



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)

**COMPARACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE
SINCRONIZACIÓN PARA IATF EN VACAS DE
CARNE CON CRÍA AL PIE EN EL NORTE DE
SANTA FE**

Juan Antonio Ittig

Trabajo Final

Para optar al Grado Académico de
Especialista en Reproducción Bovina

CORDOBA – 2020

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCION	5
2.1 HIPOTESIS DEL TRABAJO	17
2.2 OBJETIVOS GENERALES	17
2.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
3. MATERIALES Y METODOS	17
3.1 ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO (RESEÑA)	17
3.2 DESCRIPCION DEL CASO	19
3.3 TRATAMIENTOS	21
4. RESULTADOS	22
5. DISCUSIÓN	24
6. CONCLUSION	33
7. BIBLIOGRAFIA	35
8. ANEXOS	45

1. RESUMEN

En el presente trabajo se comparó el porcentaje de preñez de dos tratamientos de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas de carne cruzas con cría al pie en el Norte de Santa Fe, mantenidas en potreros lindantes de pastura natural, suplementadas con semilla de algodón desde el parto. Todas vacas multíparas, las cuales se dividieron al azar en dos grupos. Al grupo “J-Synch” (n 101), se le realizó un protocolo de sincronización de Proestro prolongado J-Synch Modificado de 7 días, con la finalidad de comprobar si la prolongación del proestro sería beneficioso en los resultados de preñez, y al grupo “Convencional” (n 103) un protocolo Convencional de 8 días. Ambos tratamientos se iniciaron el mismo día y de la misma forma, con la aplicación de 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) y la introducción de 1 Dispositivo Intravaginal Bovino (DIB) impregnado con 0,5 g de Progesterona el día 0. En el Día 7, se les retiró el dispositivo al grupo “J-Synch Modificado” y se administró 500 µg de Cloprostenol Sódico y 400 UI de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) y las vacas fueron pintadas sobre la zona sacrocoxigea para la detección de celo por pérdida de pintura. Mientras que al grupo “Convencional” se le retiró el DIB el día 8 y se le aplicó 500 µg de Cloprostenol Sódico, 400 U.I. de eCG y 0.5 mg de Cipionato de Estradiol (ECP), y también se le pintó la base de la cola. El día 10 (72 hs posteriores al retiro del DIB en el grupo J-Synch modificado y 48 hs en el grupo Convencional) todas las vacas fueron IATF con semen del mismo toro, recibiendo en el mismo momento 100 µg de Gonaroledina Acetato (GnRH) aquellas que no presentaron celo. Luego de la IATF cada lote regresó a su potrero y el día 25 de iniciado los tratamientos se inició el repaso con toros (3%) hasta el día 100. El porcentaje de preñez por IATF a los 30 días post IA para el grupo J-Synch modificado fue del 41 %, mientras que el lote Convencional obtuvo un 23 %, y el porcentaje final con repaso de toros fue 84 % y 77 % respectivamente. Se puede concluir que el resultado del grupo J-Synch modificado es alentador, dado que el porcentaje de preñez es aceptable. En lo que respecta al grupo Convencional, el resultado de preñez fue menor al esperado. Como variable imprevista, en el potrero del grupo Convencional, crecieron plantas de *Melilotus Alba* (trébol de olor blanco), de banco de semillas del año anterior, en el que se había sembrado. Debido a la evidente diferencia de resultados entre tratamientos, se realizó una minuciosa revisión de

factores que pudieron haber interferido en los resultados, concluyendo que la causa más probable de la baja tasa de preñez en el grupo Convencional, podría deberse a la presencia de Fitoestrogenos en las plantas de Melilotus Alba.

Palabras claves: J-synch 7 días, Semilla de Algodón, IATF, Preñez, Melilotus Alba.

2. INTRODUCCIÓN

El aumento progresivo de la implementación de programas de Inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en los últimos años, ha brindado numerosas ventajas a la industria bovina de carne y leche. La posibilidad de preñar muchos animales en un mismo día, incorporar alta calidad genética a un rodeo, reducir temporadas de servicios, o evitar la detección de celo, ha provocado en el área reproductiva, el desarrollo constante de variados tratamientos para la sincronización de celos y la ovulación (Bó et al., 2005; Baruselli et al., 2015).

Si bien a nivel mundial no es posible utilizar sales de estradiol, en Argentina el protocolo más usado (“protocolo convencional”) es en base a progestágenos y estradiol, con el que se obtienen resultados aproximados al 50% de preñez (en un rango del 27 al 70%; Cutaia et al., 2003).

Diversos estudios se han realizado con el fin de mejorar la fertilidad y las tasas de concepción en los protocolos de IATF, y una de las hipótesis planteadas, fue que el diámetro del folículo pre-ovulatorio, era el indicador más adecuado de la madurez del folículo. Aunque esta hipótesis fue confirmada por ciertos experimentos, el factor más importante para predecir la tasa de preñez es la duración del intervalo entre el inicio de la regresión del cuerpo lúteo y el pico de LH, es decir el período comprendido desde la administración de la prostaglandina hasta la presentación del celo y posterior ovulación; dentro del ciclo estral, este período es referido como proestro (Mussard et al., 2003; 2007, Bridges et al., 2010).

En los últimos años, se han desarrollado tratamientos con el propósito de modificar la duración del proestro, los cuales se basan en alargar éste intervalo de 48hs/54hs (como es en el tratamiento convencional) o 50hs/66hs (como es en el protocolo CoSynch + CIDR 7 días) a 72hs. La idea se fundamenta en que proestros más largos existe un mejor desarrollo del folículo pre ovulatorio, mayor tamaño de este folículo, altos niveles de estradiol, mejor preparación del ambiente uterino, y concentraciones superiores de progesterona por producción del cuerpo lúteo en el ciclo subsiguiente (Bridges et al., 2010).

