el departamento de Paysandú, sobre Ruta 3 km. 417, Paraje Queguayar, 6ta. Sección Policial, aproximadamente a 40 kms. al norte de la capital departamental.

B. ANIMALES UTILIZADOS

Para llevar a cabo el estudio, se utilizaron 57 vacas de raza Holando en producción, con una condición corporal promedio de 2,3 +/- 0,4 según la escala del INIA del 0 al 5 (Cavestany, D. Condición corporal. INIA, La Estanzuela, Unidad de Lechería) y un peso vivo medio de 482 +/- 47 kilos. Dichos animales se encontraban en promedio, al inicio del experimento en 33 +/- 7 días postparto, con una producción media de 23,5 +/- 3,5 litros diarios, y el número de lactancias promedio era de 3,5 +/- 1,5 (ver anexo 1).

Los animales fueron seleccionados en base a los días postparto (25 a 45 días), debido a que era de interés del estudio, conocer los efectos de los tratamientos en un anestro muy temprano.

La alimentación del ganado durante el ensayo, consistió en el pastoreo de pradera convencional y 4 kilos de ración con un 14% de PC. Durante los meses de diciembre y enero se agregó a la dieta sorgo forrajero.

El ensayo se realizó a partir de octubre de 1998 hasta enero de 1999; los registros de temperaturas y precipitaciones ocurridos en dicho período se presentan en el anexo 2.

C. TRATAMIENTOS

El total de animales fue dividido en tres lotes iguales de 19 vacas; adjudicando a cada lote un tratamiento distinto, también se tomó un grupo control de 28 vacas. La etapa del ciclo estral al inicio de los tratamientos no era conocida.

El día 0 del tratamiento 1 consistió en una inyección de 1 cc de PGF2 α (Iliren, partida 01U002, Laboratorio Hoechst) y una inyección de 5 cc de GnRH (Receptal, partida 020001, Laboratorio Hoechst). El día 7 se inyectó 2 cc de PGF2 α y el día 9, 5 cc

de GnRH. La inseminación se realizó a tiempo fijo, 15 a 18 horas a partir de la última inyección de GnRH.

Referente al tratamiento 2; en el día 0 fue suministrada una dosis de 1 cc de PGF2 α y otra dosis de 250 UI de hCG (Progón, Laboratorio Dispert), posteriormente el día 7 se administró una nueva dosis de hCG de 400 UI junto a 2 cc de PGF2 α . La inseminación se realizó a tiempo fijo 66 a 70 horas a partir de la aplicación del día 7, a excepción de los animales que manifestaron celo en dicho lapso. Estos animales fueron inseminados 12 horas luego de detectado el celo.

En el tratamiento 3, se utilizó una inyección de 1 cc de PGF2 α y otra de 250 UI de hCG, el día 0 del tratamiento. Luego en el día 7 se aplicó 2 cc de PGF2 α y a posteriori 5 cc de GnRH en el día 9. La inseminación se realizó a tiempo fijo, 15 a 18 horas a partir de la última inyección de GnRH. Cabe mencionar, que la administración de las hormonas, en la totalidad de los casos fue vía intramuscular y en forma separada. A continuación se presenta en forma esquemática los protocolos utilizados.

Cuadro 1: Esquema de los protocolos hormonales.

	DIA 0	DIA 7	DIA 9
TRATAMIENTO 1	PGF2 α /GnRH	PGF2 α	GnRH
TRATAMIENTO 2	PGF2 α /hCG	PGF2 α /hCG	
TRATAMIENTO 3	PGF2 α /hCG	PGF2 α	GnRH

Cuadro 2: Momento de aplicación de las hormonas.

	Día 0	Día 7	Día 9	Día 10 (L.A.)
TRATAMIENTO 1	4 PM	4 AM	4 PM	7 AM
TRATAMIENTO 2	4 PM	4 AM		10 AM
TRATAMIENTO 3	4 PM	4 AM	4 PM	7 AM

Respecto al lote control, la inseminación artificial se realizó basándose en la detección de celos. La detección se cumple a diario, únicamente en horas del mediodía, realizándose inmediatamente la inseminación.

Se utilizó semen congelado en pajuelas del mismo origen tanto para los tratamientos como para el control.

Para poder evaluar la actividad luteal de los animales bajo tratamiento, se midió la concentración de P4 en sangre. Se extrajo sangre a 10 animales por cada tratamiento, 7 días después de la primer inseminación. Cada muestra de sangre fue colocada en tubos de 10 ml y la obtención del suero se realizó colocando los mismos en una centrifugadora, a una velocidad de 6000 rpm durante 15 minutos. Una vez finalizada la centrifugación, de cada tubo se obtuvieron dos copias de suero las cuales fueron identificadas y congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en tubos épendorf hasta el momento en que se realizaron los análisis.

La determinación de los niveles de progesterona fue realizada mediante la técnica de radioinmunoanálisis (RIA), con Kits de fase sólida (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, California, USA), previamente validado para la especie desarrollada en 1959 (Yallow y Berson, 1959, citados por Labat y Mertens, 1996). El rango de trabajo de la curva estándar fue de 0,1 ng/ml a 10,0 ng/ml, mientras que la sensibilidad del análisis fue de $\pm 0,04$ ng/ml; el coeficiente de variación intraensayo fue de 4,2 % y el coeficiente de variación interensayo, utilizando ensayos anteriores realizados con el mismo Batch de reactivos fue menor al 9 %.

Al total de las vacas en producción, se les realizó diagnóstico de gestación por palpación rectal, el día 2 de marzo y 3 de agosto. Asimismo se llevó a cabo, sólo en los animales bajo nuestro estudio, un segundo diagnóstico utilizando ecógrafo el día 12 de abril. Con los resultados obtenidos en las tres evaluaciones se calculó el porcentaje de preñez de la primer y segunda inseminación.

D. ANALISIS ESTADISTICOS

Para poder analizar estadísticamente los porcentajes de preñez, se utilizó la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado. Para el análisis de las variables, peso, número de lactancia, producción de leche y el período parto - primera inseminación, se calcularon intervalos de confianza, mientras que se realizó un análisis de varianza para el intervalo entre la primer y segunda inseminación.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A. CARACTERISTICAS DE LOS ANIMALES EVALUADOS

Los tratamientos hormonales se aplicaron a grupos homogéneos de animales en cuanto a condición corporal y días de anestro postparto.

En el siguiente cuadro se presentan los datos promedio de los animales utilizados en cada tratamiento y en el testigo.

Cuadro 3: Condición corporal, peso vivo, número de lactancias y producción de los animales tratados y el testigo.

