

# NUEVAS BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS. ASPECTOS BIOLÓGICOS Y ECONÓMICOS

Ricardo H. Alberio. Dpto. Prod.Anim. INTA Balcarce

Junio 2003

## 1- INTRODUCCIÓN

La totalidad de las biotécnicas reproductivas actualmente en uso en la producción de bovinos han sido desarrolladas durante el siglo XX. La más corrientemente utilizada de ellas, la inseminación artificial (IA), tiene sus orígenes en la primera mitad del siglo pasado aunque tiene su máxima tasa de adopción después de la segunda Guerra Mundial, debido al descubrimiento de los crioprotectores que posibilitaron una eficiente metodología de congelación del semen (Polge y Rowson, 1952). Es a partir de esta metodología que los programas de mejora genética tomaron un camino no previsible hasta principios del siglo. Es cierto que ya existían metodologías de selección y mejoramiento, pero su difusión a nivel masivo fue siempre dificultada por las limitantes biológicas dadas por la capacidad reproductiva de los machos superiores. La IA hizo posible la popularización de la mejora genética así como la posibilidad de aplicar un mayor potencial de selección al poder multiplicar por miles de veces la capacidad de reproducción de los machos selectos. La mayoría de las biotécnicas reproductivas desarrolladas con posterioridad a esta estuvieron relacionadas también con la mejora genética y particularmente centradas en la mejora del uso de la IA así como en el desarrollo de otras que posibilitaran la ampliación de la capacidad reproductiva de las hembras. Es así como en orden sucesivo podemos nombrar en primer lugar al desarrollo de métodos de control del ciclo estral que tuvo lugar en la década del 60 del siglo XX. Esta metodología tuvo como objetivo original simplificar la aplicación de la IA en los países desarrollados en los cuales, con su aplicación, era posible disminuir la cantidad de horas dedicadas a este trabajo disminuyendo así el costo en mano de obra. Más tarde se vio que este objetivo era ampliamente superado con otros impactos que el uso de esta técnica podía tener tanto con el uso de la IA así como simplemente en el manejo reproductivo de los rodeos. Asociada con esta metodología se desarrolló la técnica de IA sin detección de celos (IA sistemática –IAS- o a tiempo fijo –IATF-) la cual aún en la actualidad es motivo de estudios tendientes a su perfeccionamiento.

En la década del 70 se produjo el desarrollo e incorporación de la Superovulación y Transferencia de Embriones (SOTE) a los programas de mejora genética y en términos generales, tuvo el mismo objetivo en las hembras que la IA respecto de los machos: multiplicar el potencial reproductivo de las hembras de alto valor genético. Esta técnica tuvo una gran difusión durante las décadas del 70 y 80 aunque su impacto nunca tuvo la magnitud obtenida con la IA. Sus costos, las respuestas variables entre animales y la mayor complejidad que la IA fueron algunas de las razones del menor uso de esta técnica. Durante la década del 80 se desarrolló una tecnología alternativa o complementaria a la anterior, la producción in vitro (PIV) de embriones a la que se visualizó como una buena forma de mejorar algunos puntos débiles de la SOTE y aún llegar en algún momento a reemplazarla en buena medida. Su difusión comercial comenzó durante la década del 90 aunque diversos problemas técnicos impidieron una masificación de la misma. El principal de estos problemas fue la dificultad de obtener buenas tasas de sobrevivencia después de la congelación de los embriones PIV. Esto sigue siendo en la actualidad una de las limitantes de su uso ya que o se aceptan tasas de gestación que oscilan entre 20 y 40% o se dispone de receptoras en forma permanente para realizar transferencias de embriones frescos con los que la tasa de gestación es superior al 50%. Ambas soluciones significan un mayor aumento de los costos lo que por el momento sitúa a la técnica como una solución para casos puntuales. El sexado de los embriones tuvo una mejora sustancial hacia fines de la década del 90 ante el desarrollo de metodologías muy sencillas. Sin embargo y a pesar que las mismas ya han alcanzado su etapa comercial en muchos lugares, su utilización no deja de ser por el momento muy limitada. Esto está asociado en los últimos años a la posibilidad de incorporar el sexado del semen en los programas de mejora genética. Esta

técnica ha sido durante los últimos 30 años motivo de intensos estudios de los cuales surgieron algunas metodologías (empíricas unas y producto del método científico otras) que no resultaron prácticas en su utilización. Una de estas metodologías basada en la selección de los espermatozoides mediante un rayo laser estuvo varios años detenida por el alto costo de equipamiento y el bajo rendimiento de semen sexado aunque su exactitud en el sexado propiamente dicho nunca fue cuestionada. En los últimos años, esta metodología ha alcanzado una evolución tal que ya se encuentra comercializada en varios países siendo la Argentina uno de aquellos que cuenta con el equipamiento, la infraestructura y los recursos humanos como para hacerlo en forma eficaz. La introducción de esta metodología será un elemento de vital importancia en estos programas y relativiza el uso del sexado de embriones que sigue siendo relativamente complejo técnicamente y crea uno de los problemas importantes en el comercio internacional de embriones debido a la perforación de la zona pelúcida para hacer la biopsia necesaria para tal diagnóstico. Más recientemente, ya en plena década del 90, el desarrollo de la técnica del clonado y de la transgénesis abre puertas impensadas hasta fines del siglo pasado. Estas últimas metodologías trascienden a su posible uso exclusivo en la mejora animal y en la actualidad ya se están visualizando con bastante claridad sus posibles aplicaciones en la medicina humana. A pesar de haberse avanzado mucho en su desarrollo y existir ya en varias partes del mundo animales nacidos producto de estas técnicas, su aplicación es aún, únicamente potencial.

En esta presentación se pretende realizar la descripción de dos de estas tecnologías reproductivas las que, utilizadas en el contexto apropiado, deberían posibilitar una intensificación de la producción del ganado bovino.

Se describirá por un lado a la inducción y sincronización de los celos la cual, aunque no es de reciente desarrollo como se dijo más arriba y tampoco ha sido utilizada intensiva en nuestros sistemas, en los últimos años ha mostrado una revitalización producto de las ventajas de su uso. Se hará con respecto a ella su descripción como técnica no solo destinada a facilitar la incorporación de la IA sino también como herramienta para posibilitar un manejo más racional del rodeo de cría haciéndose un análisis somero de las razones económicas que justifican su uso así como de las ventajas biológicas que la misma aporta.

En segundo lugar, se hará la descripción de una biotecnología de muy reciente incorporación a los sistemas productivos en el mundo y que se comienza a estudiar y aplicar en nuestro país. Se trata de la utilización de los embriones producidos in vitro, cuyas características de producción y formas de utilización serán analizadas también desde sus aspectos técnicos y económicos.

En síntesis, se realizará primeramente el repaso de una metodología relativamente antigua y sin embargo de poca aplicación en nuestros sistemas hasta hace pocos años en el que su uso comienza a ser reconsiderado y en segundo lugar, el de otra de muy reciente desarrollo y aplicación en el mundo y que se considera que puede llegar a revolucionar los sistemas productivos en los próximos años.

## **2- LA INDUCCIÓN Y/O SINCRONIZACIÓN DE CELOS EN LOS BOVINOS**

La asincronía de los eventos reproductivos entre los animales de un mismo rodeo impide la realización de trabajos agrupados, en particular cuando estas tareas están destinadas a la reproducción de dichos animales. Un ejemplo de ello es la dificultad cada vez más marcada para la realización de los servicios por medio de IA con sistemas clásicos de detección de celos. Por otra parte, los períodos de reposo sexual común a los mamíferos (anestro posparto-anestro de amamantamiento), se traducen en períodos improductivos que un sistema de producción eficiente tiene que disminuir. Esto ha motivado, entre otros hechos que, durante los últimos 40 años se llevasen a cabo investigaciones tendientes a controlar los eventos reproductivos de los animales domésticos. Como consecuencia de estas investigaciones, se dispone actualmente de una amplia gama de posibilidades de control del ciclo estral. Podemos en este largo período de 40 años detenernos en dos procesos que fueron los puntos clave para las metodologías actualmente en uso comercial. El primero, se centró en el desarrollo de metodologías capaces de controlar en forma eficaz el celo y la ovulación y constituyó el aporte mayoritario a las técnicas actuales. El segundo, de más reciente aparición, estuvo relacionado con los estudios tendientes a definir y controlar algunos aspectos más finos del gran proceso llamado ciclo estral cuales fueron aquellos destinados a caracterizar las ondas foliculares y su posible manipulación y el control del proestro que permitiese una mayor sincronización de la ovulación. Estos últimos estudios han

posibilitado nuevos aportes a las metodologías existentes, tal vez sin modificar las respuestas biológicas en la respuesta cuantitativa pero posibilitando una menor variabilidad en tales respuestas.

Antes de entrar en el detalle de este tema, es conveniente definir algunos de los términos actualmente relacionados con las prácticas de control del ciclo sexual.

Se habla de **sincronización del celo y la ovulación** cuando el tratamiento realizado sobre un grupo de animales produce la precisa manifestación de ambos fenómenos en un corto período. Cuando esta sincronización está más dispersa en el tiempo, se habla entonces de un **agrupamiento** y finalmente, se habla de **inducción y sincronización**, cuando los animales se encuentran en anestro y el tratamiento aplicado es capaz de corregir tal situación, induciendo los celos por lo general en forma muy sincronizada.

