

CAPÍTULO XXIII

FISIOLOGÍA Y ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN PARA MEJORAR LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA EN EL GANADO BOVINO

- I. INTRODUCCIÓN
- II. CICLO ESTRUAL
- III. INSEMINACIÓN A CIEGAS SIN DETECCIÓN DEL CELO
 1. Estudios de evaluación del OVSYNCH/TAI en vacas lecheras
 2. Factores de manejo que afectan el OVSYNCH/TAI
 3. Inseminación a ciegas en novillas
- IV. MANEJO REPRODUCTIVO DE VACAS CON ESTRÉS CALÓRICO
 1. Modificaciones ambientales y sistemas de alojamiento
 2. Inseminación a ciegas en vacas lecheras durante periodos de estrés calórico
 3. Transferencia de embriones en periodos de estrés calórico durante el verano
- V. MEJORA DE LA SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA
- VI. EL PERIODO POSTPARTO
 1. Balance energético
 2. Condición Corporal
 3. Elevada ingestión de proteína cruda y reproducción
 4. Manejo Nutricional-Reproductivo
- VII. LITERATURA CITADA

William W. Thatcher
Federico Moreira
Charles R. Staples
C. Risco
T. Díaz
D. Ambrose
A. Adams

I. INTRODUCCIÓN

Se han realizado grandes avances en nuestros conocimientos sobre la fisiología y la endocrinología del ciclo estrual, preñez temprana y del periodo postparto. Los avances en estas áreas han conducido a nuevos programas de manejo reproductivo que pueden ser aplicados a vacas lecheras en lactación. Los conceptos de manejo reproductivo necesitan ser integrados dentro de los programas de manejo nutricional y ambiental de las vacas lecheras. Ciertamente estas disciplinas científicas deben ser integradas y combinadas eficientemente con los programas veterinarios de sanidad del rebaño. El objetivo de este Capítulo es ofrecer algunas estrategias de manejo reproductivo, para mejorar el comportamiento reproductivo, que están integradas con programas de manejo nutricional y ambiental. Estos avances deberían ser aplicables a ganado de doble propósito, en los cuales cualquier modificación debería estar basada en los principios básicos de la fisiología reproductiva, endocrinología, nutrición, fisiología ambiental y manejo del rebaño.

II. CICLO ESTRUAL

El ganado bovino presenta ciclos de aproximadamente 21 días. Un rango normal en la duración del ciclo estrual para el ganado bovino es de 17 a 24 días. Los periodos del ciclo estrual son : estro, metaestro, diestro y proestro, los cuales ocurren secuencialmente y en forma cíclica. El estro es considerado como el periodo cuando la vaca es receptiva al toro y permite la monta, siendo su duración de 12 a 18 horas. Un pico preovulatorio de LH ocurre durante el estro (Día 0), dando lugar a eventos que culminan con la ovulación aproximadamente 30 horas mas tarde. En el ganado bovino, el estro termina antes de la ovulación lo que conduce al uso de la inseminación artificial, en la cual el semen puede ser depositado dentro del os anterior del cervix antes de la ovulación para así asegurar buenas tasas de concepción. El periodo de metaestro comienza a partir de la finalización del estro y dura aproximadamente 3 días: es en éste periodo cuando se forma el cuerpo lúteo, ocurriendo la ovulación durante el metaestro. Con la ovulación del folículo estrogénico preovulatorio y la caída del estradiol, se presenta un incremento de la vascularidad uterina y sangramiento metaestral, el cual es mucho más evidente en las novillas que en las vacas maduras. El sangramiento metaestral es debido a la ruptura de capilares y ocurre aproximadamente de 1.5 a 2 días después del fin del estro. El diestro es el periodo del ciclo estrual cuando el cuerpo lúteo es completamente funcional; se inicia el día 5 para el caso de las vacas y dura entre 10 y

14 días). El periodo correspondiente al proestro se inicia con la regresión del cuerpo lúteo y continúa hasta el establecimiento del estro; durante el proestro, se observa el crecimiento y desarrollo continuo del folículo preovulatorio cuya producción de estradiol inducirá el comportamiento de celo. El proestro dura de 3 a 4 días. Las concentraciones de progesterona en leche o plasma, producidas por el cuerpo lúteo, son máximas en el diestro medio.

Utilizando la ultrasonografía transrectal, se ha descrito la dinámica folicular (proceso continuo de crecimiento y regresión de folículos ováricos) durante el ciclo estrual del ganado bovino, basada en la medición del tamaño folicular (>2 mm) y número de folículos para cada animal. El ganado bovino presenta de 2 a 4 ondas de crecimiento folicular durante cada ciclo estrual. Cada onda de desarrollo folicular esta caracterizada por el reclutamiento de una cohorte de folículos con un diámetro de 6 a 9 mm. Un folículo dentro de esa cohorte es seleccionado y se convierte en el mayor folículo de la cohorte. Cuando este folículo es 2 mm más grande que el segundo folículo más grande de la cohorte, el folículo seleccionado se considera dominante y continua su crecimiento en forma lineal antes de entrar en una fase de meseta. La dominancia es extendida por un periodo hasta que el reclutamiento de una nueva cohorte es inhibida. Con la atresia del folículo dominante, se inicia una segunda onda de crecimiento folicular, la cual experimenta los procesos secuenciales de reclutamiento, selección y dominancia.

Precediendo a cada onda de crecimiento folicular se presenta un incremento temporal en la FSH plasmática y el reclutamiento folicular del pool de folículos que poseen un tamaño entre 2 a 5 mm. El proceso de selección del folículo dominante no es completamente comprendido, pero muy probablemente esta asociado con el folículo que posee la mayor sensibilidad a la FSH (por ejemplo, un mayor número de receptores para FSH) y así puede sobrevivir en un ambiente con niveles decrecientes de FSH inducidos por la producción de inhibina por parte del folículo dominante. La reducción en los niveles de FSH previene el reclutamiento de una nueva onda de crecimiento folicular. El folículo dominante seleccionado continua creciendo pero se hace atrésico en la medida que la secreción de LH no es suficiente para mantener un crecimiento continuo en presencia de un cuerpo lúteo y en un ambiente con elevados niveles de progesterona. Con la regresión del cuerpo lúteo, el folículo dominante bien sea de la segunda o tercera onda de crecimiento folicular continuará su crecimiento debido a un incremento en la secreción basal de LH y producirá estradiol. Las altas concentraciones de estradiol y la baja progesterona inducen un pico preovulatorio de LH, el cual induce a su vez la reanudación de la meiosis en el oocito y la subsecuente ovulación. Estos cambios dinámicos en el desarrollo folicular ocurren tanto en *Bos taurus* como en *Bos indicus*.

Posterior a la ovulación, las células de la teca y de la granulosa se diferencian en células esteroideogénicas pequeñas y grandes, respectivamente. Algunas células pequeñas parecen transformarse en células luteales grandes durante el ciclo estrual. La LH es la hormona luteotrópica en el ganado bovino. Las células luteales pequeñas poseen receptores para LH e incrementan su secreción de progesterona en respuesta a la LH. La luteolisis es inducida por la liberación pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$ del epitelio endometrial durante el diestro tardío. La secreción uterina de pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ es dependiente de los efectos de la progesterona, estrógenos y oxitocina sobre el epitelio luminal del útero. La progesterona actúa incrementando los depósitos de fosfolípidos (fuente del ácido araquidónico) y la actividad enzimática de la ciclooxigenasa, necesaria para la conversión del ácido araquidónico en $\text{PGF}_{2\alpha}$. La oxitocina secretada por el cuerpo lúteo y la pituitaria anterior actúa a través de receptores para oxitocina presentes en el epitelio endometrial durante estadios específicos del ciclo estrual y estimula la liberación de pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$. La progesterona asegura el potencial para la liberación uterina de $\text{PGF}_{2\alpha}$ luteolítica. Sin embargo, la progesterona actuando a través del receptor para progesterona suprime el mecanismo luteolítico, inhibiendo la inducción de los receptores para estradiol y oxitocina. Eventualmente, el estradiol proveniente de una onda folicular en desarrollo induce la aparición de receptores para estradiol y oxitocina, debido a que la exposición prolongada a la progesterona disminuye los receptores para progesterona, permitiendo así el desarrollo de un útero sensitivo. La secreción folicular de estradiol incrementa los receptores de oxitocina. La cauterización de los folículos ováricos retrasa la regresión del cuerpo lúteo. Durante el periodo luteolítico, muchos de los pulsos luteolíticos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ coinciden con pulsos de oxitocina. Sin embargo, los pulsos de oxitocina pueden sucederse sin la presencia de un pulso de $\text{PGF}_{2\alpha}$, y viceversa pulsos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pueden ocurrir sin un pulso de oxitocina. No obstante, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ secretada por el útero utiliza un sistema de contracorriente local entre la vena útero-ovárica y la arteria ovárica para inducir la regresión del cuerpo lúteo.

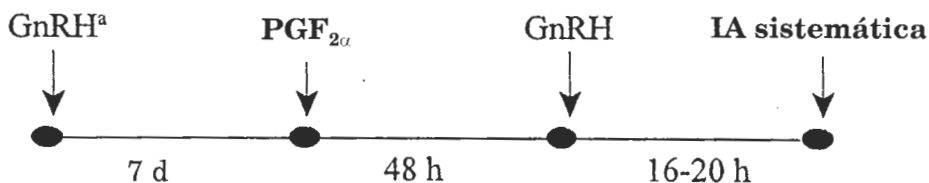
III. INSEMINACIÓN A CIEGAS SIN DETECCIÓN DE CELO

Con nuestro actual conocimiento sobre la dinámica folicular y la actividad del cuerpo lúteo durante el ciclo estrual en el ganado bovino, se ha podido diseñar un nuevo sistema de manejo reproductivo que reduce la necesidad de detectar el celo. En general, los protocolos de sincronización del celo en vacas lecheras en lactación han estado limitados al uso de prostaglandinas $\text{F}_{2\alpha}$ o sus análogos ($\text{PGF}_{2\alpha}$). Sin embargo, el celo no se logra sincronizarlo con la preci-

sión suficiente como para permitir una tasa de concepción aceptable basada en la inseminación a ciegas usando PGF_{2_i} , lo cual se debe a que este tratamiento no sincroniza el crecimiento folicular y el pico preovulatorio de LH. El tratamiento con PGF_{2_i} solo controla la vida del cuerpo lúteo (CL); de manera que la detección de celo es necesaria por un periodo mayor de 7 días después de la aplicación de la PGF_{2_i} [33]. Cuando las vacas son tratadas dos veces con un intervalo de 14 días con PGF_{2_i} , la inseminación a ciegas 72 a 80 horas luego del segundo tratamiento con PGF_{2_i} , la tasa de concepción será menor que en el caso de vacas inseminadas luego de la detección del celo [64]. La baja tasa de concepción luego del uso de PGF_{2_i} se debe a la falta de precisión entre el tratamiento con PGF_{2_i} y el momento de ovulación relativo a la inseminación. Otros protocolos de inseminación a ciegas han sido probados en condiciones en donde se induce un pico de LH posterior a la inyección de PGF_{2_i} . La inyección de hormona liberadora de gonadotropinas 48 horas después de la inyección de PGF_{2_i} , para inducir el pico preovulatorio de LH y para inseminar a ciegas 15 horas después, resultó en una menor tasa de preñez comparada con la detección diaria de celos y la inseminación a celo observado durante un periodo de 25 días (22% vs. 36%, $P < 0.05$) [51]. Igualmente, se ha reportado [15] un incremento en la tasa de preñez en novillas de razas lecheras que recibieron una inyección de benzoato de estradiol (400 g) 40 a 48 horas luego de una inyección de PGF_{2_i} y que fueron inseminadas 80 horas posterior al tratamiento con PGF_{2_i} . Este último es un protocolo promisorio que necesita ser probado en vacas lecheras. Sin embargo, todavía no está aprobado el uso del benzoato de estradiol en vacas lecheras lactantes en los Estados Unidos de Norteamérica.

La inyección de la hormona liberadora de gonadotropinas o sus análogos (GnRH) seguida por el tratamiento con PGF_{2_i} 7 días después, ha sido usada felizmente para sincronizar el celo [67, 69, 72]. En contraste al tratamiento con solo PGF_{2_i} , la GnRH combinada con el tratamiento con PGF_{2_i} , se beneficia de la sincronización del crecimiento folicular y de la secreción de estradiol con la luteolisis en forma secuencial. Esto contribuye a una mayor precisión en **la predicción del momento del celo**. La inyección de GnRH induce el reclutamiento y selección de una nueva onda de crecimiento folicular.