El tratamiento CO-Synch + CIDR 5 días fue el primer protocolo desarrollado con esta lógica en los Estados Unidos, y el promedio de la tasa de preñez alcanzada con este programa fue mayor al 60% en estudios realizados en 23 establecimientos de 3 estados diferentes. Es decir, se mejoran las tasas de preñez en un 10% aproximadamente, en vaquillonas de carne en comparación con el CO-Synch + CIDR 7d (Bridges et al., 2008).

En éste tratamiento, la aplicación de una dosis de GnRH en el momento de la inserción del dispositivo con progesterona, resulta en la luteinización u ovulación de los folículos según su tamaño, y posterior emergencia de una nueva onda (Thatcher et al., 1989, Macmillan and Thatcher, 1991, Twagiramungu et al., 1994; 1995). La eficiencia de esta GnRH, varía de acuerdo al animal (vaca o vaquillona) y al estado del ciclo estral en el que se encuentre (Pursley et al., 1995, Atkins et al., 2008), alcanzando un 60% de respuesta (Geary et al., 2000).

Por otro lado, en el protocolo CO-Synch + CIDR 5d al disminuir a 5 días el intervalo entre la aplicación de la primer dosis de GnRH y la inyección de PGF2a, existe la posibilidad de que aquellos cuerpos lúteos accesorios (producto de la respuesta ovulatoria a la primer dosis de GnRH), no regresen y por esta razón se deben aplicar 2 dosis de PGF2a para conseguirlo (Kasimanickam et al., 2009, Souto et al., 2009).

En 2012, se desarrolló un nuevo tratamiento denominado “J-Synch” (de la Mata y Bó, 2012), en el que por primera vez se adoptó la idea de generar un proestro prolongado, similar al del Co-Synch, pero utilizando progestágenos y estradiol para sincronizar la onda folicular, como en el tratamiento convencional.

Se sabe que el uso de progestágenos y estradiol sincroniza la emergencia de una nueva onda de crecimiento folicular al inicio de un tratamiento, obteniendo más del 90% de animales que responden, generando una regresión folicular sin ovulaciones y la emergencia de una nueva onda en el día 3 a 5 desde la administración (Bó et al., 1995a; b; Caccia y Bó, 1998; Martinez et al., 2000).

El protocolo J-Synch, utiliza BE y progesterona por un período reducido de tiempo (6 días), reduciendo de esta manera el período de dominancia, y GnRH como inductor de la

ovulación a las 72 h, promoviendo un proestro prolongado. Los resultados demostraron que el protocolo J-Synch es un tratamiento eficiente para sincronizar la ovulación en vaquillonas para carne de manera similar al protocolo Co-Synch de 5 días (De la Mata y Bó 2012; Ré et al., 2014; De la Mata et al., 2015; Bó et al., 2016; Menchaca et al., 2017). En este protocolo no es necesaria la aplicación de dos dosis de PGF2a ya que al iniciar el tratamiento con estradiol y progesterona, no se generan cuerpos lúteos accesorios.

El éxito de este protocolo radica en una mayor producción de estradiol por parte del folículo ovulatorio, mayor tasa de crecimiento diaria de éste (más tiempo creciendo sin presencia de progesterona), y un efecto beneficioso sobre la actividad luteal (mayores concentraciones de progesterona y cuerpo lúteo de mayor tamaño), en comparación con el protocolo convencional de 7 u 8 días (Menchaca et al., 2017).

Con el J-Synch se han obtenido resultados cercanos al 60% de preñez en vaquillonas, que demuestran una mejora en la tasas de concepción en programas de IATF (de la Mata et al., 2015; Bó et al., 2016; Ré et al., 2014), y en receptoras de embriones, (de la Mata et al., 2013; Menchaca et al., 2015) en comparación con los protocolos con un proestro corto.

Dicho protocolo, comenzó utilizándose en vaquillas (De la Mata et al., 2015), luego se probó en vacas secas, en vacas con destete precoz y actualmente está siendo probado en vacas con cría al pie, categoría que implica un desafío superior a la hora de preñarlas, dado que normalmente la mayoría se encuentra en anestro.

La duración del anestro pos parto está influenciada por numerosas variables, de las cuales la nutrición es una de las más importantes. Por lo tanto, el manejo nutricional debería estar enfocado en lograr una condición corporal (CC) óptima para cada momento del ciclo reproductivo. Según mediciones de INTA Colonia Benitez, Chaco, no debería ser inferior a 5 al momento del parto (escala del 1 al 9) y debería ser superior a 3 al inicio del servicio (Stahinger, R, 2003). Una baja CC en el parto tiene mayor efecto negativo que pérdidas de CC después del parto o después de la concepción. Si las vacas paren en una condición excelente o moderada (CC 6-7), a menudo pueden preñarse lo suficientemente temprano como para soportar los cambios nutricionales de la lactancia (Tríbulo et al., 2006). De esta forma, el rodeo debe ser manejado para recuperar CC durante el periodo seco y antes del

parto. Alternativamente, se puede ejercer un efecto positivo sobre la performance reproductiva si la vaca pare en una CC menor que el óptimo dándole de comer para que gane peso y condición después del parto. Sin embargo esto no es un manejo muy económico ya que una gran cantidad de nutrientes serán usados en la producción de leche, en detrimento de la reproducción. Por lo tanto es mejor hacer parir las vacas en buena CC y luego usar una estrategia de suplementación con proteínas para aumentar la incorporación y digestión de forrajes de baja y media calidad para mantener la CC. El uso de suplementos con alto contenido de grasas para estimular el desarrollo folicular también puede mejorar marcadamente la performance reproductiva del posparto, particularmente en vacas en condición moderada o flaca (Randel 1990).