## 2.1- Por qué inducir y/o sincronizar celos y ovulaciones

En nuestro país, la principal y original motivación para el uso de la **sincronización o agrupación** de los celos es la de contribuir a corregir situaciones en las que, de otra manera, sería imposible o muy dificultoso de realizar la IA (campos con monte, falta de potreros o de equipamiento apropiado o de inseminador, etc.) o también para facilitar su aplicación en situaciones en que la detección de celos es dificultada por el manejo del sistema (vacas lecheras). Una consecuencia derivada de lo anterior es que la agrupación de los servicios permite acortar en forma significativa el período de parición lo que se constituye en un aprovechamiento secundario, aunque no menos importante desde el punto de vista económico, de la sincronización de los celos. Una mayor supervisión de la parición posibilita disminuir las pérdidas neonatales. La mayor homogeneidad del lote de terneros así como su mayor peso promedio al destete se traducen en atractivos beneficios económicos. Esta agrupación permite también una mejor previsión y utilización de los recursos alimenticios.

En un análisis realizado en 1983 (Alberio y col. no publicado) se demostró que la inclusión de la sincronización de celos en un programa de IA no sólo no reducía las ventajas del mismo, sino que permitía una ligera mejora económica (**Cuadro 1**). En este análisis no fueron tenidas en cuenta ventajas no cuantificadas económicamente como la posibilidad de aumentar el uso de la IA en diferentes establecimientos, aumentar el número de animales inseminados en un establecimiento, etc. Asimismo, en aquellos cálculos no se tuvo en cuenta la posibilidad de reducción de los costos de la sincronización de los celos lo cual, como se verá más adelante, es actualmente un hecho.

Una consecuencia, también de importancia económica, está dada por el hecho que los animales tratados (por lo general vaquillonas) paren en su primer ciclo reproductivo en forma muy agrupada y muy temprano en el período de parición. Esto se traduce en una productividad mayor a lo largo de su vida productiva (García Paloma y col.1992; Burris y Priode 1958 y Leismester y col. 1973), tanto por mejorar su propia performance reproductiva (**Cuadro 2a**) como por facilitar la obtención de un rodeo con parición muy agrupada lo cual se traduce en un aumento de los pesos de los terneros destetados (**Cuadros 2b y 2c**). Como consecuencia de ambos hechos, se aumenta de forma significativa la cantidad de kgs de ternero destetado (más terneros y más pesados). Con estas consideraciones es posible comprender porque el uso de estas tecnologías no está restringido únicamente a ser un complemento de la IA sino que puede comenzar a formar parte del manejo de los servicios naturales.

En cuanto a la inducción de los celos, su uso ha estado motivado en algunas consideraciones tales como:

- En el bovino, la IA ha sido realizada históricamente en las vaquillonas de dos años por razones de manejo (ausencia de terneros) y por la falta de celos en la vaca que amamanta. En los últimos 10 a 15 años, este esquema ha sufrido una modificación importante con la incorporación de la vaquillona al primer servicio desde los 15 meses de edad. La consecuencia biológica inmediata de esto ha sido que una proporción variable de estas hembras se encuentran aún en anestro prepuberal. La única forma de poder realizar servicios eficientes de IA en esta categoría es la de utilizar tratamientos capaces de inducir celo y ovulación.
- La vaquillona de primer servicio es la categoría menos apropiada para incorporar la mejora

genética, particularmente cuando dicha mejora está ligada a tamaño al nacer o la ganancia de peso hasta el destete. Por otra parte, la vaquillona de primer servicio constituye en el mejor de los casos un 25% del total del rodeo. Si pudiese incorporarse a la vaca múltipara con cría al pie, la cual tiene menores problemas de parto que la vaquillona y que además constituye la mayor parte del rodeo de cría, los programas de mejora genética tendrían un impacto mayor por permitir un avance más rápido en el programa y por permitir una mayor presión de selección en su descendencia. Tanto la vaquillona de 15 meses como la vaca con ternero tienen sin embargo el problema de presentar períodos de anestro que impiden poder realizar programas de IA razonables. Los tratamientos de inducción de los celos permiten incorporar a ambas categorías al programa de IA posibilitando no solo el aumento de la cantidad de animales que pueden ser inseminados sino que incorpora de esta manera a la categoría más numerosa y que puede expresar mejor algunas de las características que se desean transmitir (peso al parto, ganancia de peso, etc.) sin causar aumento de los problemas al parto.

- El anestro posparto y por lo tanto la ausencia de ovulaciones y celos que caracterizan a la vaca con cría, reducen su productividad. Por lo tanto, la inducción de celos contribuye a reducir los períodos improductivos consecuencia de los procesos de reposo sexual y mejora la productividad global como consecuencia de la posibilidad de realizar servicios significativamente más cortos.

En nuestro país, los largos períodos de servicio han sido una modalidad utilizada frecuentemente por los productores para resolver problemas nutricionales o sanitarios. Sin embargo, estos largos períodos no se han traducido en mejoras de la productividad del rodeo no solo porque se encubren a los problemas principales sino porque aún cuando estos sean resueltos, la eficiencia productiva sigue siendo menor que cuando los servicios son más cortos. Esto es claramente ejemplificado en la comparación de la productividad de rodeos con servicios de 2 o 5 meses de duración realizada en EEUU por Wiltbank en 1985 (**Cuadro 3**). En este ejemplo se observa que tanto el número de terneros como su peso al destete es aumentado en el servicio de 2 meses con respecto al de 5 y que aún teniendo en cuenta los mayores gastos del servicio de 2 meses, la productividad final de este supera en alrededor de un 18% a la productividad de un servicio de 5 meses. Teniendo esta comparación como referencia, se puede comprender porque durante los últimos 30 años se ha procurado realizar un acortamiento de los servicios y se ha propuesto una duración de tres meses como la más apropiada. Sin embargo, cuando se realizan servicios de tres meses de duración, la proporción de vacas con actividad sexual cíclica al comienzo del mismo es de alrededor de un 40 a 50% en el mejor de los casos. En estos sistemas, es difícil alcanzar y más aún sobrepasar el 40% a 50% de vacas preñadas en el primer mes de servicio. La inducción de los celos permitirá aumentar significativamente el número de los animales preñados al comienzo del servicio, permitiendo su acortamiento lo que mejora la productividad del rodeo. Es así como en los últimos años el acortamiento de los servicios más aconsejado es el de 2 meses.

En un análisis semejante al realizado por Wiltbank (1985) en los EEUU pero llevado a cabo en nuestro país (Butler y Alberio, 1997) hemos podido comprobar que la incorporación de la inducción y sincronización de celos en un rodeo de cría para acortar los servicios de 90 a 50 días, puede producir mejoras de interés en el sistema productivo. En nuestro caso, el estudio se hizo comparando la eficiencia productiva de un rodeo con 90 días de servicio natural cuando es manejado en forma muy ajustada (90% de parición con un 45% ocurrido en el primer mes del servicio), lo cual no es muy frecuente, con la eficiencia de un rodeo con 50 días de servicio (93% de parición, con un 70% parido en la primera mitad del período de parición, es decir alrededor de 25 días) en el cual se realizó la inducción y sincronización de celos (**Cuadro 4**). La mejora de un 8.3% de kgs de ternero producidos en el servicio de 50 días con respecto al de 90 está dado no solo por el mayor peso al destete por el agrupamiento de las pariciones sino también por la mejora genética ya que al haber realizado una sincronización de los celos ha sido posible realizar una IA preñando a la mitad del rodeo con un toro mejorador. En el caso presente no se cuantificaron ni evaluaron económicamente algunas variables que son de indudable beneficio para el sistema tales como:

- 1- Permite anticipar el diagnóstico de gestación lo cual hace posible anticipar las ventas y disminuir la

- carga animal por posibilitar un uso más eficiente de las reservas forrajeras;
- 2- Facilita realizar el destete precoz al disponer de terneros muy homogéneos;
  - 3- Posibilita una recria e internada más eficiente;
  - 4- Mejora el control de la parición con lo cual es posible disminuir las pérdidas;

Complementario con lo anterior, es posible hacer un análisis parecido pero con un uso estratégico de la inducción y sincronización de los celos. Es el referido a su utilización en las vacas cola de parición. En el rodeo de cría, esta categoría conforma, como en el caso de las hembras primíparas, una fracción del total en que la tasa de preñez será inferior a la media del rodeo. Cuando el análisis mostrado anteriormente fue realizado teniendo en cuenta únicamente el tratamiento de inducción de celos en las vacas cola de parición, se observó ahora un incremento de gran magnitud de la productividad que superó en un 54% a la de las vacas no tratadas (**Cuadro 5**).

Cuando se realizó un análisis parecido aplicado al ganado lechero se determinó que la aplicación de un programa de sincronización de los celos e IAS producía en nuestros sistemas beneficios netos sobre la producción que oscilaban entre 25 a 50 dólares por animal tratado (Marcantonio y de la Sota, 2000).

Se hará a continuación un breve análisis de las modalidades actualmente aplicadas en nuestro país, y en forma sintética, su performance en el uso corriente en nuestros sistemas.

### **3- Sincronización de celos**

El tratamiento de elección para la sincronización de los celos en los bovinos es el basado en la aplicación de agentes luteolíticos. Esto implica, por definición, la presencia de un cuerpo lúteo en el animal que va a ser tratado. En esta categoría se encuentran las vaquillonas en edad y peso apropiados (en general vaquillonas de 24 meses), las vacas sin ternero (tanto de cría como lecheras) y una proporción variable de vacas con ternero al pie. La mayor parte de los animales tratados con agentes luteolíticos en nuestro medio, son las vaquillonas dos años en su primer servicio. Los agentes luteolíticos por excelencia son las prostaglandinas (PGF), tanto naturales como de síntesis. La inyección de prostaglandinas entre los días 5 y 17 del ciclo resulta, dentro de las 24 hs, en una inmediata caída de la progesterona y un aumento de LH y estradiol en plasma, la presentación de celo y onda preovulatoria dentro de los 2-5 días y ovulación en el momento esperado con respecto al celo (Hansel y Beal 1978). La fertilidad de los celos obtenidos es comparable a la de celos espontáneos o aún superior (Macmillan 1983). La eficacia de estos fármacos como luteolíticos es cercana al 100% cuando son utilizados en forma apropiada. Desde los comienzos de su uso hasta el presente, hay dos caminos que se han seguido para facilitar el uso más extendido de este tipo de tratamientos: las estrategias de utilización y la dosis apropiada.