Estudios realizados en la Universidad de Wisconsin y en la Universidad de Florida, han conducido al desarrollo de un nuevo programa de inseminación a ciegas el cual no necesita de la detección de celo en vacas lecheras. La inyección de GnRH puede inducir la ovulación de un folículo dominante y cuando es usada luego de la sincronización del crecimiento folicular y la regresión del CL, puede programar la ovulación e incrementar el éxito de la inseminación artificial a ciegas [43, 49, 56]. Este programa se conoce como el protocolo OVSYNCH y se muestra en la Figura 1. El protocolo OVSYNCH



a. El tratamiento puede ser iniciado en cualquier día del ciclo estrual. A pesar de que las dosis varían entre los análogos de GnRH, sus respuestas fisiológicas son similares.

Figura 1. Protocolo OVSYNCH/TAI.

sincroniza la ovulación dentro de un periodo de 8 horas entre 24 a 32 horas después de la segunda inyección de GnRH. Esta sincronización permite mayores éxitos en la inseminación a ciegas (TAI), sin la necesidad de detectar celo [44]. Debido a que el programa sincroniza la ovulación y permite la inseminación a ciegas, nos referimos a este programa como OVSYNCH/TAI para reflejar los eventos fisiológicos descritos.

La primera inyección de GnRH induce la liberación de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo-estimulante (FSH), favoreciendo la ovulación o luteinización de un folículo dominante e iniciando una nueva onda de crecimiento folicular. En caso de no ser así, será inyectada durante el momento cuando una nueva onda folicular esté iniciándose espontáneamente. Siete días más tarde, la PGF_{2α} inyectada por vía intramuscular debe causar la regresión de todos los CL. Si un CL resultó de la inyección inicial de GnRH, el intervalo de 7 días usualmente provee suficiente tiempo para que madure el CL y sea sensible a la PGF_{2α}. Cuarenta y ocho horas más tarde, una segunda inyección de GnRH debería provocar la liberación de LH y la ovulación de un folículo dominante. El periodo de tiempo entre la primera y la segunda inyección de GnRH (9 días), es suficiente para el reclutamiento, selección y crecimiento de un nuevo folículo dominante hasta que alcance un tamaño preovulatorio, cuando será sensible al pico de LH inducido por el segundo tratamiento de GnRH. La GnRH inducirá la ovulación en aproximadamente 30 horas. Las vacas son artificialmente inseminadas aproximadamente 16 a 20 horas antes de la ovulación. La premisa es que al momento de la ovulación estarán presentes en los oviductos, los espermatozoides capacitados.

1. ESTUDIOS DE EVALUACIÓN DEL OVSYNCH/TAI EN VACAS LECHERAS

Varios estudios han examinado la concepción y la tasa de preñez en vacas lecheras en lactación sometidas al programa OVSYNCH/TAI y han sido comparadas con aquellas inseminadas con celo detectado [10,12,16,42,44,45,46,54,63]. En estos estudios, la tasa de concepción fue definida como el número de vacas preñadas dividido entre el número de vacas inseminadas con celo detectado. La tasa de preñez fue definida como el número de vacas preñadas dividido entre el número de vacas en el grupo bajo estudio. Debido a que todas las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI fueron inseminadas a ciegas, las tasas de concepción y preñez fueron iguales. Las vacas inseminadas luego de la detección de celo habían sido sincronizadas solo con $\text{PGF}_{2\alpha}$ o en combinación con GnRH 60 a 289 días postparto.

En un estudio realizado por Stevenson y colaboradores [63], 143 vacas en lactación y 27 novillas Holstein de reemplazo fueron aleatoriamente asignadas a uno de dos tratamientos. Los animales en el grupo OVSYNCH/TAI ($n=85$) recibieron 100 g de GnRH seguidos en 7 días por $\text{PGF}_{2\alpha}$. Una segunda dosis de GnRH (100 g) fue administrada 30 a 32 horas después de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ para inducir la ovulación del folículo dominante; la inseminación se realizó 18 a 19 horas más tarde. A los animales control ($n=85$) se les administró 25 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ intramuscularmente y fueron inseminados al celo observado. Si el celo no era observado, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ era inyectada nuevamente 14 días más tarde. La tasa de preñez de las novillas y vacas en el grupo OVSYNCH/TAI (35.3%) mostró una tendencia ($P = 0.19$) a ser mayor que la tasa de preñez de los controles (26.5%). Además, la tasa de concepción de vacas y novillas en el grupo OVSYNCH/TAI (35.3%) no difirió significativamente de la tasa de concepción de los animales control (47.1%). En otro estudio, en donde se utilizó el protocolo OVSYNCH/TAI, las tasas de concepción no fueron diferentes de aquellas de vacas lactantes inseminadas durante el celo detectado [43].

Las tasas de concepción y preñez de vacas principalmente de primera lactación que fueron sometidas al OVSYNCH/TAI fueron comparadas con aquellas de vacas sincronizadas con GnRH seguida luego de 7 días con $\text{PGF}_{2\alpha}$ e inseminadas al celo detectado [10]. Este estudio fue conducido en vacas Holstein de primera ($n=233$) y posteriores lactaciones ($n=66$). Todas las vacas fueron tratadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ entre el día 27 y 33 del periodo postparto con el fin de eliminar CLs existentes y para incrementar el número potencial de celos previos a la inseminación artificial. El periodo de reposo voluntario (VWP) fue 75 días para aquellas vacas en sus primeras lactaciones y 60 días para las vacas múltiparas. Los grupos de tratamiento fueron sincronizados con una inyección de GnRH a los 65 ± 3 días postparto en el caso de las vacas primípa-

ras o a los 51 ± 3 días postparto para las vacas multíparas, esta inyección fue seguida 7 días mas tarde por una inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Cuarenta y ocho horas mas tarde, las vacas del grupo OVSYNCH/TAI ($n=171$) recibieron una segunda inyección de GnRH y fueron inseminadas 16 horas después. Las vacas en el grupo control ($n=128$) fueron inseminadas al celo detectado luego de la inyección. Aquellas vacas que fueron observadas en celo antes de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fueron inseminadas al celo detectado (Control, $n=13$ {10%}; OVSYNCH/TAI $n=6$ {3%}). Las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI que exhibieron celo dentro de las 40 horas después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($n=17$ {9%}) fueron inseminadas. Las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI fueron servidas con inseminación a ciegas solo una vez al primer servicio; los servicios subsiguientes fueron realizados luego del celo detectado. Si el celo no era detectado en las vacas del grupo control después de 7 días de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, se les sometía a una segunda sincronización con un agonista de GnRH a los 79 ± 3 días, seguida 7 días después por una inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$. La preñez fue diagnosticada por palpación rectal del útero, 42 días después de la inseminación en ambos grupos. Con el fin de comparar el comportamiento reproductivo de vacas en los grupos sincronizado control y OVSYNCH/TAI con un programa reproductivo menos intensivo fue evaluado un grupo de animales manejado mas convencionalmente. En este ultimo grupo, las vacas recibieron tratamientos periódicos con $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante el postparto; este grupo estaba compuesto de vacas de primera lactación ($n=250$) que parieron dentro de un periodo de 45 días antes del comienzo en los grupos experimental control y OVSYNCH/TAI. Esas vacas fueron mantenidas bajo similares condiciones a aquellas de las vacas en el experimento diseñado.

La tasa de preñez fue de 30.5% para las vacas del grupo Control, inseminadas entre los días 1 al 6 después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, y 29% para las vacas del grupo OVSYNCH/TAI. Las tasas de preñez para las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI fueron relativamente estables, alrededor de un 30% desde Enero a Abril y disminuyeron a 22% en Mayo. Las tasas de preñez en las vacas del grupo Control fueron mucho mas variables de un mes a otro, cayendo de un nivel elevado de 62% durante Enero a solo 12% durante Abril y Mayo (Figura 2 A). Similarmente, el efecto de el programa reproductivo sobre la tasa de concepción estuvo influenciado por el mes del año (Figura 2 B). La tasa de celos detectados fue mayor para la primera sincronización (67.2%) que para la segunda (45.6%). En consecuencia, la tasa de preñez fue menor para aquellas vacas control sincronizadas una segunda vez (10.8% vs 30.2%), mientras que la tasa de concepción no fue diferente (37%) entre la primera y la segunda sincronización. La tasa de concepción general para el día 120 postparto no fue diferente entre las vacas del grupo Control (58.8%) y las vacas del OVSYNCH/TAI (56.2%). El intervalo parto concepción para aquellas

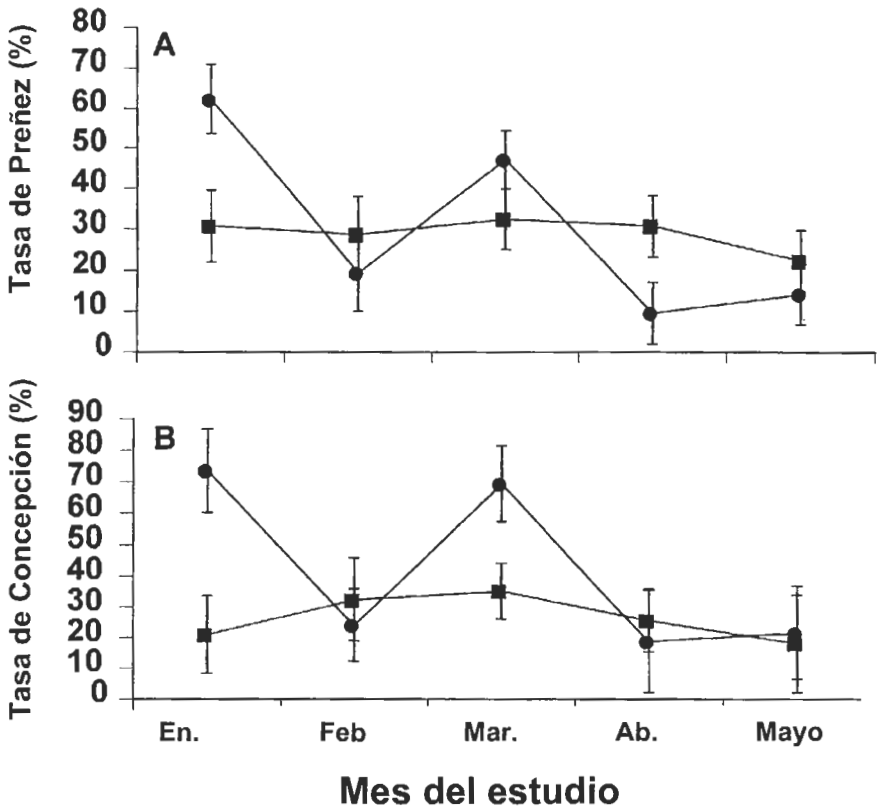


Figura 2.

- (A) Tasa de preñez a la primera IA (%) a la primera sincronización ajustada por tratamiento, lactación y mes para las vacas inseminadas al celo detectado (Control; ●; n= 128) o a la IA sistemática (TI; ■; n= 171). Vacas de TI inseminadas antes de la segunda inyección del agonista GnRH (n= 17) se consideraron no preñadas.
- (B) Tasa de concepción a la primera IA (%) a la primera sincronización ajustada por tratamiento, lactación, mes, técnico y origen del semen para vacas inseminadas al celo detectado (●; n= 85) TI (■; n= 171).

Se presentan los cuadrados mínimos promedios entre Enero y Mayo.

vacas que concibieron antes del día 120 postparto fue menor ($P < 0.07$) en las vacas del grupo OVSYNCH/TAI (79 días) comparadas con las del grupo Control (83.7 días). El número de días posparto para la primera inseminación se redujo en 8.1 días en vacas de primera lactación manejadas dentro del grupo OVSYNCH/TAI y en 6.1 días en vacas multíparas manejadas en el grupo OVSYNCH/TAI comparadas con las vacas del grupo Control ($P < .01$). Para las vacas manejadas bajo un sistema de granja, la tasa de detección de celos fue de 74.0% y la primera inseminación se produjo entre 13 y 82 días postparto.

Este estudio demostró que un programa OVSYNCH/TAI que involucre el uso de GnRH podría eliminar la necesidad de detectar celos y proteger contra algunos factores negativos que afectan la eficiencia reproductiva, debido a que las tasas de concepción y preñez fueron mas consistentes de un mes al siguiente en las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI. Las tasas de preñez y concepción no fueron diferentes entre las vacas control y las vacas manejadas en el grupo OVSYNCH/TAI. La detección de celo no fue necesaria dentro del sistema OVSYNCH/TAI, excepto para las pocas vacas (10%) que fueron observadas en celo antes de la fecha designada para el servicio. El uso del OVSYNCH/TAI permitió un mayor control del manejo reproductivo comparado con las prácticas convencionales de detección de celo de las fincas. Por ejemplo, algunas vacas posparto fueron inseminadas por primera vez muy temprano (13 días) o muy tarde (82 días); sin embargo, la tasa de detección de celos no difirió de mes a mes, aunque otros factores de manejo pudieran haber contribuido a la disminución en la tasa de preñez en las vacas inseminadas al celo detectado durante los meses de Febrero, Abril y Mayo; estas incluyen la inseminación de vacas que no estaban realmente en celo. Esta situación puede ocurrir en vacas inseminadas al celo detectado, pero es menos probable que ocurra en vacas manejadas con OVSYNCH/TAI. El valor del programa OVSYNCH/TAI se incrementa en una situación práctica de detección de celos falsos.