En el norte de la Provincia de Santa Fe, los campos son heterogéneos tanto edafológicamente como climatológicamente, con predominio de suelos de mediana a baja calidad, pobres en fosforo (noreste), especialmente Argiudoles típicos (franco arcillosos) Natracualf típico (arsillosos) y el promedio anual de lluvias es de 1200 mm, distribuidos principalmente en primavera y otoño, lo que determina dos curvas forrajeras bien diferenciadas con un bache invernal pronunciado que coincide con el momento de los partos y/o el principio del servicio. Para cubrir ese bache alimenticio, en dicha zona, se suele sembrar *Melilotus alba*, que es una leguminosa que crece y genera su mayor producción forrajera en el momento coincidente con ese bache. El consumo melilotus por parte de los bovinos, tiene una serie de limitaciones que se analizan más adelante. También se utiliza suplementación estratégica con granos y/o subproductos, siendo la Semilla de Algodón la alternativa más comúnmente usada debido a su disponibilidad en la zona y su bajo costo en comparación con otros alimentos. Al respecto cabe mencionar que este subproducto presenta limitaciones para su uso. Una de ellas es la cantidad de aceites que contiene la semilla y otra es que suele contener gossipol, un compuesto tóxico que podría afectar la fertilidad.

SEMILLA DE ALGODÓN:

La semilla entera de algodón es un recurso abundante y de bajo costo para la alimentación de bovinos en el NEA y constituye una fuente proteica y energética competitiva para bovinos para carne en pastoreo. El valor nutritivo de la semilla entera de algodón (SA)

en base seca es de 23,9% de proteína bruta (PB), 23,1% de extracto etéreo (lípidos), 3,47 Mcal de energía metabolizable (EM) y 39% de pared celular (fibra insoluble en detergente neutro, FDN), lo cual brinda las cualidades enunciadas, (Balbuena y Kucseva, et al., 2013).

La planta de algodón posee glándulas pigmentarias en las hojas, tallos, raíces y semillas, pero principalmente en las dos últimas. El pigmento más abundante en estas glándulas es el gossypol (aldehído polifenólico). El contenido de gossypol presente en la semilla y sus subproductos depende de la variedad de la planta de algodón, la temperatura y lluvias durante la época de crecimiento (Stahringer et al., 2003).

El gossypol es una sustancia tóxica producida por la planta de algodón como mecanismo de defensa contra insectos. Se caracteriza por reaccionar con ciertos aminoácidos (especialmente lisina) disminuyendo la disponibilidad de los mismos. Además, el gossypol tiene propiedades oxidantes que podrían causar daños en los tejidos del animal. Por último, puede ligarse al hierro (un componente estructural de la hemoglobina) disminuyendo su disponibilidad (Ferreira G. 2006).

El grado de toxicidad de la semilla o de la torta de algodón depende de varios factores que interactúan entre sí, como la edad, raza y especie del animal, método de extracción de aceite, contenido de gossypol de la planta, cantidad ingerida y duración del período de ingestión (Stahringer et al. 2003).

Los rumiantes adultos son capaces de detoxificar una determinada cantidad de gossypol. El método de detoxificación del rumen no depende de la flora microbiana presente en él, sino del ambiente fermentativo que lo caracteriza. La detoxificación del gossypol libre se realiza a través de la unión química del gossypol a proteínas solubles presentes en el rumen. Esta unión es permanente durante la digestión proteica postruminal. Se ha observado que el rumen puede ser sobrepasado por un exceso de gossypol libre en la dieta y/o escasez de proteína para unirse con el gossypol libre (Stahringer et al. 2003).

Otro componente importante que tuvo la dieta del lote B fue el *Mellilotus alba*, nacido por resiembra natural, ya que en dicho potrero el año anterior se había utilizado esta pastura.

MELLILOTUS ALBA:

El trébol de olor blanco, también llamado “melilotus blanco” o “melilotus alba”, es una leguminosa (Fabaceae) herbácea de ciclo anual o bianual, de fácil resiembra y alta calidad forrajera que se adapta a diversas condiciones edáficas y ambientales que se destaca por su rusticidad a ambientes marginales (Lopez et al., 2016).

Es un recurso forrajero muy importante para la ganadería tropical y subtropical, de gran difusión en el centro y norte de la provincia de Santa Fe, principalmente en explotaciones ganaderas dedicadas a la producción de carne ya que contribuye a cubrir el déficit de alimentación invernal. Se la puede sembrar pura o asociada con gramíneas anuales como avena y raigrás.

El Mellilotus alba (trébol de olor blanco), aporta gran cantidad de materia seca (MS) con altos niveles de proteína bruta (PB) en la salida del invierno. Si bien su uso está masificado, existen ciertos factores que limitan su aprovechamiento, ya que implican algunos riesgos metabólicos que interfieren en los sistemas productivos y/o reproductivos. Estos son: la presencia de cumarina, un compuesto natural que se sintetiza y que, por la acción de determinados hongos que intervienen en procesos de putrefacción, se transforma en dicumarol, un factor antinutricional con propiedades tóxicas, otra limitación es que en ciertas ocasiones dicha especie de leguminosa puede presentar exceso de molibdeno en su composición, lo cual interfiere en la homeostasis del cobre, provocando alteraciones relacionadas a la hipocuprosis, y también, menos frecuente, suele contener fitoestrógenos en su composición, dando como resultado baja concepción, lo que trae aparejado graves problemas económicos en el establecimiento.

Se han citado casos de trastornos clínicos y patológicos relacionados a bovinos consumiendo Melilotus alba, cuya etiología fue:

- a) - la presencia de Dicumarina (Dicumarol),
- b) - la elevada cantidad de Molibdeno,
- c) - la presencia de sustancias estrogénicas (Fitoestrogenos).

a) DICUMAROL:

El *Melilotus alba* posee como constituyente normal una sustancia denominada cumarina o cumarol, que bajo la acción de ciertos hongos que se desarrollan por efecto de la humedad la transforman en dicumarina o dicumarol, la cual posee acción anticoagulante, altamente tóxica (Perusia y Rodriguez, et al, 2017).

Esta transformación de cumarina (cumarol) en dicumarina (dicumarol) tiene lugar en el trébol henificado húmedo, ya que esta condición predispone al ataque de hongos de los géneros *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus* (Perusia y Rodriguez, et al. 2001).