#### **3. 1- Estrategias de utilización de prostaglandinas**

En sus comienzos, y debido al objetivo que tuvo originalmente su desarrollo, la estrategia de elección consistió en la aplicación de una doble dosis del agente luteolítico con un intervalo de 11-14 días (**Cuadro 4**). Con esta metodología es posible en un tiempo mínimo de trabajo, inseminar en forma sistemática (sin detección de celos) a la totalidad de los animales a aproximadamente 72 hs después de la segunda PGF lográndose una preñez de entre el 50 y 60%. Si a esto se le adiciona la inseminación del retorno (también agrupada pero en un período de 7 días) es posible preñar entre el 70 y el 80% de los animales en menos de 30 días de servicio (Alberio, 1982; Torquati, Barragán y Alberio. 1983). Si bien esta modalidad fue la diseñada originalmente para tener una apropiada sincronización de los celos, la misma no fue utilizada durante muchos años en nuestro país debido al costo en droga y semen que la misma implicaba.

Las estrategias alternativas diseñadas precisamente para paliar este inconveniente implican algunos días de detección de celos (entre 5 y 10) pero una reducción significativa tanto de la cantidad de droga como de semen utilizados (**Cuadro 5**). La más difundida de estas estrategias en nuestro

medio consiste en detectar celo (y eventualmente inseminar) durante 5 días. En el día sexto, se aplica prostaglandina a todos aquellos animales que no han manifestado celo previamente. En los 5 días siguientes presentará celo la mayoría de los animales tratados, siempre y cuando el rodeo estuviese ciclando en su totalidad. Un buen indicio de esto lo da la tasa de celo diario observada en los primeros cinco días de detección. Puesto que la tasa de celo diario esperada en un rodeo con todos los animales con actividad sexual cíclica es de alrededor de 4.5%, si la observada oscila entre el 4 y 5%, es posible inferir que el rodeo se encuentra en condiciones de ser tratado. Ante cifras inferiores, se debe entender que algunos animales no están ciclando y por consecuencia no responderán al agente luteolítico. Cuanto menor sea la tasa de celo previo, menor será la respuesta por haber menos cantidad de animales ciclando y por lo tanto susceptibles de ser tratados (**Cuadro 6**).

Esta estrategia permite no solo reducir las dosis de PGF (aproximadamente a un 30-40% de la primera estrategia) sino también las de semen ya que la IA se realiza solamente en los animales detectados en celo. Esta variante permite también un uso de interés con servicio natural. Una vez introducidos los toros en un rodeo de vaquillonas, es posible al día sexto hacer una prostaglandina a la totalidad de los animales. Aquellos que han sido servidos los 5 días previos no responderán y si están preñados, mantienen su preñez. El resto, si todas estaban ciclando, mostrarán celo en los 5 días siguientes posibilitando así realizar un significativo acortamiento del servicio.

Otra variante de uso frecuente consiste en la palpación ovárica de los animales que serán tratados para inyectar únicamente aquellos en que se detecte alguna estructura de tipo luteal. Esto requiere de cierta experiencia y habilidad pero realizado correctamente, se convierte en una alternativa de interés. También en este caso es posible reducir tanto las dosis de prostaglandina como las de semen. Presenta sin embargo las limitantes dadas por los errores de diagnóstico.

Estudios realizados con 6 prostaglandinas existentes en el mercado en nuestro país hace ya 15 años, permitieron determinar que no existen diferencias en los resultados obtenidos con ellas (**Cuadro 7**) y lo mismo fue observado en estudios realizados en los últimos años.

En los últimos años ha crecido de forma inusual la demanda por la realización de tratamientos destinados a la inseminación a tiempo fijo sin detección de celos (IAS). Como consecuencia de lo cual, no solo ha retomado auge la modalidad de aplicar dos inyecciones de PGF separadas por 11-14 días sino que se han multiplicado los estudios tendientes a lograr una mejor sincronía de la ovulación para mejorar la preñez obtenida a la IAS. Los nuevos estudios de la dinámica folicular realizados por medio de ultrasonografía en la década del 90 posibilitaron la incorporación de otros elementos capaces de colaborar en el sistema de sincronización ya descrito. Con estos agregados fueron diseñadas estrategias que tuvieron como destino particularmente a las vacas lecheras y que después se han extendido en alguna manera a las vacas para carne. Las nuevas modalidades, que tomaron nombres muy variados (Ovsynch, Cosynch, Cosynch + progestágeno, etc), constituyen protocolos cada vez más complejos y costosos sin que hasta el presente se observen mejoras en los resultados que induzcan al reemplazo de las estrategias originales de aplicación de prostaglandinas. Una alternativa muy frecuentemente utilizada por los Profesionales en nuestro país, es la inseminación a celo detectado después de un tratamiento con doble aplicación de prostaglandinas. Hasta el momento no se posee información que indique que la tasa de preñez sobre el total de animales tratados sea mejorada con esta modalidad. Tal vez la preñez por animal inseminado sea superior pero se debe recordar que se estarán dejando de inseminar animales que han ovulado y cuyo celo no ha sido detectado.

En todos los casos es importante recordar que por sus efectos luteolíticos, la prostaglandina es también un agente abortivo, elemento que deberá ser tenido en cuenta ante la posibilidad de existir animales preñados a los que no se desea hacer abortar.

### **3. 2- Dosis apropiada del agente luteolítico**

Como se mencionó más arriba, el cuerpo lúteo sólo es sensible a la prostaglandina entre los días 5 y 17 del ciclo. Dentro de este período, debido a existir secreciones variables de la hormona por el útero, las necesidades de prostaglandina exógena para producir luteólisis también son variables. Por tal razón, los tratamientos comerciales poseen en la actualidad una dosificación que cubre con amplio margen las variaciones durante este período sensible. Debido a esto, y con el fin de facilitar la extensión del uso de estos agentes, se realizaron estudios para determinar la posibilidad de reducir las dosis indicadas por los laboratorios y así reducir simultáneamente el costo de los tratamientos. En la actualidad existe amplia información que permite asegurar que una dosis de la mitad de la indicada por la mayoría de los laboratorios e inyectada por vía intramuscular, es capaz de inducir luteólisis y celo fértil similares a los de la dosis completa, aunque la dispersión de los celos puede ser mayor que con esta. La preñez en sistemas extensivos usando esta media dosis no ha diferido de la obtenida con la dosis completa (**Cuadro 8**).

En síntesis, en la actualidad se dispone de tratamientos de sincronización de celos que permiten una amplia gama de alternativas de uso y de costo lo que ha facilitado su adopción aún en sistemas extensivos con servicio natural. En estos, con un costo de 1.3 kg de novillo por animal (en el caso de la estrategia y la dosis más económicas) es posible preñar entre un 70 y un 80% de las vaquillonas en un período inferior a los 30 días (Alberio y col, 1980, no publicado).

#### **4. Inducción y sincronización de celos**

El estado de anestro postparto en los bovinos es una condición fisiológica natural inducida por el amamantamiento de la cría (Willians 1990). Algunos factores pueden interactuar con el amamantamiento aumentando los períodos de reposo sexual fisiológicos (nutrición, problemas al parto, fotoperíodo). Ante esta situación de anestro fisiológico y sin la presencia de problemas patológicos, diversas estrategias de intervención son planteadas para revertir el problema aunque solo unas pocas de ellas son viables actualmente. Estas están centradas en la actualidad en los tratamientos farmacológicos con progesterona o progestágenos y en alguna combinación válida de GnRH, PGF y Estradiol.

En la actualidad, los métodos más utilizados para inducir la ovulación en vacas en anestro posparto incluyen la utilización de un tratamiento de 7 a 12 días con progesterona o progestágeno. Otras variantes de menor uso aún, se comentan brevemente al final de este punto.

Sobre la base de este tratamiento central que es capaz de revertir el estado de anestro, se han realizado modificaciones que han tendido a aumentar la tasa de respuesta y a mejorar la fertilidad de los celos y ovulaciones inducidas. Las modificaciones más recientes de los tratamientos en uso, han logrado sobre todo disminuir la variabilidad de estas dos variables. El diseño de esta modalidad es consecuencia de haberse determinado la necesidad de un período de influencia de progesterona que impregne el sistema hipotálamo-hipofisario como condición para facilitar el reinicio de la actividad sexual posparto (Ramirez Godinez y col. 1982; García Winder y col. 1986). La determinación que el agregado del progestágeno o la progesterona en forma inyectable conjuntamente con una inyección de estradiol eran capaces de desencadenar el desarrollo de una nueva onda folicular que daría lugar al folículo que va a ovular hacia la finalización del tratamiento, se constituyeron en el primer elemento complementario de la técnica de base. Esta combinación permite esperar la ovulación de ovocitos de la mejor calidad al provenir de folículos de reciente desarrollo. Por otra parte, como en un rodeo de cría puede haber un número variable de hembras en celo, las hormonas inyectables asociadas al tratamiento inductor tienen como objetivo desencadenar la luteólisis, cuando son aplicadas en mitad del ciclo (benzoato de estradiol; Pratt y col. 1991) o impedir el crecimiento de un nuevo cuerpo lúteo cuando es aplicado inmediatamente después de la ovulación (Woody y col. 1967).