	CC	PV	Lactancia	Prod. 30 d.	Prod. 60 d.
T. 1	2,3 +/- (0,34)	498 +/- (38,23)	4,40 +/- (1,67)	24,35 +/- (3,43)	24,51 +/- (3,94)
T. 2	2,3 +/- (0,42)	470 +/- (54,84)	3,16 +/- (1,30)	24,16 +/- (3,42)	23,08 +/- (4,54)
T. 3	2,3 +/- (0,34)	477 +/- (52,18)	2,89 +/- (1,12)	22,27 +/- (3,67)	22,85 +/- (2,67)
TESTIGO			4,21 +/- (1,73)	23,80 +/- (5,53)	24,84 +/- (4,66)

1. Condición Corporal y Peso Vivo

Al considerar las vacas con un estado menor a 2,5 se observó que el porcentaje de preñez no presentó diferencias significativas ($P > 0,10$) respecto a las vacas con una condición mayor a 2,5 (17,8 % vs. 10,3 %). Sin embargo existe cierta tendencia inversa a la esperada, pudiendo ser explicada por la baja condición que presentaban la totalidad de las vacas. El bajo promedio de condición corporal de los animales de nuestro tratamiento (2,3), es de esperar que haya afectado negativamente la performance de los protocolos hormonales. En cuanto a la condición corporal, Risco *et al.* (1995), mencionan que los tratamientos con GnRH y PGF2 α no son efectivos en animales con un estado menor a 2,7. Por otro lado también comprobaron que las vacas de menor condición presentaban un anestro postparto más prolongado. A su vez Ryan *et al.* (1995), obtuvieron un menor porcentaje de preñez en los animales con condición corporal menor a 2,5 (53,5 % vs. 58%).

El rodeo en estudio presentó un peso promedio de 481 kilos y las variaciones de peso no fueron registradas. Respecto al peso vivo Esslemont (1977), citado por Garrido y Herrera (1996), menciona que el peso corporal es menos importante que si el animal está perdiendo peso, por lo que los valores de peso estático tienen poca relevancia al momento del análisis.

2. Número de lactancias y producción de leche

Con relación a nuestro trabajo, el criterio tomado al momento de asignar los animales fue tener más de una lactancia, por lo que existe diferencia significativa ($P < 0,05$) en el número promedio de lactancias entre el tratamiento 3 y los restantes, pero poco relevante desde el punto de vista biológico (ver anexo 3).

En referencia a la relación entre el número de lactancias y el intervalo parto – concepción, Stevenson *et al.* (1990), citados por Marti y Funk (1994), mencionan que las vacas con mayor número de lactancias presentan un mayor número de días abiertos, posiblemente por un aumento en la incidencia de desordenes reproductivos, un mayor estrés debido al incremento en la producción o un retraso intencional en la inseminación en las vacas de mayor producción del rodeo.

El rodeo estudiado presenta una producción promedio histórica a los 305 días de aproximadamente 5000 kilos y la producción promedio al momento de iniciado el tratamiento es de 23,5 litros diarios. Estos altos valores de producción en conjunto con la baja oferta forrajera, podrían estar incrementando el anestro postparto. Sin embargo las vacas de menor producción no tuvieron mayor porcentaje de preñez, esto puede estar explicado a que la mayoría de las vacas presentaban altos niveles de producción (> 20 litros/día).

Faust *et al.* (1988), citados por Marti y Funk (1994), encontraron que las vacas con alta producción presentan mayor intervalo parto a primer inseminación, menor porcentaje de preñez y mayor número de inseminaciones. En su trabajo Marti y Funk (1994), concluyen basándose en un modelo de regresión, que por cada 100 kilos de incremento en la producción se obtiene un aumento en los días abiertos de 1,1 a 1,3; en un rodeo con una producción media de 7000 kilos corregidos a 305 días y un promedio de 115,3 días abiertos.

B. PERFORMANCE REPRODUCTIVA

Entre los objetivos de la aplicación de los protocolos hormonales se encuentra la reducción del intervalo parto – concepción, lo que hace posible obtener un ternero por año.

Al evaluar el intervalo parto - 1° inseminación y el porcentaje de preñez obtenido en la misma, se observaron resultados variables los que se presentan a continuación.

Cuadro 4: Días entre parto – 1° inseminación y porcentaje de preñez

	I.P.-1° I.A.	% Preñez
TRATAMIENTO 1	43,40	5,26
TRATAMIENTO 2	42,89	26,32
TRATAMIENTO 3	44,63	10,53
TESTIGO	117,86	25

Es claramente notorio la reducción en el intervalo parto – 1° inseminación cuando se compara los 43 días promedio de los tratamientos con los 117 días transcurridos en el testigo. Sin embargo el porcentaje de preñez obtenido fue significativamente ($P < 0,06$) menor para el tratamiento 1 y 3, mientras que el tratamiento 2 igualó los resultados del testigo. Es importante aclarar que los porcentajes de preñez de los protocolos se logran con las primeras ovulaciones, las cuales tienen menor fertilidad frente a ovulaciones con 120 días de período postparto.

Para observar el poder residual de los tratamientos se registró el porcentaje de preñez y el intervalo parto - 2° inseminación, los cuales se pueden ver en el siguiente cuadro.

Cuadro 5: Días entre 1° y 2° inseminación, días entre parto - 2 da. inseminación y porcentaje de preñez de la 2° inseminación

	1°-2° I.A.	I.P.-2° I.A.	% Preñez
TRATAMIENTO 1	103,11	150	31,25
TRATAMIENTO 2	101,1	146	50
TRATAMIENTO 3	80,81	125,56	37,5
TESTIGO	80,56	189	37,5

No se encontraron diferencias significativas en los días desde la 1° a la 2° inseminación entre los tratamientos y el testigo ($P > 0,10$). Por otro lado al haber fijado el intervalo parto - 1° inseminación en los tratamientos, el intervalo parto - 2° inseminación se encuentra afectado, no siendo comparable con el testigo.

La detección de celos se realiza una vez al día durante el mediodía, siendo por lo tanto ineficiente según la bibliografía, la cual menciona que para llevar a cabo una adecuada detección se deben realizar por lo menos dos observaciones diarias con una

duración aproximada de 45 minutos (Fernández Abella, 1995).

Debido a una inadecuada detección de celos, los datos no permiten cuantificar un efecto residual de los tratamientos ya que el intervalo transcurrido hasta la 2° inseminación supera los 60 días. Esto determinó que los resultados de los protocolos se vean manifiestos únicamente en el porcentaje de preñez obtenido con la primer inseminación. Además, si observamos el % de preñez con la segunda inseminación (cuadro N°5), se aprecia que los tratamientos hormonales no afectaron negativamente la normal ciclicidad de los animales.

El porcentaje de preñez con la primer inseminación para el tratamiento 1 es de aproximadamente 35% (Pursley *et al.* 1995, 1997ab). Esto supera ampliamente los datos del ensayo, pero al considerar los días postparto al inicio del tratamiento, se vio que los mismos son aplicados después de 70 días, y con una variación de 70 a 289 días postparto.

Pursley *et al.* 1995, obtuvieron una preñez de 26 % y 43,4 % al inseminar entre los 60 a 75 y más de 75 días postparto respectivamente, por lo cual recomiendan que para obtener el mayor porcentaje de preñez en la primera inseminación, la misma debe realizarse en un periodo superior a los 75 días postparto.

Cavestany y Foote (1985), mencionan que los tratamientos con GnRH son menos efectivos cuando se inician en un postparto muy temprano, y que se obtienen mejores resultados cuando existen folículos terciarios en crecimiento al momento del tratamiento.