Se caracteriza por producir una alteración en el sistema de coagulación (hemostasia) con las consecuentes hemorragias generalizadas determinando un síndrome purpúrico. (Perusia y Rodriguez, et al. 2001).

El Dicumarol, es un potente inhibidor de la Protrombina. La Protrombina facilita la coagulación de la sangre en caso de lesiones y su inhibición induce a hemorragias.

Las hemorragias, no pocas veces mortales, provocadas por el dicumarol se deben a que este inhibe en el hígado la formación de la protrombina, una enzima que interviene en la síntesis de la vitamina K (Deulofeu et al., 1969).

b) MOLIBDENO:

La hipocuprosis en bovinos a nivel reproductivo genera retraso en la involución uterina, abortos, repetición de servicios, celos silentes y retardo de la pubertad (Hernández, et al., 2016).

La deficiencia de cobre (Cu) en bovinos es un trastorno descrito mundialmente que ocasiona altas pérdidas económicas de ganado en pastoreo (García-Vaquero et al., 2011)

En los bovinos, la deficiencia de este metal puede ser de origen primario debido a un aporte insuficiente de este elemento en la dieta; secundario, dada la presencia de elementos antagonistas (Maxie et al., 2007); finalmente, se describe una forma terciaria en la que existe

falla en la actividad de metaloenzimas del cobre (Abba, 2000; Picco et al., 2012); no obstante, la deficiencia secundaria de este metal es la más frecuente (GarcíaVaquero et al., 2011).

El Cu es el microelemento que mayor número de antagonistas posee, entre ellos se destacan: molibdeno (Mo), hierro (Fe), azufre (S) y zinc (Zn) (Humphires et al., 1983; Polo, 1993; Gooneratne et al., 1997; Ramírez et al., 1997; Moeller, 2004; Torre et al., 2005; Maxie et al., 2007).

Al respecto, Olson (2007) describió que las deficiencias francas de cobre son poco comunes en los forrajes; en contraste, la presencia de minerales antagonistas del cobre son altos o marginalmente altos, por lo que concluye que los problemas causados por deficiencia de cobre son más comunes debido a la presencia de minerales antagonistas en la dieta, en lugar de dietas extremadamente bajas de cobre, describiendo al Mo como el principal metal antagonista del Cu.

La molibdenosis, también descrita como deficiencia secundaria de cobre (hipocuprosis secundaria), se debe a la reducción biológica de cobre por aumento de la ingestión de molibdeno (Majak et al., 2006). El mecanismo por el cual se presenta esta interferencia es principalmente en rumen, con la formación de compuestos entre el molibdeno y el cobre (thiomolibdatos), impidiendo su absorción (Polo, 1993; Maxie et al., 2007; McDonald et al., 2010).

En la Argentina el 90 al 95% de los casos clínicos de hipocuprosis bovina corresponden a una carencia condicionada debido al exceso de Molibdeno (Mo) y Sulfatos ($SO_4 =$) en pasturas y/ o agua de bebida (García Calderón et al., 1994).

El Mo ha sido el factor de interferencia más estudiado, posiblemente por ser el responsable de los cuadros más graves de hipocuprosis y los primeros en ser registrados (Phillippo, 1983; O`Dell, 1997) El Mo provoca su interferencia interactuando con el Azufre (S) ingerido, el cual se convierte a nivel ruminal en sulfuro, que al unirse al Mo forma tiomolibdatos (TMs).

Al respecto del mecanismo implicado con los trastornos reproductivos, Moussa et al. (2015) afirman que microminerales como zinc, cobre y manganeso desempeñan un papel esencial en la reproducción, en razón de que las bajas concentraciones de zinc y cobre durante la maduración in vitro induce a apoptosis y afecta a la integridad del ADN de las células cumulus, lo cual influencia negativamente el desarrollo de los oocitos bovinos. Según García et al. (2007), la deficiencia de cobre afecta la reproducción debido a que este elemento participa en la reducción del estrés oxidativo a nivel ovárico y en el mantenimiento de la secreción de gonadotropinas desde la hipófisis.

La suplementación del micro-elemento favorece los indicadores reproductivos y productivos del ganado; García et al. (2007) afirmaron que en bovinos suplementados con Cu se observó mayor número de celos, mejores tasas de servicio por concepción e incremento en los porcentajes de preñez. En relación con la administración del Cu, la vía oral es común para la suplementación; sin embargo, esta vía presenta limitaciones debido a la presencia de antagonistas como el molibdeno, que interfieren en la absorción y el metabolismo del Cu por lo que resulta menos efectiva y valiosa que la suplementación parenteral (Ahola et al., 2005).

c) SUSTANCIAS ESTROGÉNICAS: FITOESTROGENOS:

Los fitoestrogenos son compuestos producidos como metabolitos secundarios en algunas plantas y forrajes destinados al consumo humano y animal, cuya concentración varía en relación a las condiciones fisiológicas y ambientales, siendo las leguminosas las principales productoras. Su importancia radica en que cuando son consumidas pueden tener actividad endógena de forma agónica o antagónica con los estrógenos, produciendo principalmente síntomas de hiperestrogenismo, y consecuentemente alteraciones reproductivas. A pesar de que los fitoestrógenos afectan aparatos y sistemas de vital importancia como el renal, nervioso, cardiovascular entre otros; uno de los sistemas más afectados es el reproductivo, sin embargo, la literatura es controversial al respecto, demostrado efectos tanto carcinogénicos como anticarcinogénicos. El mecanismo de acción de los fitoestrógenos está mediado por la estimulación o inhibición de los receptores ERa y ERb que son propios de los estrógenos, por lo cual se consideran de importancia en los sistemas productivos y la

salud humana por alteraciones que puedan provocar sobre la fisiología reproductiva (Sanin et al., 2010).