Las tasas de preñez obtenidas con el OVSYNCH/TAI [46] han sido comparadas con aquellas obtenidas en un programa de sincronización usando repetidas inyecciones de $\text{PGF}_{2\alpha}$, e inseminación luego del celo detectado (Controles) en vacas lecheras en lactación ($n=310$) y en novillas ($n=155$). Las vacas lecheras, 60 a 289 días postparto, y las novillas fueron asignadas aleatoriamente en dos grupos. Las vacas del grupo Control recibieron hasta tres inyecciones intramusculares de $\text{PGF}_{2\alpha}$, con un intervalo de 14 días; solo aquellas vacas no detectadas en celo recibieron inyecciones subsiguientes de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Las vacas detectadas en celo después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, fueron inseminadas usando la regla AM-PM. Todos los controles no detectados en celo después de la tercera inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, fueron inseminadas a ciegas 72 a 80 horas después del tratamiento. Las vacas en el grupo OVSYNCH/TAI recibieron la se-

cuencia de tratamientos mostrada en la Figura 1. Sin embargo, el segundo tratamiento de GnRH fue administrado 30 a 36 horas luego del tratamiento de PGF_{2 α} . El diagnóstico de gestación fue realizado por ultrasonido 25 a 30 días luego del servicio en el 80% de las vacas y novillas y por palpación rectal entre 35 y 49 días luego de la inseminación en el 20% de los animales. La tasa de preñez por inseminación fue definida como el porcentaje de vacas o novillas confirmadas preñadas al diagnóstico de gestación después de un servicio (ultrasonido o palpación rectal), en las vacas del grupo OVSYNCH/TAI. En el grupo Control la evaluación de la tasa de preñez incluyó las vacas inseminadas luego de una a dos inyecciones de PGF_{2 α} , así como también a aquellas inseminadas a ciegas 72-80 horas luego de un tercer tratamiento con PGF_{2 α} en vacas no detectadas en celo. El protocolo de OVSYNCH/TAI mostró una tasa de preñez por inseminación artificial similar a la obtenida por las vacas que recibieron PGF_{2 α} a intervalos de 14 días e inseminadas luego de la detección de celo (38.9 vs 37.8, P>0.10). Sólo una vaca concibió de aquellas vacas servidas por inseminación a ciegas después de la tercera inyección de PGF_{2 α} en el grupo control (8.3%).

En otro estudio [42], se evaluó si el OVSYNCH/TAI podría ser un método efectivo para manejar la reproducción en vacas lecheras comparado con la detección diaria de celos y la regla de servicios AM-PM. Vacas lecheras en lactación (n=333) de tres diferentes rebaños fueron asignadas al momento del parto a un grupo control o al grupo OVSYNCH/TAI. Las vacas Control fueron manejadas de acuerdo a las típicas estrategias reproductivas de la explotación, basada en la detección de celo, la regla de servicio AM-PM y el uso periódico de PGF_{2 α} . Las vacas en el grupo tratado siguieron el protocolo OVSYNCH/TAI que se observa en la Figura 1. El VWP era de 50 días postparto y el protocolo OVSYNCH/TAI se inició 40 a 48 días postparto. El diagnóstico de gestación fue realizado por ultrasonido en ambos grupos entre los días 32 a 38 luego de la inseminación y la preñez confirmada por detección ultrasonográfica de latido cardíaco fetal. Si el operador no estaba seguro de la preñez, la vaca era reexaminada una semana después. Las vacas vacías eran inseminadas de nuevo usando el protocolo original OVSYNCH/TAI hasta que fueran diagnosticadas preñadas o retiradas del rebaño. Los días hasta la primera inseminación (54 vs 83, P<0.01) y los días vacíos (99 vs 118, P<0.05) fueron menores para las vacas tratadas que para las vacas control, respectivamente. Las tasas de preñez para cada inseminación artificial fueron definidas como el número de vacas preñadas a los 32 a 38 días después del servicio divididos entre el número total de vacas que recibieron esa inseminación. Las tasas de preñez para la primera inseminación fueron similares (37% vs 39%) para ambos grupos. Un mayor número de vacas en el grupo OVSYNCH/TAI que en el grupo control estaban preñadas a los 60 días después del parto (37%

vs 5%, $P < 0.01$) y a los 100 días (53% vs 35%, $P < 0.01$). Los autores concluyeron que este protocolo permitía un manejo efectivo de la inseminación artificial en vacas lecheras sin la necesidad de detectar celos. El re-tratamiento de vacas diagnosticadas vacías permitió la re-inseminación sin la necesidad de la detección de celos.

2. FACTORES DE MANEJO QUE AFECTAN EL OVSYNCH/TAI

Existen ciertos factores de manejo que pueden afectar el éxito del programa OVSYNCH/TAI y que necesitan ser investigados para mejorar las tasas de preñez. En la mayoría de los estudios anteriormente citados, el programa OVSYNCH/TAI fue solo ejecutado para la primera inseminación. Se demostró que el método de ultrasonido a los 32 a 38 días post inseminación puede ser utilizado con éxito para determinar la gestación, permitiendo la resincronización de vacas vacías para posteriores inseminaciones [42]. Ciertas situaciones que se desarrollan durante el protocolo OVSYNCH/TAI pueden afectar las decisiones del productor. Al momento de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y durante las 36 horas subsiguientes aproximadamente 10% de las vacas expresarán celo; estas vacas deberían ser inseminadas al celo detectado y no necesitarían recibir la segunda inyección de GnRH. En nuestra experiencia, estas vacas se encuentran en el día 14 al 15 del ciclo estrual al momento de la primera inyección de GnRH y no producen un CL en respuesta a la GnRH, de manera que en 7 días, al momento de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, estas vacas están en celo y deben ser inseminadas.

Otra pregunta común concierne el momento de inseminación después de la segunda inyección de GnRH administrada dos días después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Las vacas ovularán 28 a 30 horas luego de la segunda administración del GnRH del OVSYNCH/TAI, y estos animales deberían ser inseminados 15 horas antes de la ovulación para permitir que los espermatozoides experimenten la capacitación que les permita fertilizar el ovocito luego de la ovulación. La tasa de concepción ha sido evaluada a la hora 0 (37%), a las 8 horas (40%), a las 16 horas (44%), a las 24 horas (40%) y a las 32 horas (32%) después de la inyección de GnRH [12], siendo máxima a las 16 horas. Se observa que un porcentaje sorprendente de vacas resultaron preñadas cuando fueron inseminadas al momento de la inyección de GnRH (hora 0) y cerca del momento de ovulación (32 horas); sin embargo, la tasa de preñez estuvo significativamente reducida a las 32 horas. De modo que es posible utilizar tiempos alternativos de inseminación. Es posible anticipar que la máxima tasa de preñez será obtenida entre las 8 y las 24 horas o a las 16 horas después de la inyección de GnRH.

Los futuros esfuerzos de investigación para mejorar el sistema OVSYNCH/TAI involucran la integración de un tratamiento con progestágenos para evitar la asincronía atribuida a la regresión prematura del CL y la incorporación de sistemas alternativos de administración de GnRH (ej. implantes) que modifiquen la dinámica de la secreción de LH durante los periodos preovulatorio y del metaestro. Esta última estrategia tiene como fin mejorar el desarrollo luteal y alterar la subsecuente dinámica folicular después de la inseminación.

3. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A CIEGAS EN VAQUILLAS

En novillas, el uso del programa de inseminación OVSYNCH/TAI no ha mejorado las tasas de concepción cuando estas son comparadas con la inseminación al celo detectado [46, 54]. Las novillas asignadas al tratamiento OVSYNCH/TAI (Figura 1) mostraron tasas de preñez similares pero fueron inferiores cuando fueron comparadas con la tasa de concepción en las novillas inseminadas al celo detectado. El reemplazo de la segunda inyección del agonista de GnRH (Buserelin) con una inyección de hCG (3.000 UI) resultó en tasas de preñez comparables a la de los animales control, pero no fue capaz de prevenir una reducción en la tasa de concepción. Sin embargo, la frecuencia de intervalos interestruales cortos fue menor en novillas tratadas con hCG [54]. Dado que las tasas de preñez en novillas son similares, muchos productores lecheros encuentran que el programa OVSYNCH/TAI es muy útil para inseminar un gran número de animales sin la necesidad de detectar celos. Toda novilla que sea detectada en celo antes de la segunda inyección de GnRH debe ser inseminada al celo observado. Esto reduce el número de novillas que necesitan ser inseminadas a ciegas en un momento dado y reduce la fatiga del inseminador.

Al compararse dos sistemas de manejo reproductivo [46], el protocolo del OVSYNCH/TAI con una sola inseminación contra un sistema que involucraba tres inyecciones intramusculares de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con un intervalo de 14 días y en el cual las novillas eran inseminadas siguiendo la regla AM-PM al ser detectadas en celo (Grupo control). Todas aquellas novillas no detectadas en celo después de la tercera inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ recibieron inseminación a ciegas 72 a 80 horas después del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$. Las tasas de preñez fueron casi el doble de elevadas para las novillas inseminadas al celo detectado luego de tres inyecciones potenciales de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (74.4%) comparadas con las tasas obtenidas en novillas inseminadas a ciegas utilizando el protocolo OVSYNCH/TAI (35.1%) [46]. Respuestas comparables fueron obtenidas entre el grupo control y OVSYNCH/TAI (38.9% y 37.8%, respectivamente) en vacas en producción. Colectivamente, estos resultados han sido interpretados por

otros como que el protocolo OVSYNCH/TAI no funciona bien en novillas. Una presentación alternativa de los resultados buscó evaluar la tasa de preñez de todas las novillas que recibieron solo la primera inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (ej. novillas preñadas por inseminación artificial después de la primera inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ / total de novillas inyectadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$); éste análisis no muestra diferencia alguna (28.2% vs 35.1%; $P>0.10$) en las tasas de preñez de novillas del grupo Control y el protocolo OVSYNCH/TAI, respectivamente. Respuestas similares de las tasas de preñez para vacas lecheras en producción fueron 22.7% y 37.8%, respectivamente ($P<0.01$). La conclusión debería ser que las novillas muestran una tasa de preñez mejor o comparable a las vacas lecheras en producción, luego de la primera inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en cualquiera de ambos sistemas. Sin embargo, el incremento acumulado de preñez en el grupo de novillas control luego de inyecciones secuenciales de $\text{PGF}_{2\alpha}$ refleja la mejor fertilidad de las novillas que no están en producción comparado con el grupo control de vacas en producción..

IV. MANEJO REPRODUCTIVO DE VACAS CON ESTRÉS CALÓRICO

El incremento de la productividad animal está directamente asociado con el incremento de la producción de calor metabólico, la cual agrava el problema del mantenimiento de homeotermia bajo condiciones de elevadas temperaturas ambientales y/o humedad o la necesidad de enfrentar las consecuencias de la hipertermia. Los enfoques genéticos dirigidos a mejorar la tolerancia de los animales al calor generalmente no son compatibles con el mejoramiento de la productividad animal. De tal manera que las opciones de manejo están relacionadas con el mejoramiento del balance térmico del animal (ej. reducir el aporte o entrada de calor y/o aumentar la pérdida de calor del animal) y con la identificación de tratamientos para corregir las alteraciones de la homeostasis de animales de alta producción en un ambiente caluroso. Existen muchos componentes biológicos que cuando son alterados pueden comprometer el rendimiento animal y su productividad.

1. MODIFICACIONES AMBIENTALES Y SISTEMAS DE ALOJAMIENTO

Actualmente se conoce que en el futuro ocurrirán pocos cambios ambientales que mejoren la productividad animal en las áreas tropicales, subtropicales y áridas del mundo. Sin embargo, grandes avances en el conocimiento y sus aplicaciones han alterado el medio ambiente con el fin de reducir la inmi-

nente carga de calor que reciben los animales de una manera que ha sido combinada con sistemas que mejoran la perdida de calor corporal [5, 8]. Estos tipos de sistemas necesitan ser optimizados en cada región donde se han de aplicar y deben estar integrados con el potencial de producción del área. Por ejemplo, en muchas áreas tropicales, el periodo de mayor estrés con frecuencia se extiende por un prolongado periodo del año y coincide con enfermedades, parásitos y una pobre nutrición. Obviamente un sistema bajo este ambiente necesita incorporar un plan de manejo que no solo proteja a los animales de los periodos de estrés térmico sino que también provea un estricto cuidado sanitario, bienestar y mejoramiento nutricional de manera de alcanzar el potencial de producción de cada unidad animal en el sistema. Tales sistemas involucran un incremento en las inversiones para alcanzar un máximo rendimiento de animales de alta producción. En Israel, un sistema de manejo ambiental que permite el refrescamiento intermitente con aspersores y ventilación forzada durante los periodos de calor stresante mejoró las tasas de concepción [8]; sin embargo, los niveles de fertilidad no se recuperaron a los niveles típicos encontrados durante los meses de invierno. Esto implica que es necesaria investigación adicional para determinar que efectos fisiológicos a largo plazo que afectan tal comportamiento (ej. estadios de la foliculogenesis, ambiente uterino, hormonas metabólicas que afectan la función reproductiva, etc).