Por lo antes mencionado, es de esperar que la estimulación de la GnRH a la ovulación no haya sido exitosa, debido a la ausencia de un folículo con un tamaño adecuado capaz de responder a la gonadotropina. El desarrollo folicular se vio perjudicado por el balance energético negativo que presentaban los animales a los 42 días postparto, momento de inicio del tratamiento.

En el tratamiento 2, la preñez no difiere significativamente respecto al testigo, pero se logró adelantar 74 días la primer inseminación. La superioridad de este protocolo al aplicarse en un anestro muy temprano, puede ser explicada por la capacidad de la hCG de inducir a la ovulación folículos de menor tamaño en comparación con la GnRH (1,5 vs. 4 mm).

En cuanto al tratamiento 3, si bien éste no difiere significativamente con el 1, puede observarse una leve mejoría respecto a este último, esto es fundamentado por las propiedades de la hCG mencionadas anteriormente.

Los protocolos hormonales utilizados tienen como objetivo la sincronización de una nueva onda folicular y la posterior ovulación del folículo dominante, permitiendo realizar la inseminación a tiempo fijo. El mecanismo de acción de los mismos fue fundamentado

previamente en la revisión.

En nuestro estudio se evaluó el uso combinado de distintas hormonas de acción gonadotrópica con prostaglandinas, encontrándose antecedentes bibliográficos para el tratamiento 1 a diferencia del 2 y el 3.

La aplicación de PGF2 α el día 0 para los tres tratamientos tuvo como objetivo acelerar la involución uterina ya que los tratamientos se iniciaron en un postparto muy temprano. Sin embargo Cooper y Foote (1986), citados por Revah *et al.* (1989) encontraron que en este período el útero ya está estimulado al máximo por las prostaglandinas endógenas y no responde a la aplicación exógena. Esto se reafirma con el trabajo de Kindhal *et al.* (1984), citados por Revah *et al.* (1989) donde fue necesario administrar 25 mg de PGF2 α dos veces al día durante diez días para acortar 10 días la involución uterina.

Por otro lado, la PGF2 α se mencionó como agente terapéutico en animales que presentaban infecciones uterinas por su acción luteolítica (Etherington *et al.* 1983, 1984; Paisley *et al.* 1986). Este efecto de la PGF2 α no fue evaluado ya que no se diagnosticó el estado clínico del rodeo.

Con respecto a la dosis de PGF2 α utilizada el día 7 de los tratamientos, se verificó que fue una dosis menor a la recomendada por el laboratorio (2 vs. 5cc). Esto podría tener como consecuencia una luteólisis incompleta, lo que trae aparejado una menor sincronización en la ovulación y una menor fertilidad cuando se insemina a tiempo fijo.

Al evaluar los diferentes protocolos, los resultados obtenidos muestran un mejor comportamiento de la hCG en comparación con la GnRH. Esto puede ser explicado por una mayor liberación de LH provocada por la mayor duración de la hCG en plasma. Una mayor exposición a la actividad de la LH, provoca una estimulación más completa del folículo ovulatorio y una mejor luteinización, determinando la formación de un cuerpo lúteo con mayor capacidad para segregar P4 (Schmitt *et al.* 1996a).

En nuestro estudio se determinó la actividad luteal mediante la evaluación de la concentración de P4 en plasma, siete días luego de la inseminación para observar posibles diferencias entre tratamientos.

La aplicación de las hormonas el día 0 de los tratamientos tiene como objetivo inducir la ovulación de los folículos de mayor tamaño, formándose por lo tanto un cuerpo lúteo adicional, el cual es lisado junto con el cuerpo lúteo original, mediante la administración de PGF2 α el día 7. En los tratamientos 1 y 3 la última dosis de GnRH así como la de hCG para el tratamiento 2, tienen como objetivo inducir a la ovulación al folículo dominante de la nueva onda y consecuentemente se forma un nuevo cuerpo lúteo. Esto determina que al momento de extraer la muestra de sangre, siete días luego de la

inseminación, se espere que los animales presenten un cuerpo lúteo desarrollado y por lo tanto altas concentraciones de P4 en sangre. Sin embargo, los datos obtenidos indican que en el 45,1 % de los animales no se indujo la ovulación, ya que la concentración de P4 en plasma fue menor a 1 ng/ml lo que determina la ausencia de un cuerpo lúteo funcional. En el siguiente cuadro se presentan los niveles de P4 en plasma de 31 animales a los cuales se les extrajo sangre.

Cuadro 6: Concentración de progesterona en plasma en ng/ml y estado reproductivo por animal y tratamiento.

TRATAMIENTO 1			TRATAMIENTO 2			TRATAMIENTO 3		
N°	ER 1er. LA.	Conc. de P4 (ng/ml)	N°	ER 1er. LA.	Conc. de P4 (ng/ml)	N°	ER 1er. LA.	Conc. de P4 (ng/ml)
4	V	0.38	265	P	2.92	363	V	4.4
8	V	0.85	322	V	0.13	453	V	1.57
65	V	0.16	369	V	1.6	539	V	0.42
188	V	0.72	629	V	0.22	580	V	0.09
207	V	0.19	630	V	2.92	609	V	2.17
219	V	1.95	661	V	0.19	613	V	0.25
240	P	3.3	722	P	2.77	665	V	1.67
269	V	2.42	1148	V	0.09	1136	V	4.09
289	V	2.45	1276	V	2.52	1171	V	2.2
522	V	0.11	3000	V	5.44			
546	V	2.45						
606	V	0.13						

En el tratamiento 1 el 41,7 % de los animales presentaron una concentración de P4 en plasma mayor a 1 ng/ml, siendo similar a lo obtenido en el tratamiento 2 y 3 los cuales mostraron valores de 60 % y 66,7 % respectivamente.

La calidad de un cuerpo lúteo está dada por su capacidad para segregar P4. Martínez (1988), citado por Revah *et al.* (1998), mencionan que niveles de P4 superiores a 1 ng/ml son indicativos de la presencia de un cuerpo lúteo funcional. También Risco *et al.* 1995, coinciden con que las vacas con un nivel de P4 mayor a 1 ng/ml presentan un quiste luteal, mientras aquellas que tienen menos de 1 ng /ml de P4 presentan un quiste folicular. Por otro lado Elmarimi *et al.* (1982), citan que valores de más de 2 ng/ml son indicativos de la actividad del tejido luteal.

Respecto a la calidad del cuerpo lúteo formado, se vió que la concentración de P4 promedio era de 2,51, 3,03 y 2,68 ng/ml para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente. Si

bien no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (ver anexo 3), se observa una tendencia del tratamiento 2 a formar un cuerpo lúteo de mayor calidad dado el nivel de P4 obtenido.