A pesar que los fitoestrógenos afectan tanto a machos como hembras, desde el punto de vista zootécnico; es en estas últimas, donde su estudio cobra mayor importancia por las pérdidas económicas que pueden derivarse de su consumo. Sin embargo, existe controversia sobre los efectos reproductivos, especialmente cuando se comparan las especies animales con los humanos; en las primeras se demuestran efectos negativos sobre la reproducción, mientras que en los últimos se ha demostrado sus efectos tanto benéficos (prevención del cáncer, enfermedades cardíacas, sintomatología de la menopausia y osteoporosis; Adams, 1995; Boué et al., 2003; Chen et al., 2008) como nocivos (amenorrea, miomas endometriales, proliferación del epitelio uterino; Chandrareddy et al., 2008).

Los fitoestrógenos son producidos por algunas plantas y su concentración varía con relación a las condiciones fisiológicas y ambientales de producción de los forrajes. El consumo de fitoestrógenos y sus efectos se ha incrementado tanto en animales como humanos, debido al aumento en el uso de leguminosas en las bases de las dietas animales y en el incremento de la cultura vegetariana entre algunas poblaciones humanas (Romero et al., 1997).

Actualmente la problemática en los animales de producción radica en que el consumo de fitoestrógenos se asocia a alteraciones reproductivas, siendo en muchas ocasiones fenómenos subclínicos; lo cual conlleva a un diagnóstico difícil y a la perpetuación del problema en los hatos (Boué et al., 2003).

Los fitoestrogenos se caracterizan por tener actividad estrogenica en los animales y humanos. Estos son producidos por una amplia variedad de especies (se han reportado más de 300), sin embargo, las leguminosas son el grupo que los produce en mayor cantidad. Estas plantas los elaboran en respuesta a gran diversidad de variables y como mecanismo de defensa (Pike et al., 1999).

Los fitoestrógenos parecen tener un efecto sobre la fauna nociva de las plantas, sirven de protección a la radiación ultravioleta actuando como captadoras de radicales libres

potencialmente agresivos por su acción oxidante. Estos potentes antioxidantes vegetales también se han relacionado con la resistencia de ciertas plantas a determinadas infecciones bacterianas, víricas y micóticas y adicionalmente se relacionan con la regulación del crecimiento vegetal (Bonilla, 2004).

Químicamente los fitoestrógenos pertenecen a varias familias de compuestos, dentro de los cuales se encuentran los flavonoides, los isoflavonoides GEN, los coumestranos (coumestrol, COU), los lignanos (enterolactona) y los estilbenos (resveratrol), los cuales se encuentran en gran diversidad de pastos utilizados para la alimentación de animales en pastoreo o estabulación (Patisaul et al., 2001). En las leguminosas los más abundantes son las isoflavonas y los coumestranos (Adams, et al. 1995).

Una característica química importante para la actividad estrogénica es la posición de los grupos hidroxilos, los coumestranos tienen una estrogénicidad 1/1000 y las isoflavonas 1/10000 teniendo como referencia la actividad del 17 β -estradiol (Adams et al., 1995).

Dentro de la clasificación de los fitoestrógenos se encuentran las siguientes familias:

Flavonoides: El más potente de este grupo es la Naringenina. Se encuentra solamente en algunos árboles africanos como el *Monotes engleri*, teniendo afinidad principalmente por los receptores estrogénicos tipo α (ERA), los cuales cuando son estimulados alteran directamente la expresión génica, actuando posiblemente como un factor carcinogénico, como se ha estudiado en el modelo de células endometriales en ratas (Zierau et al., 2008).

Isoflavonoides: Los isoflavonoides de las leguminosas incluyen GEN y Daitseína, los cuales son los fitoestrógenos más estudiados. Estos pueden existir como glucosilados o como aglicones, los primeros son uno a tres veces más potentes que el estradiol; sin embargo son los aglicones los que más fácilmente son transportados y absorbidos a través del epitelio intestinal (Kuiper et al., 1998; Bonilla, 2004).

Lignanos: Algunas frutas pueden contener niveles bajos de lignanos, este término se asigna a varias clases de fenilpropanoides, los cuales a su vez pueden ser dímeros u oligómeros. Para ser absorbidos deben ser transformados en enterodiol o enterolactona por la flora microbiana del intestino en los mamíferos; estos compuestos son estrogénicamente activos (Glitso et al., 2000; Setchell et al., 1981).

Coumestanos: Muy pocos de estos compuestos muestran actividad estrogénica, a excepción del COU, el cual es ingerido como 4´metoxi coumestrol (forma inactiva). Está presente en brotes de soya y de trébol (Knuckles De Fremery y Kohler, 1976; Wang et al., 1990; Franke et al., 1994).

Estilbenos: Su síntesis al igual que en los flavonoides se da a partir de la vía fenilpropanoide acetato, el resvetratol es el isómero con mayor actividad estrogénica y se encuentra en la cáscara de las uvas (Gehm et al., 1997).

Se puede afirmar que los fitoestrógenos presentan una gran variedad en composición y naturaleza química, con una actividad biológica variable y dependiente de múltiples factores, haciéndolos compuestos de gran interés en investigaciones biomédicas y aplicadas tanto en medicina humana como animal (Sanin et al., 2010).

Plantas con Compuestos Fitoestrogénicos

El descubrimiento de los fitoestrógenos se remonta a los años 40, cuando se observó que las ovejas en pastoreo que consumían trébol rojo presentaban múltiples problemas reproductivos. Se encontró que estos tréboles contenían cantidades elevadas de isoflavonas, formononetina y biochanina A, que fueron los primeros fitoestrógenos descubiertos (Whitten, Patisaul y Young, 2002).

Se sabe que la mayoría de las leguminosas contienen fitoestrógenos, cuya concentración varía dependiendo de numerosos factores entre los cuales se encuentran variables como la temperatura, humedad, luminosidad, cantidad y tipo de abono empleado, presencia de hongos, edad de la planta, estado fisiológico, siendo éstos variables entre especies (Adams, 1995).