Un programa de manejo adicional y menos intensivo es utilizado para mejorar animales locales (ej. ganado *Bos indicus*) a través de la introducción de *Bos taurus* lechero (ej. Holstein). A medida que el porcentaje de cruces con *Bos taurus* aumenta, incrementará la necesidad para un manejo del ambiente. No obstante, con frecuencia bajos porcentajes de mejoramiento superan la producción del ganado nativo con mínimas implicaciones en el manejo. Las fluctuaciones en las condiciones ambientales (clima, alimentación, manejo, etc.) de un año a otro en la misma localidad tropical pueden ser importantes para la determinación del genotipo mas útil de vacas lecheras. Se ha demostrado en Sudán durante 27 años y en los 14 mejores años, que el mejoramiento del ganado Butana (*Bos indicus*) por encima a un 70% Holstein o Ayrshire resultó en una mayor producción anual de leche por vaca [4]. En los 13 años pobres, sin embargo los mayores rendimientos fueron obtenidos del cruzamiento de tres razas, 3/8 Holstein, 3/8 Ayrshire, y 2/8 Butana.

En áreas subtropicales y áridas, el periodo de estrés calórico está mas restringido a un limitado periodo del año. La consecuencia de una mas breve duración del estrés ambiental es la de reducir la magnitud de sus efectos detrimentales y sus secuelas en las mejores épocas del año. Por el contrario, el manejo del animal (ej. servicios, etc.) en las épocas mas favorables del año puede minimizar futuros efectos detrimentales durante las épocas menos fa-

vorables. Por ejemplo, los animales podrían ser servidos, de forma tal de obviar las inseminaciones en las temporadas mas fuertes y menos fértiles. Alternativamente, animales jóvenes y que no estén en producción podrían ser inseminados durante las épocas estresantes, dado que estos animales son menos sensibles al estrés calórico. Este tipo de decisiones de manejo pueden balancear el flujo de la productividad animal (ej. producción de leche) para minimizar las variaciones estacionales.

2. INSEMINACIÓN A CIEGAS EN VACAS LECHERAS EN PRODUCCIÓN DURANTE PERÍODOS DE ESTRÉS CALÓRICO

La tasa de preñez, la cual es producto de la detección de celo y de la tasa de concepción, se encuentra reducida durante los periodos estacionales de estrés calórico. El estrés calórico reduce las concentraciones plasmáticas de estradiol durante el proestro y disminuye la tasa de detección del celo [29]. Las tasas de concepción también están reducidas durante el estrés calórico debido a la mortalidad embrionaria precoz que resulta de la elevación en la temperatura corporal [48]. Bajo las condiciones de estrés calórico de Florida, ha sido comparada la eficiencia de un programa de manejo reproductivo utilizando el protocolo OVSYNCH/TAI con un programa de manejo típico a nivel de finca, el cual involucraba solo el uso de tratamientos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y en el cual las vacas eran inseminadas al celo detectado [16]. La hipótesis era que debido a que el OVSYNCH/TAI incrementa la tasa de detección del celo a 100% (todas las vacas son inseminadas), la tasa de preñez debería incrementar. El estudio fue conducido desde Mayo hasta Septiembre con vacas Holstein primíparas ($n=133$) y multíparas ($n=171$) en producción. A los 30 ± 3 días postparto, todas las vacas fueron inyectadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ buscando la regresión de cualquier CL existente. El periodo de reposo voluntario (VWP) fue establecido en 60 días postparto. Las vacas inseminadas a ciegas ($n=148$) fueron sincronizadas usando el protocolo OVSYNCH/TAI mostrado en la Figura 1. Las vacas en el grupo control ($n=156$) fueron inyectadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ a los 57 ± 3 días postparto y fueron inseminadas al ser detectadas en celo. Todas las vacas de ambos grupos fueron reinseminadas al mostrar los celos subsiguientes. Las primeras inseminaciones ocurrieron de Mayo a Septiembre, 1995. La tasa de preñez fue mayor para las vacas manejadas con OVSYNCH/TAI que para del grupo control (13.9% vs 4.8%, $P<0.05$). La tasa de preñez para todas las vacas varió de un mes a otro, desde un bajo $4.5 \pm 5\%$ en Junio hasta un elevado $20.0 \pm 3.7\%$ en Julio ($P<0.05$). No se detectaron interacciones de tratamiento y mes del año. La proporción de vacas detectadas en celo e inseminadas durante los días 1 al 6 después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue solo de 18.1% para las vacas control, comparada con una tasa de inseminación de 100% para las va-

cas OVSYNCH/TAI. El intervalo entre la inyección de PGF_{2α} y la inseminación fue de 35.5 días para las vacas control comparado con solo 3.0 días para las vacas OVSYNCH/TAI ($P < 0.05$). Este intervalo mostró tendencia a declinar de Mayo (49.2 ± 4.3) a Septiembre (21.7 ± 3.8) para las vacas control. De igual manera, el numero de días postparto hasta la primera inseminación fue menor en las vacas OVSYNCH/TAI que en las control (58.7 vs 91.0 días, $P < 0.05$). Esta respuesta tuvo tendencia a declinar de Mayo (104.7 ± 4.4 días) hasta Septiembre (78.0 ± 3.8) en las vacas control, pero no cambio en vacas manejadas con el OVSYNCH/TAI. El intervalo mas prolongado desde la inyección de PGF_{2α} a la inseminación para el grupo control refleja la reducción en la detección de celos durante el periodo de verano, la cual fue eliminada con el uso del OVSYNCH/TAI. La tasa de concepción para las vacas control detectadas en celo e inseminadas fue mayor (25.9%) que en vacas del grupo OVSYNCH/TAI (13.2% , $P < 0.05$). Sin embargo, este incremento en la tasa de concepción es engañoso ya que solo un 18% de las vacas control fueron detectadas en celo e inseminadas, mientras que todas las vacas OVSYNCH/TAI fueron inseminadas. La tasa de preñez total a los 120 días postparto fue mayor para vacas OVSYNCH/TAI al compararlas con las vacas control (27.0 vs 16.5% , $P < 0.05$). El número de días vacíos para las vacas que concibieron para el día 120 postparto fue 12.4 días menos para el grupo OVSYNCH/TAI, comparados con las vacas control (77.6 vs 90.0 , $P < 0.05$).

Como se esperaba la tasa de preñez fue significativamente superior para el grupo OVSYNCH/TAI debido al mayor número de vacas inseminadas. El programa de manejo del OVSYNCH/TAI no protegerá al embrión de la mortalidad embrionaria inducida por la temperatura, pero serán eliminadas las limitaciones inducidas por el estrés calórico en la detección del celo. Para todas las vacas que concibieron, los días vacíos fueron reducidos en 12.4 días y el porcentaje de vacas preñadas a los 120 días postparto incrementó para el grupo OVSYNCH/TAI. También se ha demostrado que el programa OVSYNCH/TAI incrementó la tasa de preñez acumulativa de vacas Holstein en producción durante el verano [4]. Una ventaja sostenida en la tasa de preñez acumulada observada [16] (Figura 3) y en los experimentos arriba reportados [4] durante los periodos de verano de estrés calórico indican que el protocolo OVSYNCH/TAI puede tener algún efecto beneficioso en el tiempo sobre la tasa de preñez. Quizás las inyecciones secuenciales de GnRH estimularon cambios en la dinámica folicular provocando atresia en los folículos dañados por el estrés calórico, de manera tal, que los folículos subsiguientes destinados a ovular produjeron oocitos mas fértiles. Este concepto necesita ser investigado más a fondo.

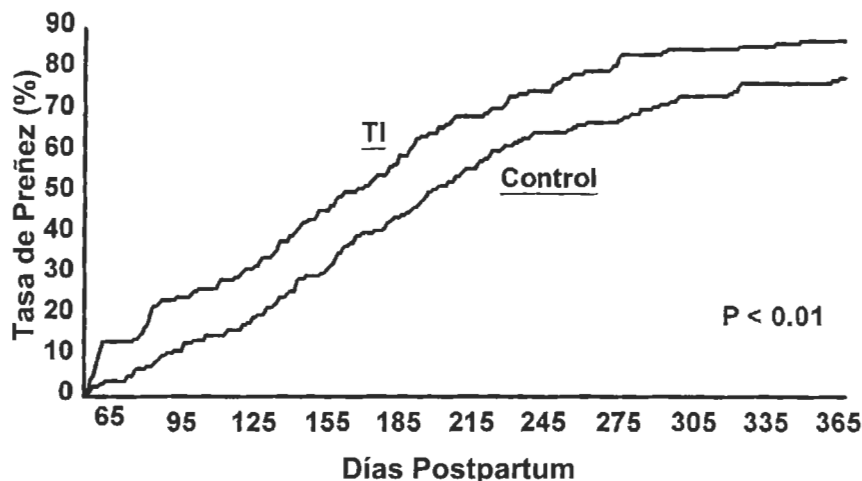


Figura 3. Frecuencia acumulada de tasas de preñez (a través de un período de 365 días) en vacas lecheras lactantes que recibieron su primer servicio postpartum en verano como un OVYSYNCH/TAI o al celo detectado en vacas control que recibieron una inyección única de PGF_2 .

3. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN PERÍODOS DE ESTRÉS CALÓRICO DURANTE EL VERANO

Las tasas de concepción a la inseminación artificial en vacas lecheras en producción están significativamente afectadas durante los meses de verano. Una reducida viabilidad embrionaria asociada con estrés calórico ha sido sugerida como una de las principales razones para esta disminución de la fertilidad [38]. El embrión bovino es muy susceptible al estrés calórico durante su desarrollo temprano [47], específicamente desde el día 0 al día 3 [20, 48]; el día 0 es el día del celo. Sin embargo, embriones en estadios más avanzados (ej. mayores de 3 días) son menos susceptibles a pérdidas inducidas por el estrés calórico [20, 21]. Por lo tanto, la transferencia de embriones a receptoras en el momento en que estos embriones son menos susceptibles al estrés calórico (ej. en el día 7) podría mejorar la tasa de preñez durante los meses de verano. Esta hipótesis fue comprobada al comparar la inseminación artificial con la transferencia de embriones usando embriones congelados producidos *in vivo* (embriones colectados de vacas superovuladas) e *in vitro* [19]; se demostró que las tasas de preñez en el verano podían mejorar significativamente mediante el uso de la transferencia de embriones siempre que sean utilizados embriones producidos *in vivo*, pero no con embriones congelados producidos *in vitro*. La producción *in vivo* de embriones es costosa y muy laboriosa. Por

otro lado, la producción de embriones *in vitro* es relativamente mas económica, menos laboriosa y permite generar un gran número de embriones en un corto periodo de tiempo. De manera que, la transferencia de embriones producidos *in vitro* posee ventajas practicas, particularmente en grandes explotaciones lecheras. El establecimiento de la preñez luego de una transferencia embrionaria, entre otros factores, depende de la disponibilidad de receptoras adecuadamente sincronizadas. Conociendo que la eficiencia de detección de celos es pobre durante los meses de verano, la preparación de receptoras se convierte en una tarea difícil, lo que hace que la transferencia de embriones sea una tarea menos práctica o poco práctica durante el verano. La sincronización de receptoras usando el protocolo de inseminación a ciegas (GnRH-PGF_{2α}-GnRH) al eliminar la detección de celos, se convierte en un sistema eficiente en el manejo de receptoras para la transferencia de embriones. En un estudio reciente [3], usamos este enfoque para la transferencia de embriones a tiempo predeterminado; el objetivo era comparar las tasas de preñez en vacas lecheras con estrés calórico luego de la inseminación a ciegas o después de una transferencia embrionaria a tiempo predeterminado usando embriones frescos o congelados FIV.