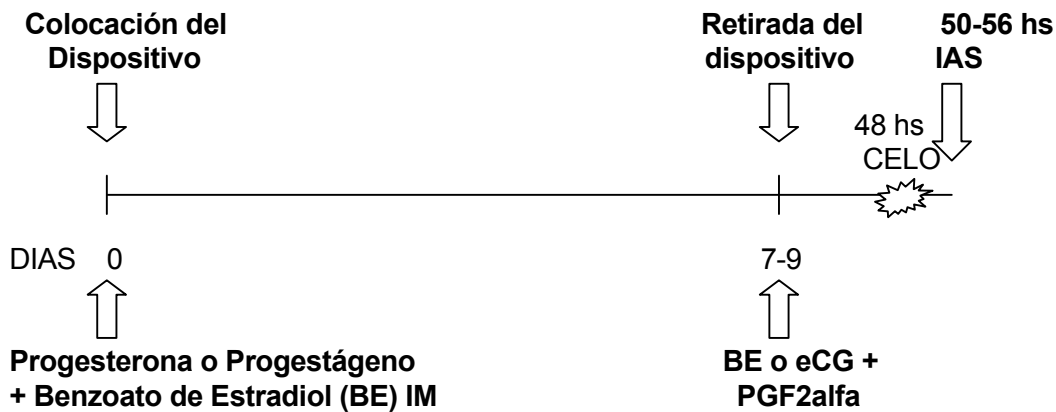
Como una forma de mejorar la sincronía de la ovulación inducida y en consecuencia aumentar la tasa de concepción en una inseminación a tiempo fijo, el tratamiento es completado con la aplicación de benzoato de estradiol en pequeñas dosis, o de eCG o del destete de los terneros durante 48 hs, en el momento de retirar al progestágeno o la progesterona.

Finalmente, puesto que en la mayoría de los casos de vacas con cría coexisten vacas en anestro y vacas ciclando en proporción desconocida (en general alrededor del 50%), frecuentemente se aconseja la aplicación de PGF al retirar el tratamiento con progestágeno o 24 hs antes para asegurar la destrucción del cuerpo lúteo en caso que estuviese presente.

De esta manera es posible lograr no sólo la inducción sino también la sincronización del celo inducido.



## Cronograma general de un tratamiento con progestágenos



Una síntesis de los resultados de preñez a la IAS en nuestro país y en el extranjero realizada a comienzos de la década del 80, permite estimar que la tasa de ovulaciones inducidas era superior al 50% ya que la preñez a tiempo fijo era en general superior al 30% (**Cuadro 9**). Una muestra de que los tratamientos modernos, con pequeñas correcciones, han permitido obtener tasas de ovulación que superan el 80% y tasas de preñez que se sitúan en alrededor del 50% con IAS entre 48 y 56 hs después de finalizado el tratamiento (**Cuadro 10**).

Los tratamientos actualmente disponibles en forma comercial en nuestro país y sus formas de utilización son los siguientes:

- SMB (Syncro-mate-B): consiste en un implante de hydron impregnado con 6 mg de norgestomet que es aplicado en forma subcutánea (base de la oreja) durante 9 días. En el momento de su aplicación, son inyectados 5 mg de benzoato de estradiol y 3 mg de norgestomet. Al ser retirado, se recomienda la aplicación de 400 a 600 UI de PMSG inyectadas en forma intramuscular o la realización de un destete de 48 hs (DT). Este producto fue retirado del mercado americano durante el año 2000.

- CRESTAR: consiste en un implante impregnado con 3 mg de norgestomet que es aplicado en forma subcutánea en la base de la oreja donde permanece de 9 a 10 días. En el momento de su aplicación, son inyectados 3 mg de valerato de estradiol y 3 mg de norgestomet. Al ser retirado, se recomienda la aplicación de 400 a 600 UI de eCG inyectada en forma intramuscular o la realización de un destete de 48 hs (DT). Para mejorar la sincronización de los celos cuando se trata de animales cíclicos, se recomienda también la aplicación de PGF 48 hs antes de retirar el implante.

- PRID (progesterone release intravaginal device): fue el primer dispositivo intravaginal que se comercializó y que dio lugar a los que, con formas diferentes, fueron diseñados en años posteriores. Se trata de un dispositivo en forma de espiral con un alma de acero recubierta de un elastómero de silicona de alta calidad la cual está impregnada con 1.55 mg de progesterona. En el espiral se encuentra insertada una cápsula de gelatina con 5 mg de benzoato de estradiol que interactúa con la progesterona para el control de la onda folicular y produce hiperemia que facilita una rápida absorción de la progesterona.

- CIDR (controlled internal drug release): se trata de un dispositivo intravaginal de silastic con forma de Y e impregnado con 1,9 gr. de progesterona que puede ser liberada durante varias semanas. El dispositivo

es dejado en vagina 7 días y a su retiro, se aconseja la aplicación de 0.7 a 1 mg de benzoato de estradiol. Esto último, según algunos autores, produce mejores resultados si es aplicado 24 hs después de retirado el dispositivo.

- DIV-B y TRIU-B: son tratamientos desarrollados en nuestro país muy similares al CIDR con ligeras modificaciones en su forma así como en el contenido de progesterona. Las características de utilización son similares al CIDR.

- CHRONO-GEST: también es un producto desarrollado en nuestro país y consiste en una esponja de poliuretano cilíndrica impregnada con acetato de medroxiprogesterona (MAP) que se ubica en fondo de vagina por 7 a 9 días. Al aplicar la esponja se inyecta benzoato de estradiol (BE) y MAP y a su retiro, se inyecta nuevamente (BE).

En todos estos tratamientos, se realiza la IAS a las 48-56 hs después de finalizado el tratamiento. El destete al retirar el tratamiento y hasta después de finalizada la IAS es aconsejado no solo por su efecto estimulante sobre la actividad ovárica sino también por facilitar el manejo el día de la IAS disminuyendo los movimientos y en estrés el día de la IAS.

Algunas variantes desarrolladas en los últimos años asociando la aplicación de GnRH-PGF-GnRH han sido motivo de una enorme difusión por sus creadores en EEUU. Sin embargo, hasta el presente no se han observado resultados que por su nivel o su consistencia superen, en la vaca de cría, a los de los tratamientos antes mencionados que han sido evaluados sobre cientos de miles de animales durante los últimos 20 años.

En síntesis, los tratamientos descritos previamente permiten obtener una buena inducción de la ovulación y del celo de los animales en anestro posparto. La fertilidad postratamiento, ya sea después de una IAS o por servicio sobre celo detectado durante 4-5 días, permite obtener tasas de preñez que oscilan entre 40 y 55% con una apreciable variabilidad entre rodeos, categorías (primíparas-multíparas), razas, estado nutricional, estado de actividad ovárica. Acumulando la preñez obtenida después del tratamiento con la del retorno, es posible obtener tasas de gestación por encima del 70% en los primeros 25 días del servicio. Algunas de las condiciones para el éxito en estos trabajos son la intensa participación del Profesional en la programación, realización de los tratamientos e IAS, el manejo apropiado de los animales durante toda la manipulación, particularmente la IAS, el evitar el estrés y el tener un buen estado nutricional en los animales (superior a 4 en una escala de 0 a 9).

## **5. Conclusiones**

La descripción realizada es una síntesis de la información producida en los últimos 40 años. En la misma se muestra un panorama de la situación actual, particularmente desde la óptica de su aplicación en nuestro país. No cabe duda que sobre lo expuesto se pueden hacer una multiplicidad de observaciones y propuestas alternativas. Sin embargo, el material presentado cubre la gran mayoría de metodologías de control del ciclo estral en bovinos. De acuerdo con ello, es posible concordar en que la disponibilidad de alternativas es amplia y con matices suficientes de forma de aplicación, precio, etc. como para satisfacer la demanda de nuestros sistemas productivos. No debe dejar de remarcarse que las metodologías descritas constituyen herramientas que tendrán un resultado positivo únicamente cuando son utilizadas en la forma y momento apropiados. **Las diferencias de resultados observadas son por lo general producto de la gran variabilidad entre rodeos y formas de trabajo y tales diferencias, por su magnitud, no pueden ser corregidas con la aplicación de sofisticadas variantes y combinaciones.**

## **6- LA PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES BOVINOS**

La producción de bovinos para carne es, por la biología de la especie, de baja eficiencia en cuanto a su capacidad de transformar kg de alimento en kg de carne. En el caso particular de la vaca de

cría, esto es debido a su baja tasa de procreo. Dos formas posibles de mejorar la eficiencia de la vaca de cría son:

- aumentar la cantidad de kg destetados por aumento de la tasa de procreo por encima de la natural de la especie (producción de mellizos) o,
- aumentar la cantidad de kg destetados por mejora genética

En el primer caso, la falta de técnicas para producir mellizos en forma controlada y los hasta ahora fallidos intentos de hacerlo genéticamente, impidieron hasta el presente considerar esta alternativa como forma de mejorar la performance de la vaca de cría.

En el segundo caso, el uso de la inseminación artificial (IA) permite acceder a esta alternativa. Sin embargo su tasa de adopción en nuestro medio no es muy alta, entre otras cosas debido al largo tiempo (y consecuentemente alto costo) que es necesario para obtener resultados.

En cuanto a la producción lechera, la tasa de crecimiento en la década del 90 ha sido de gran magnitud. Esto se ha frenado por coyunturas económicas de los últimos años pero en la actualidad se observa una demanda para la recomposición de rodeos lecheros. Para el reinicio de estos rodeos, el nivel genético es de vital importancia (junto a la mejora de los sistemas de alimentación) para obtener una alta eficiencia productiva de este tipo de bovinos. Los recursos que existen actualmente para la mejora genética son la ya mencionada inseminación artificial y, eventualmente, la superovulación y transferencia de embriones (SOTE) para también potenciar la calidad genética de las hembras. Esto último que es de particular impacto en la vaca lechera, es de baja adopción por su alto costo y la variabilidad de sus resultados.

Otra situación que se plantea en oportunidades es el cambio de sistema de producción pasando de producción de carne a producción lechera. Esto tiene muy alto costo y demanda de mucho tiempo lo que financieramente impide su concreción o genera importantes baches productivos. El proceso es lento ya que no hay existencia de animales excedentes para la reposición y si los hubiese, son de mérito genético inferior.