Una de las especies forrajeras (leguminosas) que se asocia a la presencia de fitoestrógenos es *Melilotus alba*. El fitoestrógeno mayormente encontrado en el *Melilotus alba* es el coumestrol, y en menor medida isoflavonas (Ramos et al., 1998).

2.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

La implementación de un protocolo de IATF que se caracteriza por la prolongación del proestro y la reducción del período de inserción del dispositivo con progesterona, denominado J-Synch, aumenta las tasas de preñez en vacas cruza para carne con cría al pie.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Comparar dos protocolos de sincronización para IATF en vacas cruce índica en el norte de la provincia de Santa Fe.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

*Comparar la tasa de preñez de un protocolo con proestro prolongado vs un protocolo convencional en vacas cruce índica en el norte de la provincia de Santa Fe.

* Evaluar la influencia de distintos factores que afectan los resultados de preñez por IATF y preñez final con repaso con toros.

*Determinar el porcentaje de expresión de celo en los protocolos Convencionales y en el tratamiento J-synch modificado sobre la tasa de preñez.

*Correlacionar el estatus ovárico de las vacas al momento de la IATF sobre la tasa de preñez.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 ANIMALES Y LUGAR DE TRABAJO

RESEÑA

El presente trabajo se realizó en el año 2019 en Reconquista, Departamento General Obligado, Santa Fe, en el Establecimiento: “El Ombú”, en el cual se realiza la cría y recría de bovinos en sistemas semi extensivos, donde predominan los pastizales naturales (90%) en

zonas de medias lomas y zonas inundables y en el cual se hacen muy pocas pasturas implantadas (10%) en las zonas de lomas, con precipitaciones anuales promedio de 1237 milímetros (mm) manteniendo una carga anual promedio de 0,51 EV/HA. Las vacas utilizadas (n=204) son de la raza Bradford, con cría al pie, multíparas, con más de 60 días de paridas, frame 4, de peso promedio de 440 kg, condición corporal (CC) promedio de 5 (escala 1-9), con diferentes estatus ováricos. Las mismas, fueron separadas al azar para conformar dos grupos, J-Synch modificado de 7 días y Convencional de 8 días. Cada lote fue asignado a un potrero diferente, pero lindantes al finalizar las pariciones. Para el control del estatus ovárico previo al servicio como para el diagnóstico de gestación se utilizó un Ecógrafo EMPEROR MEDICAL®, modelo N2 y para el análisis estadístico se utilizó el software Infostat® 2011 (FCA-UNC), comparándose los resultados de preñez mediante la prueba de Chi cuadrado, a través de la confección de Tablas de Contingencia.

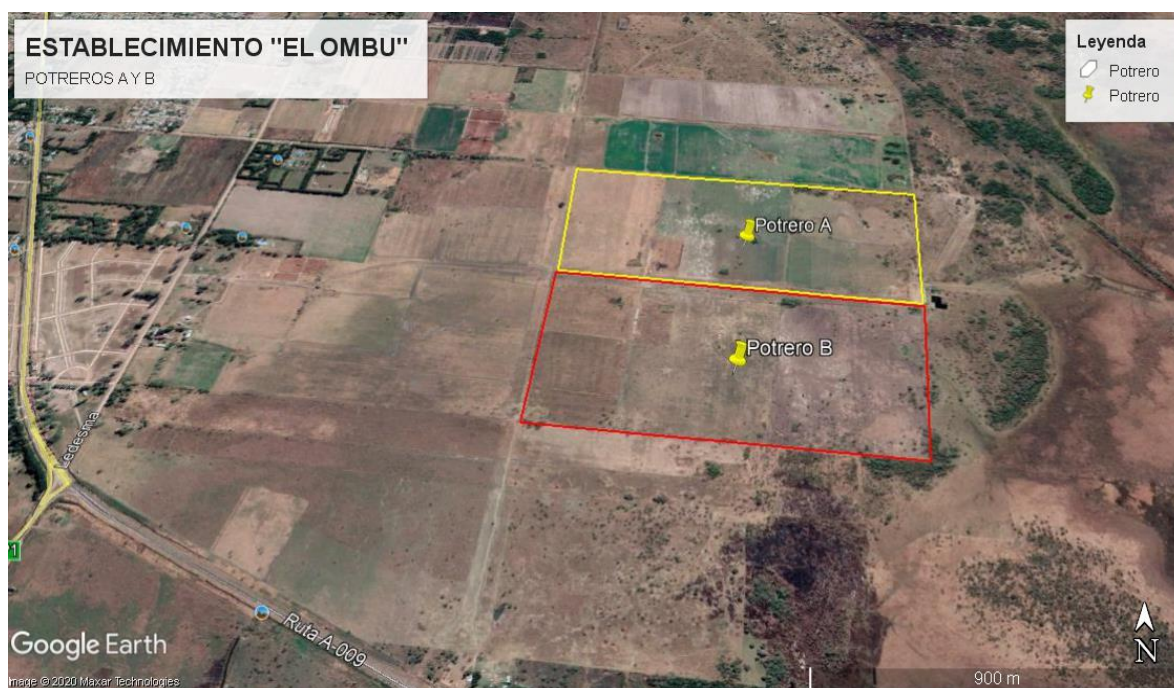


Figura 1. Croquis y ubicación de los Potreros asignados como J-Synch (Letra “A”) y Convencional (Letra “B”), correspondientes a los grupos de tratamientos J-Synch y Convencional respectivamente. Establecimiento “El Ombu”, Reconquista, Santa Fe. Imagen satelital (Google Earth Pro).