Cuatrocientas cuatro vacas Holstein en producción, 50 a 140 días postparto, con 1 a 4 lactancias fueron utilizadas en ese estudio. Las vacas tenían una condición corporal comprendida entre 2.25 y 3.5, en una escala de 1 a 5. Todos los animales recibieron GnRH (Cystorelin), seguido 7 días después por PGF_{2α} (Lutalyse) y de nuevo GnRH después de dos días. Las vacas fueron aleatoriamente asignadas a inseminación a ciegas (I.A. 16 h después de la segunda inyección de GnRH, n=129; TI control) o fueron asignadas para transferencia embrionaria en tiempo predeterminado (bien usando embriones frescos (n=133; TET-Frescos) o embriones congelados (n=142; TET-Congelados) transferidos 7 1/2 días después de la segunda inyección de GnRH). Poco antes de la transferencia embrionaria las vacas eran palpadas para confirmar la presencia de un CL; el embrión era depositado en el cuerno uterino ipsilateral al lado del CL Incluso en las vacas donde un CL no era detectado, un embrión era transferido al cuerno uterino adyacente al ovario de mayor tamaño. De manera que, todas las vacas en cada uno de los tres grupos bien recibieron un embrión o fueron inseminadas. Se colectaron muestras de sangre el día 0 (16 h después de la segunda GnRH), en el día 7 y en el día 21 con el fin de determinar los niveles de progesterona plasmática. La preñez fue confirmada a través de palpación rectal a partir del día 45. Los resultados fueron analizados utilizando el procedimiento General Linear Models del Statistical Analysis System (SAS). El modelo matemático para la variable dependiente preñez incluyó los efectos de tratamiento, corral, número de partos y días en producción.

La tasa de preñez el día 45 fue significativamente ($P < 0.01$; más elevada en las vacas asignadas al tratamiento TET-Frescos ($14.3 \pm 2.3\%$) comparada con los grupos TET-Congelados (4.8 ± 2.3) y TI-Control ($4.9 \pm 2.3\%$) (Figura 4). Los estimados de preñez basados en las concentraciones de progesterona plasmática el día 21 (P_4 2.0 ng/ml=preñada) fueron mucho más elevados pero mostraron una tendencia similar a la observada en el día 45, con una tasa de preñez significativamente más elevada en las vacas del grupo TET-Frescos (Figura 4). Considerando una confiabilidad de 80% para los estimados de preñez del día 21 basados en la progesterona plasmática, se estima que 51.9, 32.4 y 37.4% de las vacas estaban probablemente preñadas el día 21 (línea intermitente, Figura 4) para los tres grupos. La notable diferencia en la tasa de preñez entre los días 21 y 45 sugiere que ocurre una substancial muerte embrionaria entre esos días.

Las vacas con concentraciones de progesterona plasmática 1.5 ng/ml en el día 0 y 2.0 ng/ml en el día 7 se consideraron como animales que respondieron al protocolo de sincronización. Basados en este criterio, se estimó que en 76.2% de las vacas la ovulación fue sincronizada. Incluso, cuando solo se consideraron para la determinación de la gestación el día 45, las vacas en las cuales la ovulación fue sincronizada, los resultados globales no cambiaron excepto por un pequeño incremento en las medias para TET-Frescos ($17.5 \pm 3.0\%$), TET-Congelados (6.1 ± 3.8) y TI-Control ($6.7 \pm 3.2\%$).

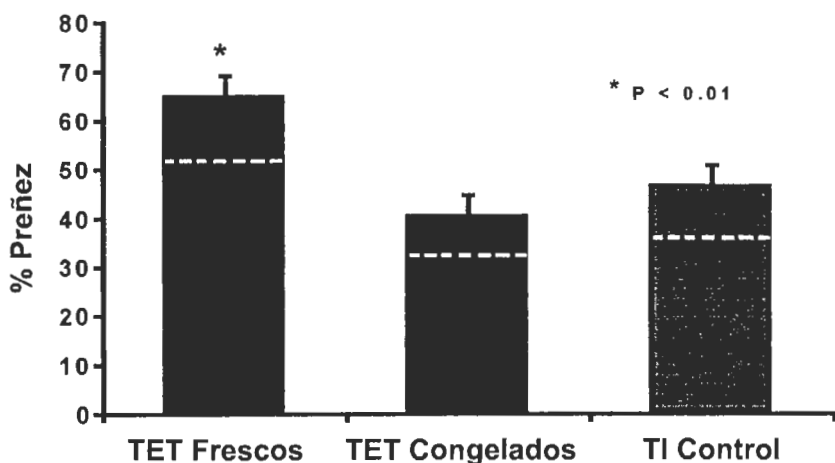


Figura 4. Tasa de preñez basada en los niveles plasmáticos de progesterona el día 21 (Las líneas interrumpidas señalan la preñez estimada teniendo en cuenta la inseguridad asociada con la concentración de progesterona el día 21, como un índice de gestación).

Este estudio ha mostrado que la transferencia embrionaria en tiempo predeterminado, usando embriones frescos producidos *in vitro* puede mejorar las tasas de preñez en ganado lechero bajo condiciones de estrés calórico; además demostró que el protocolo de sincronización GnRH-PGF_{2α}-GnRH puede ser exitosamente aplicado en la transferencia embrionaria en tiempo predeterminado en explotaciones lecheras de gran escala. No se observaron ventajas sobre la inseminación a ciegas cuando se utilizaron embriones congelados producidos *in vitro*. La transferencia de embriones frescos producidos *in vitro* tiene dificultades prácticas y requiere personal altamente entrenado para la evaluación y manejo de los embriones en el lugar de transferencia. Si con la transferencia de embriones congelados producidos *in vitro* pudiesen lograrse tasas de preñez comparables o similares a las obtenidas con la transferencia de embriones frescos producidos *in vitro*, este enfoque de mejorar las tasas de preñez durante los meses de verano a través del uso de la transferencia embrionaria en tiempo predeterminado sería muy factible bajo condiciones de campo. Eso significa que es necesaria más investigación para mejorar la congelabilidad de embriones producidos *in vitro*.

V. MEJORA DE LA SUPERVIVENCIA EMBRIONARIA

En numerosos estudios en ganado bovino han sido bien documentadas pérdidas embrionarias precoces. Factores tales como ganadería de leche contra ganadería de carne, vacas fértiles contra vacas repetidoras, inseminación en respuesta a un celo natural contra la inseminación en un celo sincronizado, época del año en relación a las condiciones de estrés calórico, y otros factores tales como el número de partos, la nutrición y enfermedades contribuyen con el momento de pérdida embrionaria. Está comprobado que las vacas infértiles (ej. vacas repetidoras) o los grupos de animales en los cuales la proporción de vacas infértiles es alta, experimentan una considerable pérdida embrionaria (~30%) para el día 7 de gestación [6, 28, 35]. En grupos más fértiles de animales, las pérdidas embrionarias (~40%) ocurren gradualmente entre el día 8 y el día 17 de gestación [6, 18, 50]. Cuando las fallas de fertilización y la pérdida embrionaria precoz fueron eliminadas a través de la transferencia de embriones morfológicamente normales, 24.4% de las vacas receptoras terminaron sus preñeces entre el día 17 y 24 [34]. La tasa de mortalidad embrionaria tardía después del día 27 en un grupo fértil de novillas lecheras fue estimado en 10.6% [68]; esto guarda concordancia con un estimado de 10.5% en vacas lecheras en lactación que estaban preñadas a los 28 días y perdieron su preñez para el día 42 [71]. Colectivamente estos reportes indican una diferencia en el momento o tiempo en que ocurren las pérdidas em-

brionarias y la falla de diferentes mecanismos para mantener el desarrollo embrionario.

Es importante la necesidad de una estrecha sincronización entre el desarrollo embrionario y el desarrollo uterino, de los cuales la progesterona es el regulador primario [52]. Una óptima fertilidad fue obtenida cuando donadora y receptoras estaban en celo el mismo día. Una pregunta crítica es si la variación en la supervivencia embrionaria en el ganado bovino está relacionada con la elevación post-ovulatoria de progesterona?. Las vacas subfértiles muestran un nivel de elevación de progesterona mas lento durante un periodo post-ovulatorio de 6 días. Las vacas con embriones normales poseen concentraciones plasmáticas de progesterona mas elevadas 3 días después del celo [36]. Asociada a esta diferencia se encuentra un elevado pico preovulatorio de LH en las vacas portadoras de embriones normales. En vacas en las cuales se pierde una gestación precoz, se han reportado menores concentraciones de progesterona plasmática aproximadamente el día 12 después de la inseminación [32]. De esa manera, un bajo nivel en el incremento de la elevación de la progesterona luego de la ovulación y una menor concentración de progesterona durante la fase luteal están asociadas con una reducida supervivencia embrionaria.

Incluso, las concentraciones de estradiol durante los días 14 a 17 después del servicio en ganado de carne podrían estar asociadas con perdidas embrionarias [41]. Las vacas fueron divididas en tres grupos de acuerdo a las concentraciones de estradiol: el cuarto inferior, la mitad media y el cuarto superior, promediaron 1.6, 2.1 y 3.1 pg/ml de estradiol, respectivamente, durante un periodo de muestreo de 4 días. La tasa de concepción al primer servicio por inseminación artificial fue relacionado en forma lineal con los grupos en los cuales la tasa de concepción disminuyó en la medida que el estradiol en plasma se incrementaba. Las medias de las tasas de concepción fueron 77, 60 y 42%, respectivamente. Esto nos hace cuestionarnos acerca de la interesante posibilidad de que el desarrollo folicular del ovario podría estar asociado con la supervivencia embrionaria. El desarrollo folicular es sustentado en el ovario portador del CL en vacas histerectomizadas con una función luteal prolongada [66]; en contraste, el desarrollo folicular fue atenuado en el ovario portador del CL en novillas durante el mismo periodo de gestación. De manera que el embrión y/o el cuerno uterino preñado ipsilateral, y no el CL, disminuirían el desarrollo folicular intraovárico de manera local. Un efecto como este brindaría soporte a un mecanismo antiluteolítico para el mantenimiento de la gestación. Se ha reportado que quizás la dinámica de los patrones de crecimiento folicular pueden diferir entre las vacas que se preñan y aquellas que permanecen vacías luego de la inseminación [2]. Los animales preñados mostraron una tendencia a pasar de tener dos ondas de crecimiento folicular du-

rante el ciclo estrual previo al servicio a tener tres ondas foliculares en el periodo equivalente inmediatamente después del servicio. En contraste, 8 de 9 animales de carne no preñados tuvieron dos ondas foliculares tanto durante el ciclo antes de la inseminación como también en el periodo equivalente después del servicio. Un menor número de animales con dos ondas de crecimiento folicular concibieron (70%), comparados con aquellos que mostraron tres ondas (96%; $P < 0.05$) durante el periodo posterior al servicio.

Se ha desarrollado una estrategia para incrementar las concentraciones de progesterona durante la fase luteal e inducir ciclos de tres ondas foliculares inyectando hCG 5 días después del celo [17]. Todas las novillas inyectadas con hCG formaron un CL accesorio, resultando elevadas las concentraciones de progesterona para el día 9 durante la fase luteal; las novillas tratadas con hCG mostraron 3 ondas foliculares, de las cuales la tercera onda folicular no alcanzó el tamaño de 9 a 10mm hasta aproximadamente el día 20. Los folículos dominantes no desarrollan un nivel apreciable de receptores para LH en las células de la granulosa hasta más allá de los 9 mm de tamaño [7]. De manera que el potencial para producir estradiol está limitado hasta tanto los folículos no excedan los 10mm en tamaño. Con este razonamiento, el folículo estrogénico potencial para las novillas tratadas con hCG no aparecería sino hasta el día 20 contra el día 14 para novillas control con ciclos de dos ondas foliculares [17]. De manera que el tratamiento con hCG favorece el ambiente estrogénico durante el periodo de reconocimiento de la gestación. La inyección de hCG el día 7 incrementa las tasas de concepción en vacas lecheras en producción [55] con un modesto aumento en las concentraciones plasmáticas de progesterona. Hasta el momento, la suplementación directa de progesterona durante las fases luteales temprana y media del ciclo estrual no han producido efectos beneficiosos consistentes en cuanto a las tasas de gestación. Es probable que sean necesarios sistemas de suministro de progesterona para aumentar tanto la tasa de incremento de progesterona como los valores absolutos de progesterona durante la fase luteal después del servicio. Un área fructífera de investigación futura lo constituyen los esfuerzos para influenciar la diferenciación del CL y la subsecuente función luteal.

VI. EL PERÍODO POSTPARTO

1. BALANCE ENERGÉTICO

Las vacas lecheras postparto experimentan un marcado cambio en su estado o balance de energía previo a la restauración normal de los ciclos ováricos. El estado energético se ha definido como la energía neta ingerida por el

animal menos la energía neta requerida para mantenimiento y menos la energía neta necesaria para la producción de leche. El ganado lechero experimenta un periodo de balance negativo de energía en la lactación temprana debido a que la energía utilizada para la producción de leche supera a la energía ingerida a través del consumo de alimento. Los estados negativos de energía están asociados con ciertos perfiles sanguíneos de hormonas y metabolitos. Para que el ganado pueda ovular durante el periodo postparto temprano debe ser reestablecida la actividad folicular del ovario. Esto depende de la restauración de la secreción de LH luego del parto [24]. Se ha reportado [14] que la restauración postparto de la secreción pulsátil de LH no ocurre hasta tanto no se alcance el máximo descenso en el estado energético postparto y que los animales inicien la reversión de su caído estado energético.