El progreso genético por medio de la IA, si bien mucho más rápido que con el servicio natural, continúa siendo lento y costoso para las demandas del sector. Por otra parte, existe una limitante dada por el número de animales del establecimiento que por si mismo se constituye en una traba importante para su crecimiento. Cuando se intenta el aumento del número de animales de alto valor genético en un tambo, el mismo se puede realizar por compra de los mismos en otros tambos (los que a su vez disminuyen sus vacas de alto valor genético) o por mayor retención de los propios animales. Esto último es difícil de concretar en el tambo en el cual la alta tasa de eliminación anual (igual o superior al 25%) no deja excedentes de animales para permitir tal crecimiento. Por lo tanto, estas dos alternativas (la primera lo único que hace es cambiar de lugar animales de valor y la segunda es casi imposible de concretar más allá del crecimiento vegetativo que será muy lento) son, cuando se usan en forma única, insuficientes para lograr un aumento real del crecimiento del rodeo nacional de animales de alto valor genético.

Finalmente, en nuestros países existen genotipos que resultan de interés para países con condiciones de producción parecidas y que carecen de los biotipos apropiados para un mejor aprovechamiento de tales condiciones. Al respecto, ya ha habido numerosas manifestaciones de tal demanda. La exportación de este material sería de interés como parte de nuestro comercio exterior pero su concreción se ve muy limitada por los altos costos del transporte de animales vivos y de los riesgos sanitarios que ello implica. Sumado a la insuficiente cantidad de animales para suplir tal demanda de acuerdo a lo dicho más arriba.

Las situaciones descriptas, si bien no impiden la producción y comercialización de productos bovinos, interponen límites para los cuales actualmente existe la tecnología con costos apropiados

para salvarlos. Esta tecnología está basada en el uso de embriones producidos in vitro los que, por sus características, pueden ser utilizados en todas las situaciones mencionadas más arriba y, en el mediano plazo, permitirá incorporar alternativas como el sexado del semen, el clonado y la producción de animales transgénicos.

## **7.- Características de la producción in vitro de embriones**

Esta tecnología ha sido desarrollada en la pasada década y el primer nacimiento de ternero producto de la misma recién fue informado en el año 1988 (Goto y col. 1988). En consecuencia se trata de una tecnología muy reciente en la cual se producen avances año a año con las consecuentes mejoras de la misma. Tales mejoras hacen que en la actualidad esté prácticamente disponible para su uso en producción animal como ya ocurre en otros países.

Las características generales de la técnica incluyen varios pasos.

### **7.1- Obtención y maduración de las gametas femeninas (óvulos u ovocitos).**

Esta etapa puede asimilarse a lo que se realiza en el macho que es usado en inseminación artificial en la cual la primera etapa del proceso, es la colecta de la gameta masculina (espermatozoides). Los ovocitos son recuperados a partir de los ovarios de las hembras destinadas a tal fin de diferentes maneras:

- a partir de ovarios de matadero;
- a partir de ovarios de vacas castradas y
- a partir de vacas vivas

En los dos primeros casos, los ovarios son extraídos, transportados al laboratorio y sus folículos punzados y aspirados para obtener de su interior a los ovocitos.

En el último caso, la punción de los folículos se realiza a partir de vacas vivas mediante la ayuda de un ecógrafo que por vía transrectal, permite realizar la punción de los ovarios. En esta alternativa, la maniobra puede ser repetida en sucesivas oportunidades y con una frecuencia de hasta dos veces por semana sin perjuicio para la fertilidad de la hembra. Además puede ser llevado a cabo en animales en anestro, en animales prepúberes, en vacas gestantes, etc.

Con las modalidades de punzar ovarios de matadero o de castración, en general es posible obtener entre 10 y 25 ovocitos por hembra de los cuales será posible producir entre 3 y 6 embriones. Cuando los ovocitos son obtenidos por punción ovárica dos veces por semana de animales vivos, la cantidad de embriones que se pueden producir por semana es de alrededor de 2.

Los ovocitos una vez obtenidos, son clasificados y puestos a cultivar durante 24 hs en sistemas muy controlados de temperatura (38.39°C), humedad (95%) y atmósfera (5% de CO<sub>2</sub>).

### **7.2- Fertilización in vitro.**

Una vez finalizada la etapa de maduración, los ovocitos se encuentran en condiciones de ser fecundados. Para ello se procede a la preparación del semen que requiere de algunas manipulaciones tendientes a eliminar todos los excedentes (medio de congelación, plasma seminal, contaminación bacteriana, espermatozoides muertos, etc.). El semen así preparado es puesto a continuación en contacto con los ovocitos ya maduros. Por lo general, una pajuela de semen puede ser utilizada para fertilizar entre 400 y 800 ovocitos por lo cual, si todo se realiza de acuerdo a las previsiones, permitiría producir entre 120 y 240 embriones. De todas formas esta cifra marca una potencialidad que pocas veces puede transformarse en realidad en los casos de producción de embriones a partir de vacas vivas. En estos casos, se puncionan ovarios de vacas cuyos ovocitos son tratados a partir de ese momento en grupos que corresponden a cada vaca.

Como en general no es posible punzar más de una cantidad limitada de vacas por sesión, el número de ovocitos que se pondrá en el sistema es mucho más bajo que cuando se dispone de ovarios de matadero en que se procesan todos los ovarios en conjunto. Además, no necesariamente todas las vacas punzadas en una sesión tienen que ser inseminadas por el mismo toro. Con lo cual es frecuente que con esta modalidad de trabajo, en realidad se puedan producir tal vez entre 2 y 10 embriones con el contenido de semen de una pajuela.

### **7.3-Desarrollo embrionario temprano**

A las 24 hs de realizada la inseminación y llevado a cabo el cultivo en situaciones similares a las descritas previamente, las presuntas cigotas son cambiadas de medio y colocadas en cultivo durante otros 6 a 7 días pasados los cuales, los embriones producidos serán ya sea transferidos o congelados. En general, si todas las etapas descritas se desarrollan sin inconvenientes y el semen utilizado es de muy buena calidad, es posible producir entre 25 y 35% de embriones a partir de los ovocitos puestos en cultivo.

En una evaluación de la producción de embriones realizada en nuestro laboratorio en el año 1995 durante un período de 14 meses (Iudica y col. 1998), se pudieron realizar las siguientes observaciones y marcar los siguientes récords:

- Un tercio de las sesiones de producción de embriones resultó fallida por problemas en su mayoría reversibles (cortes de luz, contaminaciones).
- En las sesiones exitosas se obtuvo un promedio de 14% de embriones transferibles sobre el total de ovocitos puestos en cultivo.

En la actualidad, y con mejoras en diferentes puntos de la técnica, las sesiones sin producción de embriones son una excepción y la tasa promedio de embriones producidos por sesión es superior al 25%.

### **8.- Posibilidades de uso de los embriones producidos in vitro (PIV)**

Los embriones producidos con la metodología antes mencionada presentan algunas diferencias marcadas con respecto a los embriones producidos por superovulación, técnica conocida y utilizada en nuestro país desde hace alrededor de 20 años. Los embriones PIV tienen, por sobre todas las cosas, un costo de producción que puede ser sensiblemente menor que el obtenido por superovulación. En segundo lugar, el máximo aprovechamiento del semen que posibilita esta técnica en algunas situaciones (como se mencionó más arriba), permite la producción de embriones utilizando el semen del mayor valor posible sin que el mismo incida de manera significativa en el costo del embrión. Algunas de las limitantes que presentan hasta el momento estos embriones son: menor resistencia a la congelación que los embriones producidos in vivo (superovulación) y, consecuentemente, menor tasa de gestación que estos después de su transferencia. Por estas razones es que por el momento esta tecnología es presentada como una alternativa de gran trascendencia productiva, con la cual se puede llegar a producir crías de alto valor genético a partir de hembras que no podrían producirlos de otra manera. Pero su uso en forma masiva debe ser descartado al menos en la actualidad. De acuerdo a los avances producidos en los últimos tiempos, se puede estimar que en los próximos años se irán resolviendo aspectos limitantes y se irán agregando técnicas complementarias (ej.: sexado de embriones, sexado del semen) que posibilitarán un uso más extensivo a nivel del productor.

Aún con las limitaciones actuales conviene que la metodología sea tenida en cuenta de forma de estar preparado para su aplicación en la medida que se mejoren los aspectos mencionados.

A continuación se hará una breve reseña de algunas de las aplicaciones posibles, sus costos y sus posibles impactos.

Como fue mencionado al comienzo, la intensificación de la producción ganadera puede ser aumentada, desde el punto de vista genético-reproductivo de dos maneras

- aumentando la cantidad de kgs destetados por aumento de la tasa de procreo por encima de la natural de la especie (producción de mellizos), o
- aumentando la cantidad de kgs destetados por mejora genética utilizando tecnologías reproductivas de fácil aplicación y rápidos avances.