Selección de las Vacas para el trabajo: Las vacas fueron seleccionadas por ser cabeza de parición, donde el lote total para el trabajo quedo formado inicialmente por 226 vacas con cría al pie. Todas paridas desde el 1 de julio al 31 del mismo mes. Al dividir las al azar, quedaron formados originalmente los 2 grupos (J-Synch y Convencional) por 113 vacas cada uno por igual (226 vacas totales aptas). Luego, previo al control ginecológico pre IATF, se las volvió a seleccionar por tener una CC promedio de 5 (escala 1-9, con un rango de aceptación de 4,5-5,5), donde se descartan 15 vacas por mala CC y 2 vacas por muy buena CC (quedando 209 vacas totales aptas). En el control ginecológico, se chequeo el status ovárico y la normalidad anatómica del sistema reproductor, además, se realizó una inspección general de las vacas, para descartar cualquier anomalía visible, prestando especial atención a la conformación de las glándulas mamarias, y observando además, el desplazamiento de las vacas, para eliminar animales con anomalías o claudicaciones que podrían dificultar en posterior el desplazamiento del animal preñado. Se descartaron 2 vacas, una por tener el cérvix (cuello uterino) de conformación anatómica no deseable, con una flexura exagerada en su porción media, y otra por endometritis. El control ginecológico, como se mencionó anteriormente se realizó mediante ecografía. Habiendo quedado 207 vacas totales aptas luego de la tercera selección, surgió una variable imprevista (extraordinaria) no tenida en cuenta, que fue la muerte de 3 terneros, por lo que a dichas vacas, madres de los terneros muertos, no se las incluyo en ninguno de los grupos, dado que no sería una comparación valida por dicha diferencia. Quedando conformado el lote total final por 204 vacas aptas.

3.2 DESCRIPCIÓN DEL CASO

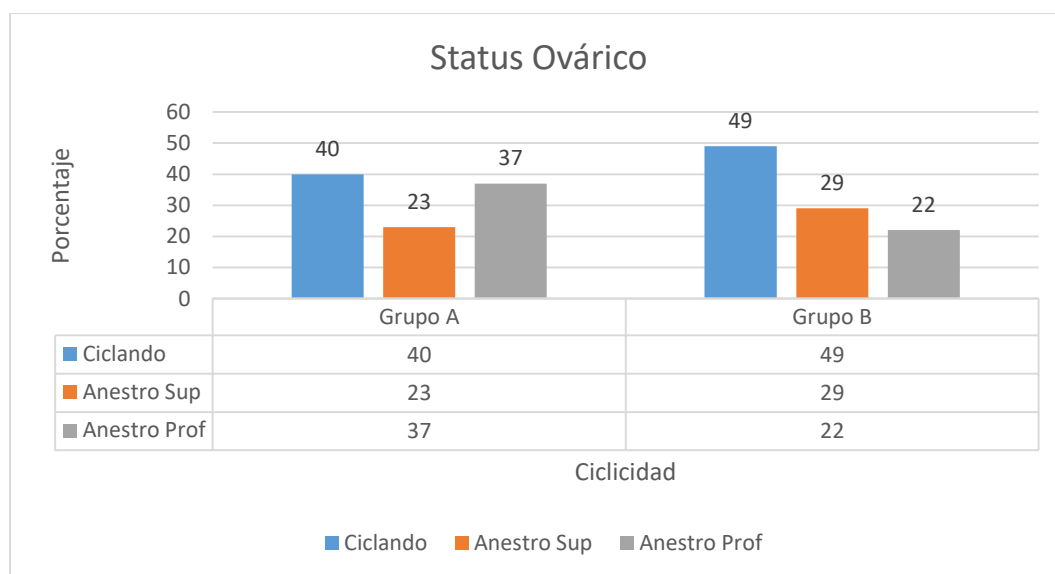
Las vacas parieron en un mismo potrero de pastura natural sin suplementación entre el 1 y el 31 de julio. Luego fueron divididas en dos grupos para ocupar los potreros antes mencionados, identificados como Grupo J-Synch (n=101) en el potrero J-Synch y Grupo Convencional (n=103) en el potrero Convencional. El agua de bebida de ambos potreros, provienen de la misma perforación. Ambos lotes fueron suplementados estratégicamente con 1,5 a 2 kg de semilla de algodón por día hasta la ecografía de diagnóstico de gestación.

El día 10 de octubre de 2019 (Día 0), se inició la sincronizaron en ambos grupos con dos protocolos diferentes para la realización de IATF (figura 2 y 3). El día 18 de octubre (Día

10) las vacas de ambos grupos fueron inseminadas. Luego de la IATF, las vacas regresaron a sus potreros correspondientes continuando con la suplementación estratégica hasta el día del diagnóstico de gestación, luego del cual ambos grupos de vacas se juntaron y se trasladaron a otro potrero, diferente a los anteriores para continuar sin suplementación. Quince días posteriores a la IATF se liberó un 3 % de toros para servicio de repaso hasta completar los 100 días de servicio.

Previamente al inicio de los tratamientos diferenciales, todas las vacas fueron chequeadas con ultrasonografía (US) para determinar su status ovárico, considerando vacas cíclicas a aquellas que presentaron cuerpo lúteo (CL), en anestro superficial a aquellas que presentaron folículos iguales o mayores a 8 mm y en anestro profundo a aquellas que presentaron folículos menores a 8 mm. Se determinó que aproximadamente la mitad de ellas se encontraban ciclando (40% del grupo J-Synch y 49 % del grupo Convencional) y el resto en anestro superficial (23% y 29% respectivamente) o profundo (37 % y 22% respectivamente), como se observa en el Grafico 1. El diagnóstico de preñez se realizó 30 días posteriores la IATF por US.