El efecto del estado energético sobre la actividad ovárica durante la lactación temprana se evaluó en 54 vacas Holstein multíparas [62], en las cuales 28% (n=15) estaban en anestro (ausencia de ciclos ováricos) durante un periodo de 9 semanas postparto, basándose en sus concentraciones plasmáticas de progesterona ($<1\text{ng/ml}$). Estas vacas fueron comparadas con dos grupos cíclicos: un grupo de 25 vacas con actividad luteal (presencia de CL) dentro de los 40 días después del parto y un segundo grupo de 14 vacas con actividad de CL entre los días 40 y 63 postparto. El balance energético durante las primeras 2 semanas postparto fue muy importante. Tanto las vacas ciclando tardíamente como las no cíclicas mostraron estados progresivos de energía negativa, lo cual significa, que estos animales continuaron en un estado aún mas negativo de energía durante la segunda semana que durante la primera semana. Esto fue especialmente cierto para las vacas en anestro. El consumo de alimento por parte de las vacas en anestro era continuamente inferior al de las vacas cíclicas. No solo ingerían menos las vacas en anestro en la primera semana postparto sino que la diferencia con las vacas cíclicas se acentuaba en la medida que transcurría el tiempo. En promedio, las vacas en anestro ingerían entre 2.5 y 3.6 kg menos alimento por día que las vacas cíclicas. Las vacas que retornaban con actividad luteal en forma temprana comenzaron su recuperación a un estado positivo de energía inmediatamente después de la primera semana. Este cambio a un estado positivo de energía parece ser importante en el comienzo del estro. Se ha calculado que la ovulación ocurría aproximadamente 10 días después de alcanzar el umbral del estado de energía negativo. Esta marcada y temprana deficiencia en el estado energético de las vacas en anestro traía un efecto posterior sobre la concepción; solo el 33% (5/15) de las vacas en anestro eventualmente concibieron comparadas con un 84% (21/25) y 93% (13/14) para las vacas que ciclaron en forma temprana y tardía, respectivamente.

Las concentraciones de IGF-I en plasma estuvieron estrechamente relacionadas con el reestablecimiento de la actividad luteal en los tres grupos [65]. Las vacas que ciclaron tempranamente en el periodo postparto experimentaron un incremento temprano en las concentraciones de IGF-I (2 semanas postparto), mientras que las vacas que estuvieron en anestro incluso más allá de la 8va. semana de lactación no exhibieron un incremento en los niveles de IGF-I hasta 5 a 6 semanas postparto. Aquellas vacas que comenzaron a ciclar entre los 40 a 63 días postparto exhibieron un patrón intermedio en las concentraciones plasmáticas de IGF-I. Es nuestra idea que estos cambios en la IGF-I están relacionados con diferencias metabólicas entre las vacas que comenzaron a ciclar en diferentes momentos y que estas diferencias fueron críticas para el desarrollo folicular y la subsecuente formación del CL.

2. CONDICIÓN CORPORAL

La condición corporal de vacas en producción durante los primeros 100 postparto puede influenciar el comportamiento reproductivo del rebaño. Para comparar las tasas de preñez usando el protocolo OVSYNCH/TAI para el primer servicio de vacas lecheras en producción hemos realizado una experiencia entre vacas con condiciones corporales < 2.5 (escala 1 a 5; grupo de baja condición corporal) contra 2.5 (grupo Control, de buena condición corporal) [39]. A los 63 ± 3 días posteriores al parto, las vacas fueron asignadas a los grupos experimentales ($n=81$ para el grupo de baja condición corporal y $n=126$ para el grupo Control) e iniciaron el protocolo OVSYNCH/TAI de 9 días. Las vacas que retornaron en celo fueron reinseminadas al celo detectado. Las vacas fueron examinadas por ultrasonografía para el diagnóstico de gestación 27 días después de la inseminación y otra vez a los 45 días por palpación rectal. Las tasas de preñez fueron menores para el grupo con baja condición corporal comparadas con el grupo Control al día 27 ($18.11 \pm 6.1\% < 33.83 \pm 4.55\%$; $P < 0.02$) y al día 45 ($11.14 \pm 5.49\% < 25.64 \pm 4.10\%$; $P < 0.02$). Las tasas de preñez acumulativa hasta los 120 o 365 días postparto fueron menores para las vacas con una baja condición corporal ($P < 0.01$). Nosotros hemos utilizado un modelo de programación dinámica para determinar el ingreso adicional por vaca por año en dólares, en varios escenarios en los cuales varía el porcentaje del rebaño con una baja condición corporal (<2.5) (Figura 5). Por ejemplo, existe un incremento en el ingreso neto por vaca por año de \$10.33 entre un rebaño de vacas con baja condición corporal al nivel del 10% contra otro con el 30%. Los datos presentados en la Figura 5 son muy particulares para el rebaño de vacas en el cual se completó el estudio. Sin embargo, nos proporciona los costos relativos bajo diferentes escenarios de manejo del rebaño; por ejemplo, es usual encontrar rebaños lecheros con un 50% de las vacas

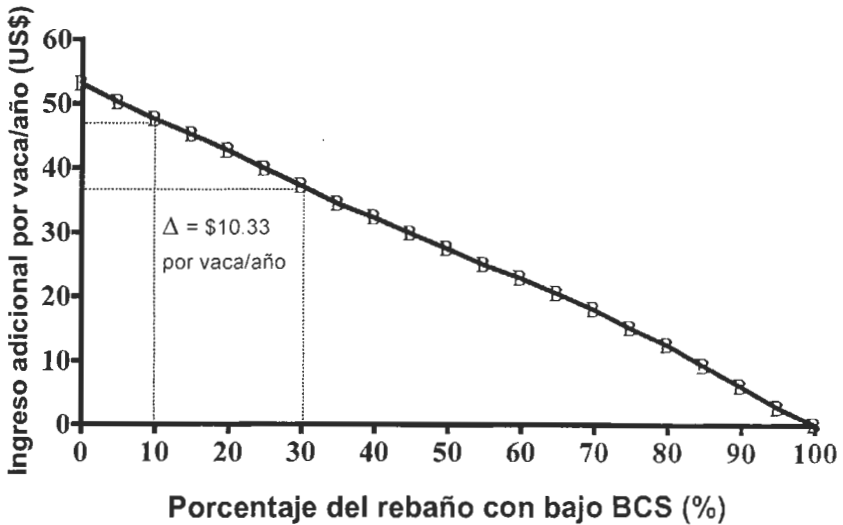


Figura 5. Estimados económicos de ingresos adicionales usando diferentes escenarios basados en el porcentaje de vacas con baja condición corporal en el rebaño.

en una baja condición corporal en fincas de Centro y Sur América donde hemos trabajado.

Debido a que casi todas las vacas perderán condición corporal en el postparto, las vacas deberían estar en buena condición al momento del parto; se recomienda una condición de 3.25 a 3.75 al momento del parto. Si las vacas pierden solo 0.5 de condición corporal, el comportamiento reproductivo no debería estar seriamente comprometido. Las vacas que pierden más condición corporal que la señalada anteriormente pueden ser víctimas de un inapropiado o mal manejado sistema de alimentación. Con el fin de evitar pérdidas excesivas de condición corporal postparto debe mantenerse un adecuado manejo y prácticas de alimentación. Otras candidatas para una pérdida excesiva de condición corporal postparto son aquellas vacas sobrealimentadas al parto; las vacas con elevada condición corporal (sobrecondicionamiento) son incapaces de incrementar rápidamente su ingestión de materia seca durante el postparto. Como resultado, las reservas son rápidamente utilizadas para sustentar la producción de leche. Novillas con aproximadamente 21.8 kg más de grasa al parto (BCS de 3.72) ingirieron 0.95 kg/día menos de materia seca (DM) y perdieron aproximadamente 34 kg más de peso corporal que los controles [27]. Vacas en excesiva condición corporal experimentaron su pico de máxima ingestión de materia seca (DMI) aproximadamente 10 semanas más tarde y un balance positivo de energía 2 semanas más tarde que las vacas en

una buena condición corporal y alimentadas con dietas de alta energía. Una unidad de condición corporal (convertida al sistema de U.S.A.) fue perdida con el fin de mantener la producción de leche en vacas sobrecondicionadas comparado con un ligero incremento de la condición corporal en las vacas control en un periodo de 10 semanas [31]. Los problemas reproductivos de las vacas gordas pueden no ser solo causados por una baja ingestión de alimentos. Datos recientes provenientes de Florida indican que las vacas mas gordas eran menos capaces de mantener un folículo persistente en la presencia de un CL que vacas mas delgadas, posiblemente debido a la mayor eliminación de la progesterona suplementaria de la corriente sanguínea por parte de las vacas obesas [11].

El cambio de la condición corporal a través de manipulaciones dietéticas requiere de alguna planificación estratégica. Vacas en baja condición deberían recuperar la condición faltante durante la lactación tardía debido a que estos animales son mas eficientes en la utilización de energía metabolizable durante éste periodo que durante el periodo seco (75 y 60%). Además, el periodo seco podría ser muy breve para lograr una completa recuperación de la condición necesaria antes del parto. Las vacas no deberían perder peso corporal durante el periodo seco, sino mas bien deberían ganar 1 a 1.5 lb/día solo para satisfacer las necesidades del rápido desarrollo fetal.

3. ELEVADA INGESTIÓN DE PROTEÍNA CRUDA Y REPRODUCCIÓN

Los cambios postparto en la regresión uterina, el restablecimiento de la actividad folicular y una incrementada producción de leche son acompañados por dramáticos cambios en los estados de energía y proteína en el animal. Se ha demostrado que cambios en estas condiciones nutricionales influyen sobre cambios fisiológicos asociados con la reproducción. Si se proporciona mas proteína cruda (CP) de la que puede ser aprovechada por la vaca, la concentración de urea en los tejidos corporales puede ser elevada. El suministro de dietas conteniendo 19 a 21% de CP resultan en elevadas concentraciones de nitrógeno ureico (BUN) y frecuentemente en bajas tasas de concepción comparadas con aquellas de vacas alimentadas con dietas de 15 a 16% de CP. Vacas mas viejas poseen una mayor tendencia a ser afectadas negativamente por altos niveles de CP que las vacas mas jóvenes.

No solamente se ha demostrado la importancia del contenido de CP en la dieta sobre el comportamiento reproductivo sino también la concentración de la proteína degradable de ingestión (DIP). El reemplazo de la harina de soya con una fuente de proteína menos degradable a nivel del rumen tales como la harina de pescado, la harina de maíz, etc. Con frecuencia alivian al-

gunas ineficiencias reproductivas, incluyendo el retardo de la primera ovulación, bajas tasas de concepción y elevada muerte embrionaria. En general, el suministro de excesiva proteína a los animales con la consecuente elevación de las concentraciones de BUN resulta en una moderada reducción del comportamiento reproductivo de vacas lecheras en producción.

Una posible forma de cómo una alimentación alta en proteína puede afectar adversamente el comportamiento reproductivo es por la elevación en los costos energéticos del animal para la detoxificación de amonio, lo que resulta en un debilitamiento de su estado energético. La necesidad de detoxificar el amonio por parte de los tejidos animales puede ser energéticamente costoso. La conversión de una molécula de amonio a urea (ciclo de la urea) por parte del hígado cuesta 3 ATP's. En otros tejidos (ej. riñón, músculo, cerebro), el ácido glutámico reacciona con el amonio para formar glutamina la cual cuesta 1 ATP. La fuente inmediata de ácido glutámico es -keto-glutarato (costo de conversión es 1ATP), un compuesto intermedio del ciclo del ácido cítrico el cual es clave en la generación de energía para el animal. Si la demanda de -keto-glutarato es grande, es probable que el funcionamiento del Ciclo del Ácido Cítrico se vea comprometido, agravando aún más el estado de energía negativo? La excreción de un gramo de nitrógeno en la orina cuesta 5.45 kcal para la detoxificación del amonio a urea [9]. El suministro y alimentación de los animales con 100g de proteína cruda no utilizada resulta en una pérdida de 0.2 Mcal de energía [70]. Si es consumida en exceso 500 a 1000 g de proteína, los gastos energéticos podrían llegar al orden de unos 2Mcal/día (hasta un 7% del NEL requerido para el mantenimiento y producción de 30 kg de leche). Con el estado energético promediando alrededor de -11Mcal/día durante las primeras 3 semanas postparto [40], un gasto adicional de 1 a 2 Mcal/día no es nada pequeño. Este costo energético es probable que comprometa y empuje a las vacas en postparto temprano mas profundamente hacia estados energéticos mas negativos o menos positivos, retrasando de esa manera su retorno a una actividad ovárica normal.