### 8.1- Producción de mellizos

La producción de mellizos controlada en una parte del rodeo de cría puede ser lograda por la transferencia de embriones PIV. Esto puede ser logrado ya sea por la transferencia de dos embriones a vacas que no reciben servicio en el momento del celo o por la transferencia de un embrión suplementario a hembras con un servicio previo. En trabajos realizados durante varios años en Irlanda con embriones producidos por superovulación, quedó demostrado que la eficiencia biológica y técnica de esta metodología es indiscutible (**Cuadro 10**) pudiendo llegar a aumentarse en cerca de un 50% la cantidad de terneros producidos en un rodeo (pasar de 85% a 120%). Sin embargo, dicha metodología no era válida económicamente debido al alto costo de los embriones utilizados en estos trabajos. Por el contrario, el costo de los embriones PIV que, como se dijo anteriormente es mucho más bajo, posibilitaría su aplicación con una mejora económica cierta. Como se muestra en el **Cuadro 11**, existe bastante información producida en el mundo con el uso de este tipo de tecnología que indica que con su uso es posible producir alrededor de un 50% de preñez en lo que sería la primoinseminación con alrededor también de un 50% de mellizos sobre las preñadas. Con lo cual se podría en el mejor de los casos esperar obtener un 25% de mellizos en el grupo transferido. En trabajos realizados en nuestro país se obtuvieron resultados no muy diferentes (**Cuadro 12**), cuando los mismos fueron llevados a cabo en condiciones muy controladas. En síntesis, utilizando esta técnica sería posible aumentar en un 30-50% la eficiencia biológica del rodeo de cría y en aproximadamente un 20% la rentabilidad del mismo (**Cuadro 13**). Por otra parte permitiría una aceleración de la tasa de crecimiento de la producción de carne, lo cual constituye una de las prioridades actuales. Sin embargo, en estudios posteriores realizados en nuestro país en condiciones de campo con embriones PIV congelados (en establecimientos de productores), estos resultados no fueron reproducibles por lo cual por el momento se considera que la tecnología es de un interés potencial pero hasta que no se logre mejorar la tasa de gestación con embriones PIV congelados, no sería aconsejable su uso en condiciones comerciales.

### 8.2- Uso en la mejora genética de vacas para carne.

#### Caso de la mejora genética de la cabaña

En este estrato de la producción, la tecnología actualmente utilizada para lograr avances en el proceso de mejora es la Superovulación y la Transferencia de Embriones (SOTE). Si bien esta es una tecnología bien conocida y aplicada en nuestro medio, su aplicación ha disminuido debido a sus altos costos y a la gran variabilidad de sus resultados. Sin embargo, su uso está justificado en muchas oportunidades.

El uso de embriones PIV posibilitará tanto la obtención de embriones de vacas antes sometidas a la SOTE y particularmente de aquellas que nunca produjeron respuestas al tratamiento superovulatorio o que por efecto de este ya no tienen más respuesta, como a vacas gestantes, terneras, etc. Según la forma de trabajo que se adopte, el costo de los embriones producidos podrá ser más reducido que el producido por superovulación. De acuerdo con lo descrito precedentemente, algunas de las ventajas del uso de los embriones PIV con respecto a los obtenidos por SOTE son las siguientes:

Con Embriones PIV

Con Embriones de SOTE

Terneros por año	60	30
Es posible obtener	Terneros de vacas que no superovulan (gestantes, impúberes, que no responden a la SO)	
Costo por ternero	\$ 200*	\$ 300**

\* No incluye el costo de la receptora

\*\* No incluye el costo de la receptora ni del semen utilizado.

El sexado de los embriones aumentaría en un 50% el costo de los terneros en ambos casos.

### **Caso de productores con rodeos mejorados**

En este estrato productivo se encuentran productores que ya realizan inseminación artificial y/o superovulación y transferencia de embriones.

En este tipo de productor, el uso de la PIV de embriones le permitirá evitar la pérdida genética que significa el proceso natural y anual de animales de refugio. A través de la recuperación de los ovarios de las vacas destinadas al matadero y produciendo a partir de ellos crías suplementarias con semen del mayor valor genético aumentará significativamente el valor agregado de la vaca que va al matadero en donde su genética no será pagada. Esto posibilitará asimismo mantener la propia genética y permitirá un avance más rápido del proceso de mejora al transferir a sus propias vacas de menor valor genético estos embriones de alta calidad.

El uso del material genético producido por esta vía a partir de los animales mencionados, posibilitará un aumento real de ganado mejorado y evitará el flujo de germoplasma que se pierde diariamente en los mataderos.

Comparando los costos de producción de un ternero por medio de la inseminación artificial en relación con la del uso de embriones PIV, se observa lo siguiente: partiendo del principio que en la actualidad, con una dosis de semen es posible producir alrededor de 80 embriones PIV y con estos, entre 20 y 30 terneros, el costo del ternero por este sistema estará por debajo de los \$ 40 (\$10/embrión x 80 embriones: \$800. Más \$40 de una dosis de semen de alto valor genético: \$840. Si nacen 20 terneros, el costo de cada uno será de \$ 42. Se debe tener en cuenta que el costo de estos terneros es sensiblemente inferior al de los mencionados en el punto anterior ya que en ese caso los ovocitos son obtenidos por punción ovárica y tal sistema encarece la producción de los embriones producidos.

Si se quisiera producir los mismos 20 terneros por IA serían necesarias al menos 30 dosis de semen de \$ 40 (total \$ 1200). De donde el costo de cada ternero será de \$ 60. Es decir un 50% más caro que los producidos con embriones PIV.

### **Caso del productor que nunca realizó mejora genética**

Este productor, que dispone de la IA desde hace más de 40 años, no la incorpora por diferentes razones: costos, largos períodos para notar resultados, complicaciones suplementarias en el manejo del establecimiento, etc. Si bien actualmente se dispone de metodologías que al menos contribuyen a disminuir los inconvenientes en el establecimiento, los tiempos siguen siendo largos

y el costo final alto.

A este nivel de productor, le brindará una herramienta de bajo costo que, en períodos muy cortos, le permitirá ingresar en la categoría superior (rodeos mejorados). Con esta herramienta se podrá lograr la incorporación de la mejora genética en una amplia franja de productores que verán más facilitado el clásico trabajo de largo aliento que ello implica con el uso tradicional de la inseminación artificial. Por este último método, el llegar a disponer de un rodeo mejorado, puede demandar entre 3 a 5 generaciones (6 a 10 años) en las cuales, las hijas de cada una de ellas deberán ser nuevamente inseminadas con el semen "mejorador". El costo de producir 20 terneros de alta genética durante un período de trabajo de al menos 6 años es de aproximadamente \$ 600 a \$800 por ternero.

El uso de embriones PIV de alta genética (obtenidos a partir de ovarios de vacas mejoradas y semen de alto valor genético) permitirá producir los mismos 20 terneros a un costo de \$ 42 cada uno. Es decir, a un costo entre 10 a 20 veces menor y en un período 5 veces más corto que con el uso de IA. Aún suponiendo que el producir embriones de ovarios de vacas de alta genética tenga un costo suplementario demandado por los propietarios de tales vacas, el valor del ternero de alta genética no superaría los \$100 con lo cual sigue siendo mucho menos caro que el producido por métodos clásicos de IA.

### **8.3- Uso en la mejora genética de vacas para leche.**

A nivel del productor lechero, le posibilitará:

- incrementar su programa de mejora genética a bajo costo y rápidamente,
- recuperar vacas de refugio de alto valor genético para producir crías suplementarias y
- producir únicamente hembras a través del uso de embriones sexados.

Considerando únicamente el primer punto (terneros de alta genética a bajo costo), la comparación con el uso de la IA (tecnología de mayor uso en la mejora genética de la vaca lechera) marca nuevamente el interés del uso de embriones PIV: considerando una dosis de semen de \$ 100, producir 20 terneros con este semen costará alrededor de \$ 150 por ternero si se usa IA (30 dosis x \$ 100: \$ 3000 y 3000/20: 150 pesos). Con el uso de embriones PIV este costo es similar o inferior según la modalidad que se adopte. Sin embargo debe tenerse en cuenta que un semen de ese valor difícilmente será usado en IA. De manera que con el embrión PIV se logrará un avance genético muy rápido (en una generación, mientras que con la IA y semen de menor valor, esto tomará 3 a 4 generaciones). El uso de SOTE permite lograr lo mismo en términos de velocidad de mejora aunque el costo del ternero se elevará a \$ 300 a lo cual hay que adicionar al menos dos dosis de semen de \$100 con lo cual el costo final de este ternero será de \$ 500 (vs 150-200 con el embrión PIV).

Pero tal vez se puede considerar que tanto o más interesante que la producción de embriones a partir de vacas vivas lo sea el hecho de poder recuperar la genética de vacas que han terminado su ciclo productivo en el tambo obteniendo de ella algunas crías suplementarias.

En una investigación realizada en nuestro país para determinar la factibilidad de esta técnica en términos prácticos, se utilizaron 197 vacas de alto valor genético de las que, por medio de este sistema, fue posible obtener alrededor de 4.5 embriones por vaca y un 46%% de preñez con la transferencia de los mismos. Es decir que en promedio fue posible obtener una cría suplementaria de estas vacas que iban al matadero (**Cuadros 14 y 15**). Es interesante remarcar que como receptoras fueron utilizadas en muchos de los casos, vacas de cría con lo cual el nacimiento de estos animales contribuyeron a un aumento importante y real del efectivo de vacas de alta genética del establecimiento con animales que tuvieron un costo muy inferior al que hubiesen tenido de ser comprados.

### **8.4- Exportación de germoplasma**

La utilización de embriones PIV facilitará que, a nivel del país, se realice la exportación de



genotipos existentes que son de interés en otras regiones del mundo, abriendo un nuevo mercado de comercialización. Esta alternativa que no es nueva, en realidad se ha visto restringida por los altos costos de los embriones producidos in vivo y la nueva metodología, por sus menores costos, pone nuevamente un mercado al alcance de nuestros productores. En nuestros sistemas se dispone de una excelente genética de razas británicas adaptada a condiciones de clima y pasturas que hacen de estos animales razas de buena productividad y rusticidad en forma simultánea. De la misma manera, se dispone en nuestro medio de vacas de alta producción adaptadas a condiciones de clima que pueden ser de interés en otras partes del mundo. Este tipo de animales tiene o comienza a tener una alta demanda de piases que tienen razas rústicas pero de mala calidad (en el caso de las razas para carne) o poco adaptadas al medio difícil y de alta producción (caso de las vacas lecheras). Se suma a ello el bajo costo de producción que los embriones PIV tendría facilitando así este tipo de intercambios.