En cuanto a la dosis utilizada de hCG, si bien en el tratamiento 2 se obtuvo un mayor porcentaje de preñez que en los restantes, estas diferencias podrían haber sido más notorias si se hubiera incrementado la dosis aplicada. Schmitt *et al.* (1996b), mencionan que para inducir la ovulación de un folículo dominante de la primer onda fue necesaria la aplicación de 8 μ g de busarelina o 3000 UI de hCG. A su vez Hariardi *et al.* (1997), también emplean 3000 UI de hCG para sincronizar las ondas foliculares. La dosis utilizada en nuestros protocolos es de 400 UI, lo que difiere ampliamente a las citadas anteriormente.

La baja dosis utilizada es justificada debido a que altas dosis de hCG pueden provocar una hiperestimulación folicular, lo que puede llevar a ovulaciones múltiples. Dada la gran diferencia existente entre la dosis aplicada en el experimento y la citada por la bibliografía, sería conveniente realizar otros ensayos utilizando dosis intermedias con el objetivo de obtener un incremento en el porcentaje de preñez y evitar gestaciones múltiples.

La ovulación en un momento esperado permite la inseminación a tiempo fijo, sin la necesidad de detectar celo. Si bien no fue determinado el momento de la ovulación en nuestro estudio, basándonos en la bibliografía, sería favorable un retraso en el momento de la inseminación, realizando la misma entorno a las 20 horas.

Según la bibliografía consultada, existen algunas diferencias en el intervalo entre la última dosis de GnRH o hCG y la inseminación. Pursley *et al.* (1995), mediante ultrasonografía, determinaron que la totalidad de las vacas ovulan entre 24 a 32 horas después de la GnRH, y realizan la inseminación 20 a 24 horas después de la misma. Fernández Tubino (1998), recomienda inseminar 18 a 24 horas luego de la última inyección. Por otro lado Viñoles y Cavestany (1996), trabajando con vaquillonas realizan la inseminación 15 horas luego de la última GnRH.

Referente a las condiciones ambientales en las cuales se realizó el trabajo, las mismas fueron en promedio temperaturas de 21°C, llegando a una temperatura máxima de 37°C en el mes de diciembre. En general, se estima que cuando la temperatura máxima supera los 27°C el ambiente es estresante para los animales. Es sabido que la tasa de concepción estival es menor que la de primavera, otoño e invierno, Valtorta y Gallardo (1996) citan una disminución del 10 al 15% para la zona de Santa Fe.

La tasa de concepción está asociada tanto a la temperatura rectal como a la uterina; un aumento de 1°C en la temperatura rectal o de 1,8°C en la uterina, provocan disminuciones significativas en la tasa de concepción. Por lo tanto la inseminación bajo condiciones de estrés, resultará en una menor tasa de fertilización y podría afectar la

viabilidad de los embriones hasta, aproximadamente, el día 16 postservicio (Valtorta y Gallardo, 1996). Wolfenson *et al.* (1995), asocian una menor fertilidad en el verano con una alteración en la dinámica folicular y una disminución de la dominancia del folículo de mayor tamaño.

C. ANALISIS ECONOMICO

Desde el punto de vista económico, el costo referido exclusivamente a los protocolos hormonales fue de U\$S 10,67; U\$S 5,31; y U\$S 7,82 para el tratamiento 1, 2 y 3 respectivamente. Para realizar el cálculo de los costos, se tomaron en cuenta los precios del mercado de las hormonas utilizadas.

Cuadro 7: Costo de los protocolos hormonales (U\$S)

	Día 0	Día 7	Día 9	TOTAL
TRATAMIENTO 1	4,69	2,58	3,40	10,67
TRATAMIENTO 2	1,84	3,47	***	5,31
TRATAMIENTO 3	1,84	2,58	3,40	7,82

La principal ventaja de los tratamientos fue la reducción en el intervalo parto - 1° inseminación, la cual fue de 75 días. Pese a que el porcentaje de preñez fue menor en dos tratamientos respecto al control, dicha reducción permitirá la ocurrencia de tres ciclos estrales, incrementando la posibilidad de lograr porcentajes de concepción más altos. De dicho análisis podemos concluir que el intervalo interpartos será reducido, logrando así un mayor número de lactancias por animal y por ende obteniendo una mayor cantidad de picos productivos. Debido a la escasa información nacional, no se puede cuantificar desde el punto de vista económico las ventajas de acortar el intervalo interpartos, pero existe bibliografía extranjera que menciona una pérdida de U\$S 0,25 a U\$S 4,68, por cada día abierto que supere los 85 días postparto (Fetrow y Blanchard 1987, citados por Pankowski *et al.* 1995).

V. CONCLUSIONES

La aplicación en un anestro muy temprano (32 días postparto), de tres tratamientos hormonales de inseminación artificial a tiempo fijo, constituidos por la combinación de hormonas de acción gonadotrópica y prostaglandinas, presentó como principal ventaja la inseminación del total de los animales a los 42 días postparto, lográndose una preñez de 14 %. Por lo tanto dichos protocolos hormonales permitieron adelantar en 75 días el intervalo parto - primer inseminación. Es interesante notar además, que el adelanto mencionado, para el predio en estudio, permitió disponer de tres celos, antes de llegar a los 117 días, momento en que se insemina por primera vez al grupo control. Sin embargo, dichas ovulaciones no pudieron ser aprovechadas debido a la inadecuada detección de celos realizada en el predio. Esta limitante, impidió poder evaluar un posible efecto residual de los tratamientos, debido a que el período transcurrido entre la primer y segunda inseminación fue de 90 días.

Al comparar el porcentaje de preñez de los tratamientos con el grupo testigo, si bien tienen un principio de acción similar al lograr la sincronización de las ondas foliculares, se verificó que el tratamiento 1 (GnRH/PGF2 α /GnRH) y 3 (hCG/PGF2 α /GnRH) presentan un valor significativamente menor (5,26 % y 10,53 % respectivamente) a diferencia del tratamiento 2 (hCG/PGF2 α /hCG) que igualó los resultados (26,32 %).

Es de destacar que el tratamiento 2 mostró una serie de ventajas respecto a los restantes tratamientos en estudio. La principal ventaja a mencionar fue que se logró reducir 75 días el intervalo parto - primer inseminación manteniendo el porcentaje de preñez obtenido en el testigo. A su vez dicho protocolo, es el de menor costo y el que presenta una mayor facilidad en su aplicación, al suministrar las hormonas el día 0 y 7 comparado a los demás tratamientos, en los cuales es necesario un tercer día para completar el protocolo (día 9). También mostró una tendencia a formar un cuerpo lúteo de mejor calidad por la mayor capacidad de segregar P4, disminuyendo la incidencia de ciclos cortos. Es importante aclarar que en el tratamiento 2, era necesaria la detección de celos luego del suministro de PGF2 α y hCG el día 7, por una posible manifestación de celo lo que lleva a un adelanto en la inseminación. Al comprobarse una mala detección de celos en el predio, el porcentaje de preñez obtenido fue perjudicado.

Existieron factores que influyeron negativamente en los resultados obtenidos, principalmente la baja condición corporal de los animales y las altas temperaturas ambientales. Asimismo, las dosis hormonales utilizadas para el caso de la PGF2 α fueron inferiores a las recomendadas, por lo que pudieron existir fallas en la luteólisis. Respecto a la hCG, las dosis utilizadas fueron bajas para evitar superovulaciones, sin embargo las

mismas eran muy inferiores respecto a las citadas en la bibliografía, recomendándose la utilización de dosis intermedias.