Para medir los efectos de la ingestión de energía y DIP en el comportamiento reproductivo de vacas lecheras en lactación, 45 vacas fueron asignadas al momento del parto a dietas con 20% de CP, conteniendo bien sea 76% o 55% DIP y 0 ó 2.2% CalCFA (Megalac[®]) [25, 26]. La ingestión de proteína cruda fue 1100 g mayor que la requerida para la producción de leche [40]. Los tratamientos continuaron hasta los 120 días de producción láctea. Las vacas alimentadas con dietas conteniendo proteínas altamente degradables mostraron mayores valores de BUN (22.0 vs. 17.3 mg%; P=0.01). Basados en los niveles de progesterona en muestras de sangre tomadas tres veces por semana, las vacas alimentadas con 76% DIP mostraron mas días hasta la primera fase luteal postparto que las vacas alimentadas con otras dietas (39 vs. 25 días;

P=0.002; Tabla 6). Todas las vacas en experimentación fueron sincronizadas entre los días 50 a 57. Las vacas no cíclicas previo a la sincronización fueron asignadas 50 días a la primera actividad luteal. Si las vacas no habían sido sincronizadas, el número de días a la primera actividad luteal probablemente habría sido aun mayor para las vacas alimentadas con las dietas con 76% DIP. Cuatro de 10 vacas alimentadas con dietas de 76% DIP sin CalCFA estaban en anestro al momento de la sincronización comparadas con solo de tres de 35 vacas alimentadas con otros tratamientos dietéticos. Estos prolongados días hasta el reinicio de la actividad ovárica y la condición de anestro estuvieron vinculados con mayores pérdidas de peso y de condición corporal para estos animales. Las vacas alimentadas con dietas de 76% DIP perdieron mas peso corporal y por un periodo de tiempo mas prolongado comparadas con vacas alimentadas con dietas de 55% DIP (44 kg a los 28 días postparto vs. 18 kg a los 20 días postparto). La ausencia de CalCFA resultó en una pérdida de 10 kg adicionales de peso corporal en las vacas alimentadas con 76% DIP. Además, la pérdida de condición corporal fue mayor y mas prolongada para las vacas alimentadas con dietas libres de FA, y con 76% DIP. Los gastos adicionales de energía para la detoxificación del amonio, producto de la altamente degradable proteína dietética posiblemente acentuó la dependencia en las reservas corporales de energía para la producción de leche. Esto resultó en un estado energético aun mas severo que retraso la actividad ovárica. El hecho de incluir el CalCFA en la dieta, permitió aliviar la escasez de energía, permitiéndole a las vacas depender mas de la energía obtenida del alimento y menos de las reservas corporales para la producción de leche. Los días al primer celo se redujeron en 6 días cuando CalCFA fue suministrado en dietas con 76% DIP. El hecho que elevados niveles de ingesta de proteína puedan ejercer sus efectos a través de altos costos energéticos para el animal ha sido apoyado en un trabajo experimental [22]. Se demostró que la ingesta de excesos de CP (21 vs. 15% de la dieta) disminuye las tasas de concepción de novillas desde 82 hasta 61%, cuando las novillas eran alimentadas con dietas deficientes en energía (70% de los requerimientos de EM).

4. MANEJO NUTRICIONAL-REPRODUCTIVO

Con el fin de integrar el manejo reproductivo y nutricional se han desarrollado excitantes estrategias. El ejemplo ilustrado con anterioridad demuestra que los efectos detrimentales de suministrar una dieta rica en DIP sobre la reproducción pueden ser aminorados suplementando con grasas (CalCFA). Las grasas (fuentes de energía concentrada) pueden ser incorporadas en las dietas de vacas en postparto temprano con el objetivo de minimizar las diferencias entre la entrada y la salida de energía. La absorción de ácidos grasos

totales por el rumiante es lineal hasta 1200 g/día [61], lo cual representa aproximadamente un 6% del DMI. Las dietas típicas no suplementadas con grasa contienen aproximadamente entre 2 a 3% de grasa. De tal manera que al parecer existe suficiente espacio para incrementar el uso de la grasa en las dietas sin la pérdida de eficiencia. Debido a que la grasa es un nutriente rico en energía, es natural suponer que la suplementación con grasa incrementaría el estado energético de la vaca. Sin embargo, este no ha sido el resultado en muchos casos. Muchas veces el estado energético del animal no es afectado por la suplementación con grasa bien sea porque el DMI está disminuido o la producción láctea está aumentada [30, 57, 60]. El suministro de grasa de suplementación ha demostrado ser efectivo en el mejoramiento del comportamiento reproductivo de vacas lecheras en producción. Las tasas de concepción fueron mejoradas con la suplementación de grasa [23] o de sales de calcio de ácidos grasos de cadena larga [25, 26, 53, 58, 59].

La integración de los programas de manejo nutricional y reproductivos es esencial para la exitosa operación de la explotación lechera. Un ejemplo lo podemos apreciar en un estudio que involucro 186 vacas y en el cual se evaluaron los efectos del suministro de la semilla de algodón (WCS) y de pequeñas dosis de la hormona somatotrópica bovina (bST) sobre la reproducción durante el periodo postparto de vacas lecheras en lactación. Las vacas fueron alojadas en un establo abierto con pisos de concreto. Las dietas fueron raciones totalmente mezcladas (TMRs) formuladas de acuerdo a los requerimientos para vacas Holstein en producción [1]. Dentro de 24 horas después del parto, las vacas recibieron *ad libitum* una de dos posibles dietas experimentales. Todas las vacas tratadas con bST recibieron 208 mg (0.5 ml) de bST (Posilac, Protiva Co., St. Louis, MO) por vía subcutánea cada 2 semanas comenzando en los primeros 7 días después del parto. Esta dosis de bST es solo un 50% de la dosis comercial estándar. A partir de Octubre de 1996, vacas aparentemente sanas fueron asignadas aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos (T) en un diseño factorial 2x2. Los tratamientos consistieron en un grupo con dieta de WCS (15% de la DM) con (+WCS+bST; T3) o sin (+WCS-bST; T1), bST y grupos de dieta sin WCS con (-WCS +bST; T2) o sin bST (-WCS-bST; T0). Todas las vacas recibieron PGF_{2α} (25 mg im, Lutalyse, Pharmacia-Upjohn Co., MI) a los 30±3 días postparto. Tres veces por semana se colectaron muestras de sangre desde el parto hasta el inicio del protocolo OVSYNCH/TAI. El protocolo OVSYNCH/TAI fue iniciado a los 65± 3 días postparto, y las vacas fueron inseminadas a ciegas el día 75. El día 111 postparto (36 días después de la inseminación) las vacas fueron sometidas al diagnóstico de gestación por examen ultrasonográfico. Si las vacas no resultaban preñadas, se repetía el protocolo OVSYNCH/TAI y la segunda inseminación se realizaba el día 121 postparto. De manera que todas las vacas recibie-

ron su primera inseminación el día 75 postparto y ninguna de las dos inseminaciones requirió detección de celo. Luego del segundo servicio, las vacas fueron observadas para la detección de celos y realizar los para subsiguientes servicios.

La semilla entera del algodón es una fuente suplementaria de grasa bastante común que es suministrada a los animales en el sudeste de los Estados Unidos de Norteamérica. Dado que los incrementos en los niveles de IGF-I parecen ser estimulantes para el desarrollo folicular y ovárico, como fue descrito con anterioridad, nosotros estamos interesados en administrar bST en baja dosis para evaluar la actividad ovárica y la fertilidad resultante. A pesar que la actividad ovárica temprana podría estar asociada con subsecuentes incrementos en la fertilidad, sentimos que es importante no mantener un largo periodo de exposición a la progesterona durante el periodo de involución uterina. En consecuencia, inyectamos rutinariamente PGF₂, el día 30 postparto para inducir la regresión de cualquier CL y reducir las concentraciones de progesterona. Esto estimula la dinámica folicular y resultarán nuevos folículos dominantes, a la vez que permite la eliminación del contenido uterino y reduce su exposición a la progesterona, la cual puede inhibir los mecanismos de defensa uterinos y predisponer al útero a una infección.

La alimentación de las vacas con dietas de WCS claramente estimuló la actividad ovárica basándose en una mayor acumulación de progesterona durante el periodo postparto hasta los 62 días postparto cuando se inició el programa OVSYNCH/TAI (Figura 6; $P < 0.02$). El incremento de la actividad ovárica puede haber estado asociada con las mayores concentraciones de colesterol-HDL encontradas en el grupo tratado con WCS (107.4 vs. 83.5 mg/dl). El colesterol es esencial para la síntesis de progesterona. A pesar que el inicio de la actividad ovárica fue significativamente diferente entre los animales que recibieron las dietas con y sin WCS, las tasas de preñez no fueron diferentes después de las diferentes inseminaciones a ciegas. Las respuestas de preñez demostraron la ventaja de integrar un programa de manejo reproductivo con el manejo nutricional. A pesar que la dieta sin WCS estuvo asociada con un menor nivel de actividad ovárica, la implementación del protocolo OVSYNCH/TAI estimuló y controló la actividad ovárica, de tal manera que no hubieron efectos del tratamiento de dietas sobre la fertilidad. Ciertamente el protocolo OVSYNCH/TAI permitió un muy preciso primer servicio para todas las vacas, mientras que la re-sincronización con el OVSYNCH/TAI para las vacas que no concibieron con el primer servicio, garantizaba un segundo servicio dentro de un periodo de 46 días para todas las vacas vacías. Nuestros experimentos de campo con el OVSYNCH/TAI indican una menor fertilidad en vacas en anestro. Con nuestra capacidad para garantizar que todas las vacas pueden ser inseminadas con precisión a un tiempo determinado postparto

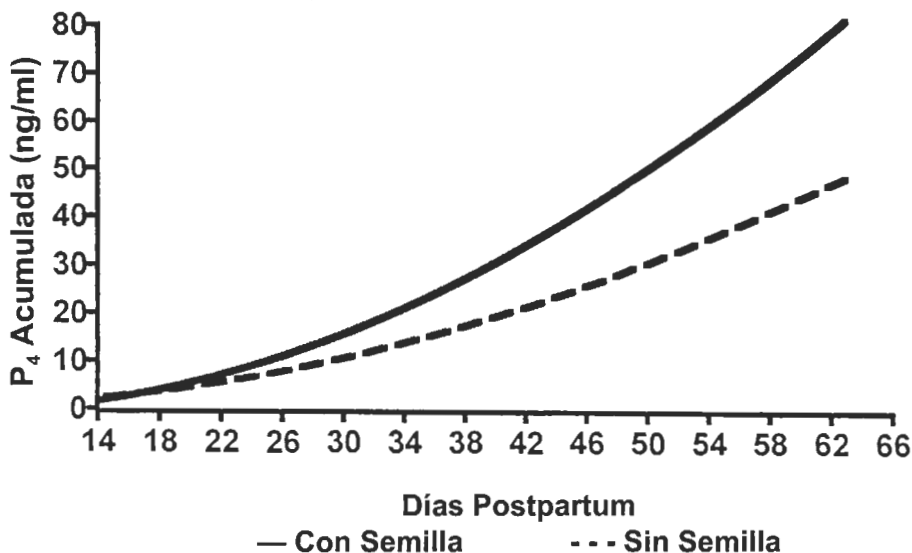


Figura 6. Efecto de la semilla entera del algodón sobre la progesterona plasmática ($P < 0.02$).

con el uso del OVSYNCH/TAI, los productores pueden prolongar el periodo de espera voluntario, desde el momento de la primera inseminación está controlado con mayor exactitud. Si todas las vacas están cíclicas y asumiendo un 50% de tasa de detección de celos, un programa normal de inseminación a celo detectado, debería ser iniciado el día 40 para asegurar que el día promedio de inseminación fuese el día 70 (rango 40-100 días). Sin embargo, un programa OVSYNCH/TAI permite que todas las inseminaciones sean realizadas a los 70 ± 3 días si es implementado semanalmente. Además, las tasas de preñez para vacas que experimentaron el protocolo OVSYNCH/TAI entre 76-100 días postparto fueron mayores que para las vacas que recibieron el OVSYNCH/TAI entre los días 50-75 (47% vs. 35%)[45]. De esa manera, puede ser una ventaja retrasar la primera inseminación hasta alcanzar un periodo de mayor fertilidad, utilizando el programa OVSYNCH/TAI para asegurar de que no haya una pérdida neta de tiempo al primer servicio a través del control del momento de inseminación para todas las vacas.