## **9. CONCLUSIONES**

Nos hemos centrado en esta descripción en las posibilidades de aprovechamiento de dos tecnologías relacionadas con la mejora genética y el mejoramiento de los manejos de los rodeos. Hemos dejado de lado algunas nuevas tecnologías que por el momento tienen un aprovechamiento potencial a nivel productor. Lo contrario ocurre con las descritas que en muchas de sus opciones, particularmente en el caso de los embriones PIV, están aún en desarrollo pero ya se están utilizando en forma comercial. Tampoco se hizo una gran descripción de la obtención de embriones a partir de ovocitos aspirados de vacas vivas, tecnología esta que día a día va tomando mayor auge. Sin embargo podemos decir que con lo descrito disponemos de herramientas de trabajo suficientes por varios años en la medida que nos comprometamos en promover su utilización. Para sintetizar las ideas antes de finalizar la presentación, a continuación se menciona un listado de lo que podría permitir la aplicación de estas biotecnologías:

La inducción y/o sincronización de celos:

- Posibilita y/o facilita el uso de la IA
- La aplicación de la IAS permite una mayor difusión del uso de la mejora genética
- Se posibilita una mayor participación del Profesional y por ende se asegura una mejor calidad del trabajo
- Una mayor ordenamiento del rodeo con un período de parición mas corto y las múltiples ventajas que ello trae aparejado.
- Hay una mejora en la eficiencia productiva de los rodeos al aumentarse la cantidad de kgs de ternero destetado.

La producción in vitro de embriones:

- A través de la producción de mellizos, producir aproximadamente un 30% más de terneros por vaca.
- Su uso en programas de mejora genética (en carne y leche) a menor costo y con resultados en menor tiempo que las otras metodologías disponibles.
- Realizar un máximo aprovechamiento del semen de la mayor calidad.
- Aprovechamiento de las vacas de refugio de alto valor genético las que actualmente significan un pérdida permanente de genética no aprovechada.
- Producir crías de vacas de alto valor genético que no responden a la superovulación.
- Realizar cambios de raza, cruzamientos , etc. con bajos costos relativos y en cortos períodos.
- Disponer de bancos de germoplasma para su exportación con costos competitivos a nivel internacional.



## CUADROS Y TABLAS

**Cuadro 1.** Incidencia de la inseminación artificial (IA) y la sincronización de celos (SC) en el rendimiento productivo y económico del rodeo de cría.

<b>Sistema</b>	<b>Kg/ha</b>	<b>I.B.</b>	<b>C.D.</b>	<b>M.B.</b>	<b>Retorno</b>
Servicio natural	115	100	100	100	100
I.A.	139	120	100.1	143	119
I.A.+ S.C.	141	123	100.5	150	121

- IB: ingresos brutos. CD: costos directos. MB: margen bruto.

Alberio y col. 1983

**Cuadro 2.** Efecto de la fecha de parto sobre la performance productiva de vacas de cría.

### a) Sobre el comportamiento reproductivo

	<u>Días de parto</u>				
	1-20	21-40	41-60	61-80	81-100
Vacas preñadas en el servicio sig (%)	93.1	90.6	87.1	82.1	73.9

Adaptado de Burris y Priode 1958

### b) Sobre los kgs de ternero destetados (USA).

	<u>Días de parto en su primera parición</u>				
	0-21	22-43	44-66	66-87	Total
Peso primer destete (kg)	193	182	167	157	173
Peso destetes posteriores	196	197	194	189	192
Peso destetes totales (kg)	195	189	186	184	188

Adaptado de Leismester y col. 1973

### c) Sobre los kgs de ternero destetados (Argentina).

	Grupos		Dif.
	1	2	
Peso primer destete (kg)	168.9	149.8	19.1
Peso 4 destetes post.(kg)	163.3	159.4	3.8
Peso destete total (kg)	164.5	157.2	7.3

Grupo 1: vacas paridas en los primeros 25 días en su primera parición.

Grupo 2: vacas paridas entre 26 y 90 días en su primera parición.

Adaptado de García Paloma y col. 1992

**Cuadro 3.** Margen bruto, en kg de ternero producidos, con servicios de diferente duración (calculado sobre 100 animales en servicio).

Duración del servicio (meses)	2	5
Terneros destetados	92	78
Edad de destete (días)	253	229
Ganancia diaria (grs)	750	700
Peso al destete (kgs)	244	230
Kgs destetados	22450	17940
Costos adicionales (en kgs)	1314	-----
Margen bruto (en kgs)	21136	17940

Diferencia de margen bruto entre servicios +18%

Adaptado de Wiltbank 1985

**Cuadro 4.** Estimación de la productividad de dos rodeos sometidos a duraciones de servicio de 90 y 50 días (calculado sobre 100 animales en servicio).

<b>DURACIÓN DEL SERVICIO (DÍAS)</b>	<b>90</b>	<b>50</b>
Preñez en un día (%)	1.5	50
Preñez en 25 días (%)	40	80
Preñez final (%)	90	94
Peso de los terneros al destete (kg)	165	187
Kg totales producidos	14850	17578
Diferencia		<b>18%</b>
Costo adicional en kg		1500
Margen bruto en kg	14850	16078
Diferencia final		<b>8.3%</b>

Butler y Alberio 1997

**Cuadro 5.** Estimación de la productividad de la cola de parición de un rodeo en caso de utilizarse inducción/sincronización de celos e IATF (calculado sobre 100 animales en servicio).

<b>DURACIÓN DEL SERVICIO (DÍAS)</b>	<b>30</b>	<b>30</b>
Preñez en un día (%)	1.5	50
Preñez en 30 días (preñez final) (%)	60	90
Peso de los terneros al destete (kg)	135	155
Kg totales producidos	8100	14000
Diferencia		<b>72%</b>
Costo adicional en kg		1500
Margen bruto en kg	8100	12500
Diferencia final		<b>54%</b>

Butler y Alberio 1997



**Cuadro 5.** Estrategias de uso de la Prostaglandina (PGF).

		Dosis de		Preñez (%)	
		PGF	Semen	IAS	30 días
PGF	PGF IAS				
1-  -----	0 11 14-15	200	200	60	80
PGF	PGF IAS				
2-  -----	0 11 14	200	100	48	75
3- ----- -----	DC + IA 0 5 10	75	100	60	80

DC: detección de celo. IA: inseminación artificial.  
IAS: inseminación artificial sistemática.

**Cuadro 6.** Respuesta a un tratamiento con prostaglandina en función de la tasa de celo diario previo al mismo.

Celo diario pretratamiento (%)	Celo postratamiento (%)
2	38
3	57
4	76
5	96

Torquatti y col. 1983

**Cuadro 7.** Respuesta a tratamiento con prostaglandina realizada con diferentes productos utilizando la estrategia 3 mencionada en el Cuadro 4.

Producto	Celo en 5 días (%)	Celo promedio (%) - Distribución en días					Preñez en 60 días (%)
		1	2	3	4	5	
1	90						
2	85						
3	87						
4	77	7	54	22	10	7	89
5	75						
6	88						
Control	10						90

**Cuadro 8.** Tasa de preñez en 25 días de servicio en hembras con celo sincronizado con media dosis de prostaglandina (PGF).

Categoría	n	Preñez en 25 días (%)
Vacas sin ternero	1694	90.7
Vaquillonas 15 meses	2296	85.7

Adaptado de Butler y Marcantonio 1991

**Cuadro 9.** Síntesis de resultados de performance reproductiva después de tratamientos con progestágenos o progesterona en vacas con cría.

	Tasa de Preñez (%)			
	Información local		Información Europa-USA	
	IAS	30 días	IAS	30 días
Progesterona	35-40	73	40-55	80
Progestágenos	30-35	65	40-65	75



**Cuadro 10.** Resultados obtenidos por Sincrovac SH durante dos años de trabajo aplicando uno de los tratamientos actualmente usados para inducir y sincronizar celos

Año	n	Vacas	n	Vaquillos de 15 meses
		Preñez (%)		Preñez (%)
1	2875	51.2	2670	57.4
2	1904	53.3	1898	51.5
TOTAL	4779	52.1	4568	55.0

**Cuadro 10.** Productividad de vacas en las que se ha incorporado la obtención de mellizos por medio de la transferencia de embriones producidos *in vivo*

Embriones obtenidos por superovulación (alto costo)

**Resultados obtenidos**

Preñez 1er servicio (%)	Preñez con mell (%)	Melli/Total (%)	Terneros/total (%)
60	47	28	89

(Adaptado de Gordon, 1994)

**Cuadro 11.** Porcentaje de preñez y preñez de mellizos con diferentes tipos de embriones (resultados internacionales)

TIPO DE EMBRION	RECEPTORAS	PREÑEZ (%)	MELLIZOS (% sobre preñadas)
<i>In vivo</i> fresco	949	68	12
<i>In vivo</i> congelado	254	49	38
<i>In vitro</i> fresco	478	59	42
<i>In vitro</i> congelado	132	49	48

Autores varios. Citados en Aller y col. 1998

**Cuadro 12.** Porcentaje de preñez y preñez de mellizos con diferentes tipos de embriones (resultados nacionales)

TIPO DE EMBRION	RECEPTORAS	PREÑEZ	MELLIZOS (% sobre preñadas)
PIV fresco	26	46.1	41.7
PIV congelado	20	50.0	50.0

Alberio y Aller, 1997

**Cuadro 13.** Pesos (\$) producidos por vaca cuando se compara un rodeo con mellizos en diferentes proporciones en relación con un rodeo de excelente manejo tradicional.