La aplicación de estos protocolos hormonales constituyó una herramienta para mejorar la performance reproductiva, permitiendo lograr así un impacto positivo en la producción. Esto sugiere continuar su investigación en futuros trabajos considerando, dosis diferenciales, estado corporal de los animales a tratar y época del año.

VI. RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron tres protocolos hormonales de sincronización con inseminación artificial a tiempo fijo, en un rodeo lechero comercial en el departamento de Paysandú. El experimento se realizó en los meses de octubre a enero, utilizándose 57 vacas de raza Holando en producción para los tratamientos y 28 vacas para el grupo testigo. Dichos animales se encontraban en promedio, al inicio del experimento en 33 +/- 7 días postparto, con una producción media de 23,5 +/- 3,5 litros diarios y el número de lactancias promedio era de 3,5. Así mismo presentaban una condición corporal promedio de 2,3 +/- 0,4 según la escala del INIA (0 a 5) y un peso vivo medio de 482 +/- 47 kilos. La elección de los animales se basó en los días postparto (25 a 45 días) por ser de interés del estudio el conocer los efectos de los protocolos en un anestro muy temprano. La etapa del ciclo estral no era conocida al inicio del estudio. El tratamiento 1 consistió en una inyección de 1 cc de PGF2 α y 5 cc de GnRH el día 0, 2 cc de PGF2 α el día 7 y 5 cc de GnRH el día 9. La inseminación se realizó 15 a 18 horas a partir de la última inyección de GnRH. En el tratamiento 2 se aplicó 1 cc de PGF2 α y 250 UI de hCG el día 0 y 2 cc de PGF2 α y 400 UI de hCG el día 7. La inseminación se realizó 66 a 70 horas a partir de la aplicación del día 7. En el tratamiento 3 se evaluó, 1 cc de PGF2 α y 250 UI de hCG el día 0, 2 cc de PGF2 α el día 7 y 5 cc de GnRH el día 9. La inseminación se realizó 15 a 18 horas a partir de la dosis del día 9. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal y luego se verificó con ecógrafo. Para poder evaluar la actividad luteal de los animales bajo tratamiento se midió la concentración de P4 en sangre 7 días luego de la inseminación. El porcentaje de preñez obtenido en la primer inseminación fue de 5,26 %, 26,32 % y 10,53 % para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente, mientras que el porcentaje de preñez del testigo fue de 25 %. La aplicación de los protocolos permitió inseminar todas las vacas de los tratamientos a los 43 días postparto, mientras que en el control la primer inseminación se realizó en promedio a los 117 días, lo que demuestra una reducción en el intervalo parto – primer inseminación debido a los tratamientos. El mejor comportamiento se obtuvo con el tratamiento 2 que igualó el porcentaje de preñez alcanzado por el testigo y redujo el intervalo parto – primer inseminación. A su vez mostró una tendencia a formar un cuerpo lúteo de mejor calidad dado los mayores niveles de P4 obtenidos en el análisis, lo que disminuye la incidencia de ciclos cortos. La aplicación de estos protocolos hormonales constituyó una herramienta para mejorar la performance reproductiva, permitiendo lograr así un impacto positivo en la producción. Esto sugiere continuar su investigación en futuros trabajos considerando los factores que afectaron negativamente nuestro ensayo.

Palabras claves: holando, sincronización, GnRH, hCG, PGF2 α .

VII. SUMMARY

In the present study was evaluated three hormonal protocols of synchronisation for fixed time artificial insemination in a commercial Uruguayan Holstein dairy herd, in the northern province of Paysandú. The experiment was realised from October until January. It were used 57 lactating cows and 28 lactating cows for the control group. The animals had at the beginning of the experiment, 33 +/- 7 days postpartum, an average daily milk production of 23,5 +/- 3,5 l and the average number of lactation was 3,5. They had also a similar body condition averaging 2,3 +/- 0,3 (scale INIA 0 – 5) and the average weight was 482 +/- 47 kg. The selection of the animals was based on the days postpartum (25 to 45 days), because the objective of the experiment was to analyse the effects of the hormonal protocols in the early anestrus. The experiment was initiated at a random stage of the estral cycle. The treatment 1 consist in a injection of 1 cc of PGF2 α and 5 cc of GnRH on day 0, 2 cc of PGF2 α on day 7 and 5 cc of GnRH on day 9. The artificial insemination was 15 to 18 h after the last injection of GnRH. The treatment 2 consist in 1 cc of PGF2 α and 250 UI of hCG on day 0 and 2 cc of PGF2 α and 400 UI of hCG on day 7. The artificial insemination was 66 to 70 h after the injection of day 7. The treatment 3 evaluated, 1 cc of PGF2 α and 250 UI of hCG on day 0, 2 cc of PGF2 α on day 7 and 5 cc of GnRH on day 9. The artificial insemination was 15 to 18 h after the doses of day 9. The pregnant diagnostic was done throw rectal palpation and was verified with ecografie. To evaluate the luteal activity it was measured the serum P4 concentration, 7 days after the breeding. The pregnant percentage obtained with the first insemination was 5,26 %, 26,32 %, and 10,53 % for treatment 1, 2 and 3 respectively. The application of this hormonal protocols allowed the first insemination to be on day 43 postpartum, whereas in the control group it was in average on day 117 postpartum. This demonstrate a reduction in the interval from calve to first breeding. The best result was obtained with treatment 2 who reached the same pregnant percentage that the control group and reduced the interval calve to first breeding. The results from P4 in serum reported a tendency from treatment 2 to form a corpus luteum with better quality, reducing the incidence of short cycles. The application of this hormonal protocols appear as a useful management tool to improve the reproductive performance, obtaining a positive impact on the production. This suggest to continue the investigation with further experiments considering the negative factors that affected this work.

Key words: holstein, synchronization, GnRH, hCG, PGF2 α .

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; GUNTHER, O.J. 1992a. The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and FSH in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 95: 627-640.
2. ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H.; GINTHER, O.J. 1992b. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*. 94: 177.
3. BENMRAD, M.; STEVENSON, J.S. 1986. Gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂ α for postpartum dairy cows: Estrous, ovulation, and fertility traits. *Journal of Dairy Science* 69: 800.
4. BRITT, J.H.; KITTOK, R.J.; HARRISON, D.S. 1974. Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early postpartum cows. *Journal of American Science* 39(5): 915-919.
5. BRITT, J.S.; GASKA, J. 1998. Comparison of two estrus synchronization programs in a large, confinement-housed dairy herd. *Journal of American Veterinary Medical Association* 212(2): 210-212.
6. CAVESTANY, D. 1982. Fisiología del puerperio. Paysandú, Facultad de Agronomía, EEMAC. 28p (Repartido N° 758).
7. CAVESTANY, D.; FOOTE, R.H. 1985. Reproductive performance of holstein cows administered GnRH analog HOE 766 (Buserelin) 26 to 34 days postpartum. *Journal Animal Science* 61(1): 224-232.
8. CHENAULT, J.R.; KRATZER, D.D.; RZEPKOWSKI, R.A.; GOODWIN, M.C. 1990. LH and FSH response of holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 34: 81.
9. DOHOO, I.R.; MARTIN, S.W. 1984. Disease production and culling in Holstein-Friesian cows. III. Disease and production as determinants of disease. *Prev Vet Med* 2: 755-770.