VI. LITERATURA CITADA

- [1] Adams, A.L.; Staples, C.R.; Van Horn, H.H.; Ambrose, D.; Kassa, T.; Thatcher, W.W.; Wilcox, C.J.; Risco, C.A. Effects of whole cottonseed and low dose bST on milk production and reproduction of early postpartum dairy cows *J. Animal Sci.* 76 (Suppl. 1) *J. Dairy Sci.* 81 (Suppl. 1): 306. (Abstract).
- [2] Ahmad, N.; Townsend, E.C.; Dailey, R.A.; Inskoop, E.K. Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 49: 13. 1997.
- [3] Ambrose, J.D.; Drost, M.; Monson, R.L.; Rutledge, J.J.; Leibfried-Rutledge, M.L.; Thatcher, M.-J.; Kassa, T.; Binelli, M.; Hansen, P.J.; Chenoweth, P.J.; Thatcher, W.W. Timed embryo transfer in heat-stressed dairy cattle: A field trial with IVF-derived embryos. *J. Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1):239. (Abstract). 1997.
- [4] Arechiga, C.F.; Staples, C.R.; McDowell, L.R.; Hansen, P.J. Effects of timed insemination and supplemental (3-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J. Dairy Sci.* 81:390. 1998.
- [5] Armstrong D. Improvement of dairy cattle production in hot climates by altering the environment of the animal. Conference on Animal Production in Hot Climates. Sultan Qaboos University Journal Scientific Research-Agricultural Sciences. 1:83. 1996.
- [6] Ayalon, N. A review of embryonic mortality in cattle. *J. Reprod. Fert.* 54:483. 1978.
- [7] Bao, B.; Garverick, H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Animal Sci.* 76: 1903. 1998.
- [8] Berman A.; Wolfenson, D. Environmental modifications to improve production and fertility. In: Large Dairy Herd Management. H.H. Van Horn and C.J. Wilcox Eds., American Dairy Science Association, Champaign, IL. pp 126-134. 1992.
- [9] Blaxter, K.L. The Energy Metabolism of Ruminants. Hutchinson & Co., London. 1962. Burke J.M.; De la Sota, R.L.; Risco, C.A.; Staples, C.R.; Schmitt, E. J.-P. Thatcher, W.W. Evaluation of timed insemination using a Gonadotropin-Releasing Hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1385. 1996.
- [10] Burke, J.M.; Hampton, J.H.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W. Body condition influences maintenance of a persistent first wave dominant follicle in dairy cattle. *Theriogenology* 49: 751. 1998.
- [11] Burke, J.M.; Staples, C.R.; Risco, C.A.; de la Sota, R.L.; Thatcher, W.W. Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3386. 1997.
- [12] Butler, W.R., Smith, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72:767. 1989.
- [13] Canfield, R.W.; Butler, W.R. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 7:323. 52. 1990.

- [14] Dailey, R.A.; James, R.E.; Inskeep, E.K.; Washburn, S.P. Synchronization of estrus in dairy heifers with prostaglandin FZa with or without estradiol benzoate. *J. Dairy Sci.*69: 1110. 1986.
- [15] De la Sota R.L.; Risco, C.A.; Moreira, F.; Burke, J.M.; Thatcher, W.W. Efficacy of a timed insemination program in lactating dairy cows during summer heat stress. *Theriogenology* 49: 761. 1998.
- [16] Diaz, T.; Schmitt, E.-J.P.; Thatcher, M.-J.; Thatcher, W.W. Human Chorionic Gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Animal Sci.* 76: 1929-1936. 1998.
- [17] Diskin, M.G.; Sreenan, J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fert.* 59:463. 1980.
- [18] Drost, M., Thatcher M.-J.; Cantrell, C.K.; Wolfsdorf, K.E.; Hasler, J.F.; Thatcher, W.W. Conception rates after artificial insemination or transfer of frozen/thawed embryos to lactating dairy cows during summer in Florida. *J. Animal Sci.*72. (Suppl.1): 380. 1994.
- [19] Ealy, A.D.; Drost, M.; Hansen, P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.*76:2899. 1993.
- [20] Edwards, J.L.; Hansen, P.J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol Reprod Dev* 46:138. 1997.
- [21] Elrod, C.C.; Butler, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Animal Sci.*71 :694. 1993.
- [22] Ferguson, J.D.; Sklan, D.; Chalupa, W.V.; Kronfeld, D.S. Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.*73:2864. 1990.
- [23] Fernandes, L.C.; Thatcher, W.W.; Wilcox C.J.L.; Call, E.P. LH release in response to GnRH during the postpartum period of dairy cows. *J Anim Sci.*46:443. 51. 1978.
- [24] Garcia-Bojalil, C.M.; Staples, C.R.; Risco, C.A.; Savio, J.D.; Thatcher, W.W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. *J. Dairy Sci.* 81: 1372-1384. 1998.
- [25] Garcia-Bojalil, C.M.; Staples, C.R.; Risco, C.A.; Savio, J.D.; Thatcher, W.W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: reproductive responses. *J. Dairy Sci.* 81: 1385-1395. 1998.
- [26] Grummer, R.R.; Hoffman, P.C.; Luck, M.L.; Bertics; S.J. Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 78:172. 57. 1995.
- [27] Gustafsson, H. Characteristics of embryos from repeat breeder and virgin heifers. *Theriogenology* 23:487. 1985.
- [28] Gwazdauskas, F.C.; Thatcher, W.W.; Kiddy, C.A.; Paape, M.J.; Wilcox, C.J. Hormonal patterns during heat stress following PGF₂-Tham salt induced luteal regression in heifers. *Theriogenology* 16:221. 1981.

- [29] Holter, J.B.; Hayes, H.H.; Urban Jr W.E.; Duthie, A.H. Energy balance and lactation response in Holstein cows supplemented with cottonseed with or without calcium soap. *J. Dairy Sci.* 75:1480. 1992.
- [30] Jones, G.P.; Garnsworthy, P.C. The effects of dietary energy content on the response of dairy cows to body condition at calving. *Anim. Prod.* 49:183. 1989.
- [31] Lamming, G.E.; Darwash, A.O.; Back, H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. and Fertil. Supplement* 37: 245. 1989.
- [32] Larson, L.L. Ba11, P.J.H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*, 38:255. 1992.
- [33] Markette, K.L.; Seidel, Jr.G.E.; Elsdon, R.P. Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. *Theriogenology* 23:45. 1985.
- [34] Maurer, R.R.; Chenault, J.R. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *J. Animal Sci.* 56:1186. 1983.
- [35] Maurer, R.R.; Echternkamp, S.E. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology* 17:11. 1982.
- [36] McGlothlen, M.E.; Amin, F.E.; Wilcox, C.J.; Davis, R.H. Effects on milk yield of crossbreeding Zebu and European breeds in the Sudan. *Brazil. J. Genetics* 18: 221. 1995.
- [37] Monty D.E. Jr.; Racowsky, C. In vitro evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed superovulated dairy. *Theriogenology* 28:451-465. 1987.
- [38] Moreira, F.; Risco, C.; Pires, M.F.A.; Ambrose, J.D.; Drost, M.; DeLorenzo Thatcher, W.W. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving atime insemination. *J. Animal Sci.* 76 (Suppl. 1) / *J. Dairy Sci.* 81 (Suppl. 1): 215. (Abstract). 1998.
- [39] National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th rev ed. Natl Acad Sci, Washington DC. 1989.
- [40] Pritchard, J. Y.; Schrick, F.N.; Inskip, E.K. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology* 42: 247-259. 1994.
- [41] Pursley J.R.; Kosorok, M.R.; Wiltbank, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301. 1997.
- [42] Pursley, J.R.; Mee, M.O.; Brown, M.D.; Wiltbank, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using GnRH and PGF_{2a}. *J. Anim. Sci.* 72 (Suppl. 1):230 (Abstr.). 1994.
- [43] Pursley J.R.; Mee, M.O.; Wiltbank, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2a} and GnRH. *Theriogenology* 44:915. 1995.
- [44] Pursley J.R.; Silcox, R.W.; Wiltbank, M.C. Conception rates at differing intervals between AI and ovulation. *J. Dairy Sci.* 78; 279 (Abstract). 1995.
- [45] Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C.; Stevenson, J.S.; Ottobre, J.S.; Garverick, H.A.; Anderson, L.L. Pregnancy rates for artificial insemination at a synchronized ovulation of synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295. 1997.

- [46] Putney, D.J.; Drost, M.; Thatcher, W.E. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between day 1 to 7 post insemination. *Theriogenology* 30:195. 1998.
- [47] Putney, D.J.; Mullins, S.; Thatcher, W.W.; Drost, M.; Gross, T.S. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 19:37. 1989.
- [48] Putney, D.J.; Mullins, S.; Thatcher, W.E.; Drost, M.; Gross, T.S. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 19:37. 1989.
- [49] Roche, J.F. Control of the time of ovulation in heifers with progestational and gonadotropic-releasing hormone. *J. Reprod. Fertil.* 43:471. 1975.
- [50] Roche, J.F.; Boland, M.P.; McGeady, T.A. Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. *Vet. Rec.* 109:401. 1981.
- [51] Rodriguez, T.R.; Burns, W.C.; Franke, D.E.; Hentges, J.F.; Thatcher, W.W.; Warnick, A.C.; Fields, M.J. Breeding at a predetermined time in the bovine following PGF₂ + GnRH. *J. Anim. Sci.* 40 :188 (Abstract). 1975.
- [52] Rowson, L.E.A.; Lawson, R.A.S.; Moor, M.; Baker, A.A. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J. Reprod. Fertil.* 28:427. 1972.
- [53] Schneider, P.L.; Sklan, D; Chalupa, W, Kronfeld, D.S. Feeding calcium salts of fatty acids to lactating cows. *J. Dairy Sci.* 71:2143. 1988.
- [54] Schmitt, E.J.P.; Diaz, T.; Drost, M.; Thatcher, W.W. Use of a gonadotropic Releasing Hormone agonist or Human Chorionic Gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084. 1996.
- [55] Sianangama, P. C.; Rajamahendran, R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 38:85. 50. 1992.
- [56] Silcox, R.W.; Powell, F.L.; Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C. Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology* 43:325. 1995.
- [57] Skaar, T.C.; Grummer, R.R.; Dentine, M.R., Stauffacher, R.H. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* 72:2028. 1989.
- [58] Sklan, D.; Bogin, E., Avidar, Y., Gurarie, S. Feeding calcium soaps of fatty acids to lactating cows: effect on production, body condition and blood lipids. *J Dairy Res* 56:675. 72.
- [59] Sklan, D.; Moallem, U.; Folman, Y. Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. *J. Dairy Sci.* 74:510. 1991.
- [60] Spicer L.J.; Vernon, R.K.; Tucker, W.B.; Wetteman, R.P.; Hogue, J.F.; Adams, G.D. Effects of inert fat on energy balance, plasma concentrations of hormones, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2664. 1993.

- [61] Staples, C.R.; Garcia-Bojalil, C.; Oldick, B.S.; Thatcher, W.W. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: A review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: Fourth Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, 37. 1993.
- [62] Staples, C.R.; Thatcher, W.W.; Clark, J.H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 73:938. 1990.
- [63] Stevenson, J.S.; Kobayashi, Y.; Shipka, M.P.; Rauchholz, K.C. Altering conception of dairy cattle by Gonadotropin-Releasing Hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F₂. *J. Dairy Sci.* 79:402. 1996.
- [64] Stevenson, J.S.; Lucy, M.C.; Call, E.P. Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of Prostaglandin F_{2a}. *Theriogenology* 28:937. 1987.
- [65] Thatcher, W.W.; De La Sota, R.L.; Schmitt E J-P; Díaz T.C.; Badinga, L.; Simmen, F.A.; Staples, C.R.; Drost, M. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. *Reprod. Fert. Dev.* 8:203.1996.
- [66] Thatcher, W.W.; Driancourt, M.A.; Terqui, M.; Badinga, L. Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy and during early pregnancy. *Domestic Animal Endocrinology* 8: 223.1991.
- [67] Thatcher, W.W.; Macmillan, K.L.; Hansen, P.J.; Drost, M. Concepts for the regulation of corpus luteal function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31:149. 1989.
- [68] Thatcher, W.W.; Staples, C.R.; Danet-Desnoyers, G.; Oldick, B.; Schmitt, E.-P. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Animal Sci.* 72 (Suppl. 3): 16. 1994.
- [69] Twagiramungu, H.; Guilbault, L.A.; Dufour, J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 73: 3141. 1995.
- [70] Twigge, J.R.; Van Gils, L.G.M. Practical aspects of feeding protein to dairy cows. In: Haresign W, Cole, DJA (eds), *Recent Developments in Ruminant Nutrition 2*, Butterworths, London: 196. 1988.
- [71] Vasconcelos, J.L.M.; Silcox, R.L.; Lacerda, J.A.; Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C. Pregnancy rate, pregnancy loss and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol Reprod.* 56(Supplement 1): 140. 1997.
- [72] Wolfenson, D.; Thatcher, W.E.; Savio, J.D.; Badinga, L.; Lucy, M.C. The effect of GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating dairy cows. *Theriogenology* 42:633. 1994.