Eficiencia	Pesos por kg de ternero		
	0,85	1,0	1,1
	<b>SERVICIO con MELLIZOS</b>		
30%	142 (10%)	173 (14%)	194 (16%)
40%	145 (12%)	177 (16%)	199 (19%)
50%	150 (16%)	184 (21%)	207 (24%)

**SERVICIO CLASICO**

129                  152                  167

**Supuesto: Peso de destete similar en ambos sistemas**

**Cuadro 14.** Eficiencia de la producción in vitro de embriones a partir de vacas ovariectomizadas.

Nº de vacas ovariectomizadas	Nº de ovarios Obtenidos	Nº de embriones Congelados (%)	Nº de embriones/vaca
197	391	888	4.5

Aller, Alberio y Palma. 2000

**Cuadro 15.** Tasa de gestación con embriones producidos in vitro congelados o no congelados

Tipo de embrión	Embriones/receptora	Vacas transferidas	Vacas preñadas (%)
Transportado en fresco	1	67	40 (59.7)
Congelado/descongelado	1	42	25 (59.5)
Y cultivado 12 hs			
Congelado y Transferencia directa	2	119	41 (34.5)
<b>TOTAL</b>		<b>228</b>	<b>106 (46.5)</b>

Aller, Alberio y Palma. 2000

## Bibliografía Consultada

- Alberio R.H. 1983. Rev. Arg. Prod. Anim. 1:1-32
- Alberio R.H., Butler H., Schiersmann G., Tortonese D. y Torquatti O. 1985. Rev.Arg.Prod.Anim. 5:467
- Alberio R.H., Schiersmann G., Carou N. and Mestre E. 1987. Anim. Reprod. Sci. 6:81
- Alberio R.H., Schiersmann G., Palma G., Butler H., Algorta D. y Ortiz A. 1985. Rev. Arg. Prod. Anim. 5:467
- Alberio R.H., Aller J.F. 1997 Rev. Arg. Prod. Animal 17:157-165
- Alberio, R. H y Aller, J.F. 1997. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 17, Nº 2, 157-165.
- Alberio, R.H., Aller, J.F. y Alberio, R. 1998. Revista CABIA, Nº 134: 28-37.
- Alberio, R.H., Aller, J., Crespo, P. and Palma, G. A. 1998. 14th Scientific Meeting, Association Europeenne de Transfert Embryonnaire (AETE), Venice, Italy, pag 116.
- Aller J.; Alberio J. 1997. Proceed. 13<sup>th</sup> Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association, Lyon, Francia pag 128.
- Aller J., Alberio R.H. y Alberio R. 1998. Therios 27:39-46
- Aller, J.F., Alberio, R.H. y Palma, G. 2000. Arch. Med. Vet. XXXII, Nº 1, 33-39.
- Aller, J.F., Alberio, R.H. y Palma, G. 1999. III Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina., p 205.
- Aller, J., Alberio, R.H., Iudica, C., Kaiser, G. y Palma, G.A. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18, Sup 1: 346-347.
- Aller, J., Alberio, R.H., Iudica, C. y Kaiser, G. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 18, Sup. 1: 347-348.
- Almeida da Rosa N. y Martins Real C. 1979. Boletín Técnico UFRGS. Porto Alegre. Brasil
- Bellows R.A., Short R.E, Urick J.J. y Pahnish O.F. 1974. J. Anim. Sci. 39:589
- Bonavera J., Schiersmann G., Alberio R. and Mestre J. 1990. Anim. Prod. 50:202
- Brooks A.N., Haynes N.B., Yang K. and Lamming G.E. 1986. J. Reprod. Fert. 76:709
- Burns P.D. and Spitzer J. 1992. J. Anim. Sci. 70:358
- Burris M. and Priode B. 1958. J. Anim. Sci. 15:527
- Butler H. Y Alberio R.H. 1997. Boletín Técnico Boehringer Ingelheim
- Butler H., Alberio R., Schiersmann G., Torquatti O. y Barragán M. 1985. Rev.Arg.Prod.Anim. 5:473
- Butler H. y Marcantonio S. 1991. CABIA 23:40
- Butler H., Torquatti O., Sasso O. y Barragán M. 1985. CADIA 7:54
- Callejas S., Alberio R., Doray J., Schiersmann G. y Torquatti O. 1989. Rev. Arg. Prod. Anim. 9(supl. 1):95
- Carruthers T.D., Convey E.M., Kesner J.S., Hafs H.D. and Cheng K.W. 1980. J. Anim. Sci. 51:949
- Chamley W., Buckmaster J., Cain M., Cerini J., Cerini M., Cunningham I. and Goding J. 1972. J.Endocrinol 55:253
- Chupin D., Petit M. et Mauleón P. 1971. Bull. Tech. Inf. 27/2/71:1
- Cooper M. 1974. Vet. Record 95:200
- Doray, J., Burges, J., Callejas, S., Schiersmann, G., Torquati, O., Butler, H., Alberio, R. 1996. Archivos de Med. Veterinaria (Chile), 24 (1): 63-68
- Douglas R. and Ghinther O. 1973. J. Anim. Sci. 37:990
- Fanning M., Spitzer J., Burns G. and Plyler B. 1992. J. Anim. Sci. 70:1352
- Ferre, L., Kaiser, G., Filgueiras Risso, J., Aller, J. y Alberio, R. H. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 18, Sup. 1: 343-344.
- Ferre, L.; Kaiser, G.; Iudica, C. y Alberio, R.H. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18, Sup 1: 344-345.
- Fortin M.R. 1989. CABIA 15:20
- García Paloma J., Alberio R., Miquel M., Grondona M., Carrillo J. and Schiersmann G. 1992. Animal Production 55:177-184
- García Winder M., Lewis P., Deaver D., Smith V., Lewis G. and Inskeep K. 1986. J. Anim. Sci. 62:1353
- Goto K., Kajihara Y., Kosaka S., Koba M., Nakanishi Y. And Ogawa K. 1988. Theriogenology 29:251
- Hafez E.S. 1987. En "Reproducción e inseminación artificial en animales" . Hafez ed. pp 116-141
- Hansel W. and Beal W. 1978. En "Animal Production". Allenheld, Osmun and Co. pp 91
- Iudica C., Cesari A., Aller J., Alberio R.H. 1998. Rev. Arg. Prod. Animal 18:193-199

- Iudica, C.; Kaiser, G.; Alberio, R.H. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol 18, Sup 1: 346-347.
- Kalra S.P. and Kalra P.S. 1984. Neuroendocrinology 38:418
- Kiser T., Dunlap S., Benyshek L. and Mares S. 1980. Theriogenology 13:381
- Laster D.B., Glimp H.A. and Gregory K.E. 1973. J. Anim. Sci. 36:734
- Leismester J., Burfening P. and Blackwell R. 1973. J. Anim. Sci. 36:1
- Macmillan K. 1983. N. Z. Vet. J. 31:110
- Marcantonio S. y de la Sota L. 2000. Manual Técnico de Intervet Bovsynch.
- Martin E., Oldham C., Cognié Y. and Pearce D. 1986. Liv. Prod. Sci. 15:219
- McVey W.R., Jr. and Williams G.L. 1989. Theriogenology 32:969
- Monge A., Alberio R., Schiersmann G., Chedrese J., Carou N. and Callejas S. 1992. Anim. Reprod. Sci. 29:147-158
- Monge A., Galli H. y Hofer C. 1975. Prod. Anim. 5:142
- Palma, G., Aller, J.F. and Alberio, R.H. 1999. Theriogenology 51: 390
- Palma, G.; Olivier, N.; Alberio, R.H.; Aller, J. y Brem, G. 1998. Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 18, Sup. 1: 349-350.
- Palma, G.A., Olivier, N., Alberio, R.H., Aller, J. and Brem, G. 1998. Theriogenology 49:213.
- Palma, G.A., Olivier, N., Alberio, R.H., Aller, J. Brem, G. 1998. 14th Scientific Meeting, Association Europeenne de Transfert Embryonnaire (AETE), Venice, Italy, 228.
- Peters A.R. and Lamming G.E. 1984. Br. Vet. J. 140:269
- Peters A.R. and Riley G.M. 1982. En "Factors influencing fertility in the postpartum cow". pp 225-228. Karg y Schalleberger eds. Martinus Nijhoff.
- Polge C. and Rowson L. 1952. Nature, CLXIX: 626
- Posey J. and Smart L. 1979. Anim. Bred. Abstract 47:175
- Pratt S., Spitzer J., Burns G. and Plyler B. 1991. J. Anim. Sci. 69:2721
- Quintero, R., Callejas, S., Aller, J., Kaiser, G., R.H. Alberio. 2000. 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction. Stockolm, Sweden 2:67
- Ramirez Godinez J. Kiracofe G., Schalles R. and Niswender G. 1982. J. Anim. Sci. 55:153
- Rayos A., Abalos J., Cruz S. and Kanagawa H. 1990. Theriogenology 34:511
- Scenna, C., Corraro, G., Mestre, J. Alberio, R. 1995. Rev. Arg. Prod. Anim. 14:75-83.
- Shively T.E. y Williams G.L. 1989. Domest. Anim. Endocr. 6:379
- Signoret J. 1990. En "Reproductive Physiology of Merino Sheep" Oldham, Martin and Purvis eds. pp 59-70
- Smith P., Boland M. and Gordon I. 1978. J. Agric. Sci. 91:511
- Spitzer J.C., Jones D.L., Miksch E.D. and Wiltbank J.N. 1978. Theriogenology 10:223
- Torquatti O., Barragán M. y Alberio R. 1983. Prod. Anim. 10:481
- Troxel T.R., Kesler D.J., Noble R.C. and Carlin S.E. 1980. J. Anim. Sci. 51:652
- Walters D.L., Smith L.F., Harms P.G. and Wiltbank F.J. 1982. Theriogenology 18:349
- Williams G.L. 1990. J. Anim. Sci. 68:831
- Williams G.L., Kozirowsky M., Osborn R., Kirsch J. and Slinger W.W. 1987. Biol. Reprod. 36:1079
- Wiltbank J. 1985. Ann. Conf. A.I. and Embryo Transfer in beef cattle. pp 12-27
- Woody C., First N. and Pope A. 1967. J. Anim. Sci. 26:139
- Zalesky D., Day M., García-Winder M., Imakawa K., Kittok R., D'Occio M. and Kinder J. 1984. J. Anim. Sci. 59:1135