10. ELMARIMI, A.A.; GIBSON, C.D.; MORROW, D.; MARTENIUK, J.; GERLOFF, B.; MELANCON, J. 1982. Use of prostaglandin F2 α in the treatment of unobserved estrus in lactating dairy cattle. *Animal Journal Veterinarian Restore* 44(6): 1081-1084.
11. ETHERINGTON, W.G.; BOSU, W.T.K.; MARTIN, S.W.; COTE, J.F.; DOIG, P.A.; LESLIE, K.E. 1983. Reproductive performance in dairy cows following postpartum treatment with gonadotrophin releasing hormone and/or prostaglandin: a field trial. *Canadian Journal Comparative Medical* 48(3): 245-250.
12. ETHERINGTON, W.G.; MARTIN, S.W.; DOHOO, I.R.; BOSU, W.T.K. 1984. Interrelationships between postpartum events, hormonal therapy, reproductive abnormalities and reproductive performance in dairy cows: a path analysis. *Canadian Journal Comparative Medicals* 49(3): 261-267.
13. FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T. 1993. Prostaglandin synchronization programs in dairy herds-part I. The compendium on continuing education for the practicing veterinarian. *Dairy Production Management* 15(4): 646-655.
14. FERNANDEZ ABELLA, D. 1989. Conceptos básicos sobre la regulación y perfiles hormonales durante el ciclo estral. Paysandú, Facultad de Agronomía, EEMAC. 5p (Repartido N° 614).
15. FERNANDEZ ABELLA, D. 1993. Principios de la fisiología reproductiva ovina. Montevideo, Hemisferio Sur 247 p.
16. FERNANDEZ ABELLA, D. 1995. Temas de reproducción ovina e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Montevideo Facultad de Agronomía. 206 p.
17. FERNANDEZ TUBINO, A. 1998. Ondas foliculares: su importancia en los métodos de sincronización de celos en bovinos. Centro Veterinario de Florida. Prácticas Veterinarias. N° 6. 34 p.
18. FRICKE, P.M.; REYNOLDS, P.L.; REDMER, D.A. 1993. Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *Journal Animal Science* 71: 1242-1246.
19. GARCIA TABAR, J.A. 1983. Alimentación, estado corporal, producción y reproducción en la hembra bovina. Paysandú, Facultad de Agronomía, EEMAC. 11p (Repartido N° 693).

20. GARRIDO OLASO, L.I.; HERRERA AGUERRE, C.A. 1996. Estudio de dos métodos de sincronización de celos en vacas lecheras en producción. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 79p.
21. GAUTHIER, D.; MAULÉON, P. 1983. Influence of dietary intake and weight variation on LH release after a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) injection during the post-partum period of the nursing cow. *Reproduction Nutrition Development*. 23(5): 829-835.
22. GAUTHIER, D.; YAOUANC, A.; COCHAUD, J.; MAULÉON, P. 1981. Influence d'une sous-alimentation de la vache allaitante sur l'induction de l'ovulation par l'hormone gonadotrope sérique (PMSG) au cours du post-partum. *Reproduction Nutrition Development*. 21(4): 577-583.
23. GAY, J.M.; UPHAM, G.L. 1994. Effect of exogenous prostaglandin F2 α in clinically normal postparturient dairy cows with a palpable corpus luteum. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 205(6): 870-873.
24. GUIBAULT, L.A.; LUSSIER, J.G.; GRASSO, F.; MATTON, P. 1990. Influence of a GnRH analogue on follicular dynamics in cows pretreated or not with FSH-P. *Theriogenology* 33: 240.
25. HAFEZ, E.S.E. 1989. Reproducción e inseminación artificial en animales de granja. 5ta. ed. México, Interamericana Mc Graw-Hill. 694 p.
26. HARESIGN, W.; LAMMING, G.E. 1978. Comparison of LH release and luteal function in cyclic and LH-RH-treated anoestrus ewes pretreated with PMSG or oestrogen. *Journal of Reproduction and Fertility*. 52: 349-353.
27. HARIARDI, MAS'UD.; BROOMFIELD, D.; WRIGHT, P.J. 1997. The synchrony of prostaglandin-induced estrus in cows was reduced by pretreatment with hCG. *Theriogenology* 49: 967-974.
28. HUSSEIN, F.M.; EILTS, B.E.; PACCAMONTI, D.L.; YOUNIS, M.Y. 1992. Effect of repeated injections of GnRH on reproductive parameters in postpartum anoestrus dairy cows. *Theriogenology* 37(3): 605-617.
29. JUBB, T.F.; BRIGHTLING, P.; MALMO, J.; LARCOMBE, M.T.; ANDERSON, G.A.; HIDES, S.J. 1989. Evaluation of a regimen using a progesterone releasing intravaginal device (CIDR) and PMSG as a treatment for post partum anoestrus in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal* 66(10): 334-336.

30. KESLER, D.J.; GARVERICK, H.A.; YOUNGQUIST, R.S.; ELMORE, R.G.; BIRSCHWALL, C.J. 1977. Effect of days postpartum and endogenous reproductive hormones on GnRH-induced LH release in dairy cows. *Journal of Animal Science* 64(4): 797-803.
31. KIRBY, C.J.; WILSON, S.J.; LUCY, M.C. 1997. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F2 α . *Journal of Dairy Science* 80(2): 286-294.
32. KITTOCK, R.J.; BRITT, J.H.; CONVEY, E.M. 1973. Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts. *Journal of Animal Science* 37: 985.
33. KO, J.C.H.; KASTELIC, J.P.; DEL CAMPO, M.R.; GINTHER, O.J. 1991. Effect of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrus cycle in heifers. *Theriogenology* 91: 511.
34. LABAT ABELLA, M.A.; MERTENS SERODIO, M.J. 1996. Evaluación del uso de la PGF2 α y su combinación con el benzoato de estradiol y PMSG en la fertilidad de vacas holando. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 97p.
35. LeBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; CELEN, H.J.; KELTON, D.F.; KEEFE, G.P. 1998. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin F2 α . *Journal of Dairy Science* 81(2): 375-381.
36. LEE, C.N.; MAURICE, E.; AX, R.L.; PENNINGTON, J.A.; HOFFMAN, W.F.; BROWN, M.D. 1983. Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. *Animal Journal Veterinarian Restore* 44: 2160.
37. LESLIE, K. E.; DOIG, P.A.; BOSU, W.T.K.; CURTIS, R.A.; MARIN, S.W. 1984. Effects of gonadotropin-releasing hormone on reproductive performance of dairy cows with retained placenta. *Canadian Journal Comparative Medicals* 48: 354.
38. MARTI, C.F.; FUNK, D.A. 1994. Relationship between production and days open at different levels of herd production. *Journal of Dairy Science* 77: 1682-1690.
39. MERTENS, M.J.; LABAT, M.; FERNANDEZ ABELLA, D.; RODRIGUEZ BLANQUET, J.B. 1997. Montevideo. Facultad de Agronomía. Dinámica folicular ovárica de los bovinos. 10p.

40. MORTON, J.M.; ALLEN, J.D.; HARRIS D.J.; MILLER G.T. 1992. Failure of a single postpartum prostaglandin treatment to improve the reproductive performance of dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 69(7): 158-160.
41. NASH, J.G.; BALL, L.; OLSON, J.D. 1980. Effects on reproductive performance of administration of GnRH to early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 50: 1017-1021.
42. OLSON, J.D.; BALL, L.; MORTINMER, R.G.; FARIN, P.; ADNEY, W.S.; HUFFMAN, E.M. 1984. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Animal Journal Veterinarian Restore* 45: 2251-2255.
43. PAISLEY, L.G.; MICKELSEN, W.D.; ANDERSON, P.B. 1986. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections. A review. *Theriogenology* 25: 353-381.
44. PANKOWSKI, J.W.; GALTON, D.M.; ERB, H.N.; GUARD, C.L.; GROHN, Y.T. 1995. Use of prostaglandin F₂ α as a postpartum reproductive management tool for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78(7): 1477-1488.
45. PENNINGTON, J.A.; ALBRIGHT, J.L.; DIEKMAN, M.A. 1985. Sexual activity of holstein cows: seasonal effects. *Journal of Dairy Science* 68(11): 3023-3030.
46. PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α , and GnRH. *Theriogenology*. 44(7): 915-923.
47. PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.R.; WILTBANK, M.C. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. . *Journal of Dairy Science* 80: 301-306.
48. PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S.; OTTOBRE, J.S.; GARVERICK, H.A.; ANDERSON, L.L. 1997b. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronizd estrus. *Journal of Dairy Science* 80: 295-300.
49. REKSEN, O.; TVERDAL, A.; LANDSVERK, K.; KOMMISRUD, E.; BOE, K.E.; ROPSTAD, E. 1999. Effect of photointensity ando photoperiod on milk yield and reproductive performance of Norwegian red cattle. *Journal of Dairy Science* (4): 810-816.

50. RETTMER, I.; STEVENSON, J.S.; CORAH, L.R. 1992. Endocrine responses and ovarian changes in inseminated dairy heifers after an injection of a GnRH agonist 11 to 13 days after estrus. *Journal of Animal Science* 70: 508.
51. REVAH, I.; LOMAS, R.; ZARCO, L.; GALINA, C. 1989. Evaluación del tratamiento rutinario con prostaglandina F2 α en el día 30 o 40 postparto sobre la actividad ovárica y la eficiencia reproductiva de vacas Holstein. *Veterinaria México* 20(2): 135-143.
52. RICHARDSON, G.F.; ARCHBALD, L.F.; GALTON, D.M.; GODKE, R.A. 1983. Effects of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α on reproduction in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 19: 763.
53. RISCO, C.A.; de la SOTA, R.L.; MORRIS, G.; SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W. 1995. Postpartum reproductive management of dairy cows in a large Florida dairy herd. *Theriogenology*. 43(7): 1249-1258.
54. RYAN, D.P.; SNIJDERS, S.; YAAKUB, H.; O'FARRELL, K.J. 1995. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *Journal of Animal Science*. 73(12): 3687-3695.
55. SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; de la SOTA, R.L.; WOLFENSON, D. 1993. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrus cycle in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 97(1): 197-203.
56. SCHMITT, É.J.-P.; BARROS, C.M.; FIELDS, P.A.; FIELDS, M.J.; DIAZ, T.; KLUGE, J.M.; THATCHER, W.W. 1996a. A cellular and endocrine characterization of original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*. 74(8): 1915-1929.
57. SCHMITT, É.J.-P.; DIAZ, T.; DROST, M.; THATCHER, W.W. 1996b. Use of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *Journal of Animal Science*. 74: 1084-1091.
58. SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with lows levels of progesterone: a model for studying follicular dominance. *Endocrinology* 127: 916.

59. SMITH, M.W.; STEVENSON, J.S. 1995. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F₂ α and progesterin in the absence or presence of a functional corpus luteum. *Journal of Animal Science* 73(12): 3743-3751.
60. STEVENS, R.D.; MOMONT, H.W.; SEGUIN, B.E. 1993a. Simultaneous injection of follicle stimulating hormone (FSH) and the prostaglandin F₂ α analog cloprostenol (PGF) disrupts follicular activity in diestrous dairy cows. *Theriogenology* 39(2): 381-387.
61. STEVENS, R.D.; SEGUIN, B.E.; MOMONT, H.W. 1993b. Simultaneous injection of PGF₂ α and GnRH into diestrous dairy cows delays return to estrus. *Theriogenology* 39(2): 373-380.
62. STEVENSON, J.S.; CALL, E.P. 1988. Fertility of postpartum dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂ α : a field trial. *Journal of Dairy Science* 71(7): 1926-1933.
63. STEVENSON, J.S.; PURSLEY, J.R. 1994. Use of milk progesterone and prostaglandin F₂ α in a scheduled artificial insemination program. *Journal of Dairy Science* 77(6): 1755-1760.
64. TANABE, T.Y.; DEEVER, D.R.; HAWK, H.W. 1994. Effect of gonadotropin-releasing hormone on estris, ovulation, and ovum cleavage rates of dairy cows. *Journal of Animal Science* 72(3): 719-724.
65. THATCHER, W.W.; WILCOX, C.J. 1973. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 56: 608.
66. TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. 1994a. Influence of corpus luteum and ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol. *Journal of Animal Science* 72(7): 1796-1805.
67. TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; RAMKUMAR, R.; DUFOUR, J.J. 1994b. Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science* 72(1): 192-200.
68. TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. 1995a. Buserelin alters the development of the corpora lutea in cyclic and early postpartum cows. *Journal of Animal Science* 73(3): 805-811.

69. TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; DUFOUR, J.J. 1995b. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 73:3141-31514.
70. ULLAH, G.; FUQUAY, J.W.; KEAWKHONG, T.; CLARK, B.L.; POGUE, D.E.; MURPHEY, E.J. 1996. Effect of gonadotropin-releasin hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating holsteins during heat stress. *Journal of Dairy Science* 79(11): 1950-1953.
71. URUGUAY. MGAP. DIEA. 1998. La Lechería en el Uruguay: Caracterización productiva y tecnológica. DIEA. Boletín Informativo. 123p.
72. VALTORTA, S.; GALLARDO, M. 1996. El estrés por calor en producción lechera. Estación experimental Rafaela, INTA. (Miscelánea N° 81). Pp. 173-185.
73. VIÑOLES, C.; CAVESTANY, D. 1996 Sincronización de celos e inseminación a tiempo fijo en vaquillonas holando. In Primer congreso uruguayo de producción animal, (1996, Montevideo) Facultad de Agronomía. Montevideo, A.U.P.A. pp. 241-243.
74. VON FREY, G.W.; SAUER, V.M.; RAMIREZ, C.J.; SCHEIDEGGER, G.A.; TELLO, C.L. 1989. Efecto de la buserelina análogo de la hormona liberadora de gonadotrofinas, sobre la fertilidad en vacas de lechería, administrada al momento de la primera inseminación postparto. *Avances en Ciencias Veterinarias* 4(1): 39-42.
75. WILSON, S.J.; KIRBY, C.J.; KOENIGSFELD, A.T.; KEISLER, D.H.; LUCY, M.C. 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science* 81(8): 2132-2138.
76. WOLFENSON, D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; SAVIO, J.D.; MEIDAN, R.; LEW, B.J.; BRAW-TAL, R.; BERMAN, A. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of reproduction* 52(5): 1106-1113.
77. YOUNG, I.; ANDEDRSON, D.B. 1986. First service conception rate in dairy cows treated with dinoprost tromethamine early postpartum. *Veterinarian Rec.* 118: 212-213.
78. ZUREK, E.; FOXCROFT, G.R.; KENNELLY, J.J. 1994. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78: 1909-1920.

ANEXOS

ANEXO 1

Condición corporal, peso vivo, número de lactancias y producción a los 30 y 60 días postparto, por animal y por tratamiento.

Tratamiento 1

Caravana	CC	PV	Lact.	Prod 30 d pp	Prod 60 d pp
4	2	502	3	27	28.2
8	2	470	5	20.8	23
65	2	534	6	26.2	27.6
108	2	480	7	26.2	28
188	2.5	485	6	25	26.4
207	2.5	485	6	25	26.3
219	2.5	490	5	24.4	26.3
225	2	526	6	28	18.6
240	2.5	475	6	21.2	23.5
269	2.5	560	4	31	32.8
285	2.5	455	5	17	21.4
289	2.5	598	6	20	24.5
428	2	470	3	22.6	20
485	3	505	3	26.8	23.2
522	3	514	3	21.6	23.2
546	2.5	463	2	22.2	25
606	2	470	2	27	26.2
673	2	454	2	21.2	14.6
3000	2.5	498	5	25.3	24.2
3849	2	536	3	28.4	27.2
3000	2.5	498	5	25.3	24.2
Media	2,33	498,5	4,4	24,26	24,51

Tratamiento 2

Caravana	CC	PV	Lact.	Prod 30 d pp	Prod 60 d pp
9	2	540	3	28	24.8
120	2	470	6	19.9	19.6
198	2	514	6	28	18.6
265	2	560	4	31	30.2
322	3	545	4	26	29.1
369	2.5	502	4	20	21.7
405	3	490	2	22.2	10.2
529	2.5	428	3	24	24.7
559	3	460	2	22	23
629	2	393	2	20.6	22.8
630	2	410	2	19.2	20.5
636	2.5	420	2	24.4	18.4
645	3	463	2	22	23.4
660	2	438	2	23.4	23.8
661	2	380	2	26	25.9
722	2	420	3	26.2	25.4
1148	2.5	472	3	21.4	23.8
1276	2	530	3	29.4	28.5
3000	2.5	498	5	25.3	24.2
Media	2,34	470,16	3,16	24,16	23,08

Tratamiento 3

Caravana	CC	PV	Lact.	Prod 30 d pp	Prod 60 d pp
106	3	495	6	25	21.2
297	2.5	524	4	22	19
363	2	480	3	24.2	22
423	2	447	4	24.6	23
429	2	470	3	23.4	21.2
441	2.5	435	4	11.6	20
453	2	480	3	21.4	23
539	2.5	470	3	19.2	21
553	2.5	552	2	22.4	24.3
565	3	460	3	18	21
580	2	475	2	24	25.1
609	2	470	2	21.2	23.5
613	2.5	550	2	25	27.3
616	2	450	2	19.7	24.1
665	2	390	2	21.6	24.8
676	2	410	2	20.6	18.2
677	2.5	440	2	24	21.4
1136	2	520	3	27.2	26.8
1171	2.5	556	3	28.1	27.3
Media	2,29	477,6	2,89	22,27	22,85

Grupo Testigo

Control	Lact.	Prod 30 d pp	Prod 60 d pp
42	3	26.6	27
53	5	27	36
63	7	21.8	27.2
71	7	18.8	23.6
77	6	19	18.8
117	7	22.8	22.4
132	6	18.6	24.8
148	7	22.2	21.8
228	6	23	24.6
243	6	24.4	23
283	6	28	21.4
302	4	18	22.6
320	5	29.6	27.4
327	3	30	30
350	4	28	22.6
409	3	11.3	20
412	2	18.8	25.6
426	3	17.6	30.4
487	2	26.6	28.4
491	3	21	26.6
501	2	21.6	27.6
536	3	23.2	11.2
3906	3	24.6	25.2
4003	3	29.6	24.6
4025	3	41.2	30.2
4087	3	25.6	29.4
4119	3	24.4	20.4
8215	3	23	22.6
Media	4.21	23.80	24.84

ANEXO 2

Precipitaciones y temperatura máxima, mínima y media registradas durante el ensayo.

	MAXIMA (°C)	MINIMA (°C)	MEDIA (°C)	PP (mm)
Octubre-98	35	5.6	18.8	60
Noviembre-98	33.7	8.0	20.8	80
Diciembre-98	37	9.7	21.8	145
Enero-99	36	9.1	22.5	156
Febrero-99	35.4	10.3	23.6	110
Marzo-99	38.3	11.2	24.0	170

Fuente: Estación Meteorológica de Paysandú

ANEXO 3

INTERVALOS DE CONFIANZA

PESO VIVO (kg.)

Tratamientos	Media	IC (0,95)
1	498	(480; 515) a
2	470	(445; 494) a
3	477	(453; 500) a

NUMERO DE LACTANCIAS

Tratamientos	Media	IC (0,95)
1	4,40	(3,65; 5,15) a
2	3,16	(2,58; 3,74) ab
3	2,89	(2,39; 3,39) b
Testigo	4,21	(3,57; 4,85) a

PRODUCCION 30 DIAS POSTPARTO (lts.)

Tratamientos	Media	IC (0,95)
1	24,35	(22,81; 25,89) a
2	24,16	(22,62; 25,70) a
3	22,27	(20,62; 23,92) a
testigo	23,80	(21,75; 25,85) a

PRODUCCION 60 DIAS POSTPARTO (lts.)

Tratamientos	Media	IC (0,95)
1	24,51	(22,74; 26,28) a
2	23,08	(21,04; 25,12) a
3	22,85	(21,65; 24,05) a
testigo	24,84	(23,11; 26,57) a

CONCENTRACIÓN DE P4 EN PLASMA (ng/ml)

Tratamientos	Media	IC (0,90)
1	2,51	(2,15; 2,87) a
2	3,03	(2,17; 3,89) a
3	2,68	(1,85; 3,51) a