Grafico 1. Status Ovárico Pre-IATF de ambos grupos (A y B), una semana previa al inicio de los Protocolos. Grupo A: n 101 (100%) y Grupo B: n 103 (100%)



3.3 TRATAMIENTOS (PROTOSCOLOS UTILIZADOS)

El Día 0, se inició el tratamiento en todas las vacas de ambos grupos, a las cuales se les inserto un dispositivo intravaginal bovino impregnado con 0,5 g de Progesterona (DIB 0,5 g, Syntex SA, Argentina) y se les inyectó 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex SA, Argentina) por vía intramuscular (IM) profunda.. El Día 7 se retiraron los dispositivos a las vacas del grupo J-Synch y se les inyectó 400 U.I. de Gonadotropina Corionica Equina (eCG, Novormon® Syntex) y 500 µg de Prostaglandina (PGF α , Ciclase® Syntex). Mientras que el Día 8 se retiraron los dispositivos a las vacas del grupo Convencional y se les inyectó 400 U.I de eCG (Novormon® Syntex SA), 500 µg de Cloprostenol (IM), (PGF α , Ciclase® Syntex SA) y 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (ECP, Cipiosyn® Syntex). En ambos casos, al momento del retiro del DIB, se les pintó la base de la cola (zona sacrocoxigea) como ayuda para detección de celos (Celotest®, Biotay, Argentina). El día 10 de iniciado los tratamientos (72-76 hs post retiro de los DIB en el tratamiento J-Synch modificado y 48-52 hs post retiro de los DIB en el lote convencional), ambos lotes fueron inseminados, con semen de un mismo toro, congelado/descongelado de acuerdo a la técnica estándar. Las vacas que presentaron más del 50% de la pintura intacta se las tomo como “NO celo” y se les aplicó 100 µg de GnRH (Gonasyn® Syntex) en el mismo momento de la inseminación.

En las Figuras 2 y 3, se muestran mediante un esquema simplificado, los 2 protocolos de sincronización para IATF utilizados en este trabajo.

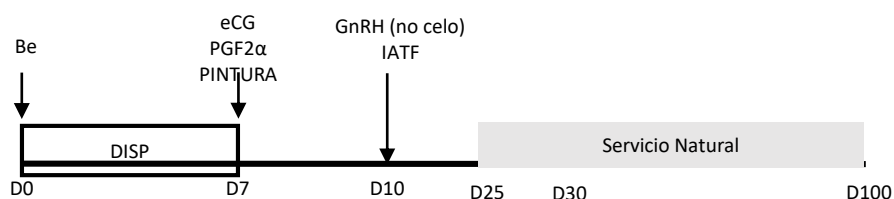
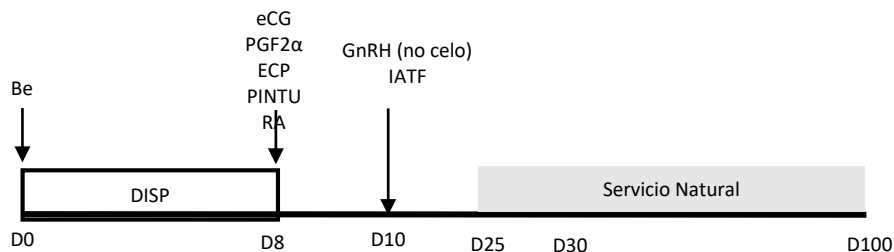


Figura 2. Grupo J-Synch modificado de 7 días (n= 101):. D=días, *DISP*: Dispositivo Intravaginal Bovino.



*Figura 3. Grupo Convencional de 8 días con eCG (n= 103).

4. RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los resultados de preñez de cada lote en estudio. Dando un 41% de preñez el grupo J-Synch Modificado y 23% preñez el grupo Convencional. Se observa una diferencia numérica en el lote A pero no se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$).

Tabla n° 1. Porcentajes de preñez por IATF según protocolos.

Grupo de Tratamiento	n	% Preñez Total IATF	Valor P
J-synch 7 d	101	41 % (41/101)	0.08
Convencional	103	23 % (24/103)	

En la Tabla 2, se observa la relación entre la manifestación de celo y las preñeces. Se puede evidenciar, que los resultados de preñez según manifestación de celo, son estadísticamente diferentes entre protocolos ($P<0,05$). En el grupo J-Synch, las vacas que manifestaron celo tuvieron un porcentaje de preñez mayor en relación a las que no lo manifestaron. En el grupo Convencional, los resultados son inversos, donde las vacas que manifestaron celo tuvieron menor porcentaje de preñez en relación a las que no lo manifestaron.

Tabla n° 2. Porcentajes de preñez según manifestaciones de celo.

Grupo de Tratamiento	n	% Celo	% Preñez en Celo	% Preñez Sin Celo
J-synch 7 d	101	46,5 % (n=47)	76,6% (36/47)	9,2% (5/54)
Convencional	103	74,7% (n=77)	16,8% (13/77)	38,4% (10/26)
Valor P		<0.01	<0.01	<0.01

La ecografía previa a la IATF, permitió identificar los status ováricos individuales de las vacas según los grupos. En la tabla 3, se puede ver la relación entre el status ovárico y la preñez según grupo. Se puede observar que los porcentajes de preñez difieren entre ambos grupos en base a su ciclicidad. En el grupo J-Synch, el mayor porcentaje de preñez se obtuvo en las vacas ciclando, mientras que en las vacas en anestro superficial, y en anestro profundo hubo diferencia numérica pero no fue estadísticamente significativa. Por último, en el grupo Convencional, el porcentaje de preñez casi no difirió entre las vacas con diferentes estatus ováricos.

Tabla n° 3. Porcentaje de preñez en función de la ciclicidad según Grupo.

Grupo de Tratamiento	n	Cíclicas	Anestro Superficial	Anestro Profundo
J-Synch Modificado	101	63,4% (26/41)	47,8 (11/23)	10,8% (4/37)
Grupo Convencional	103	22,0% (11/50)	23,3% (7/30)	26,1% (6/23)
Valor P		<0.01	0.06	0.12

Luego de hacer el repaso con toros, los porcentajes finales de preñez (IATF + toros=3 meses de servicio) fueron 84 % en el Grupo J-Synch Modificado y 77 % en el Grupo Convencional. La diferencia final entre ambos lotes no es significativa, pero la dispersión en los tamaños de las preñeces si es diferente. En el grupo J-Synch modificado, los porcentajes

de preñez divididos según tamaño de gestación fueron: 46% (cabeza), 23% (cuerpo) y 15% (cola), y en el Grupo Convencional los porcentajes fueron: 25% (cabeza), 19% (cuerpo) y 33% (cola). En la figura 4, se muestra dicha dispersión.

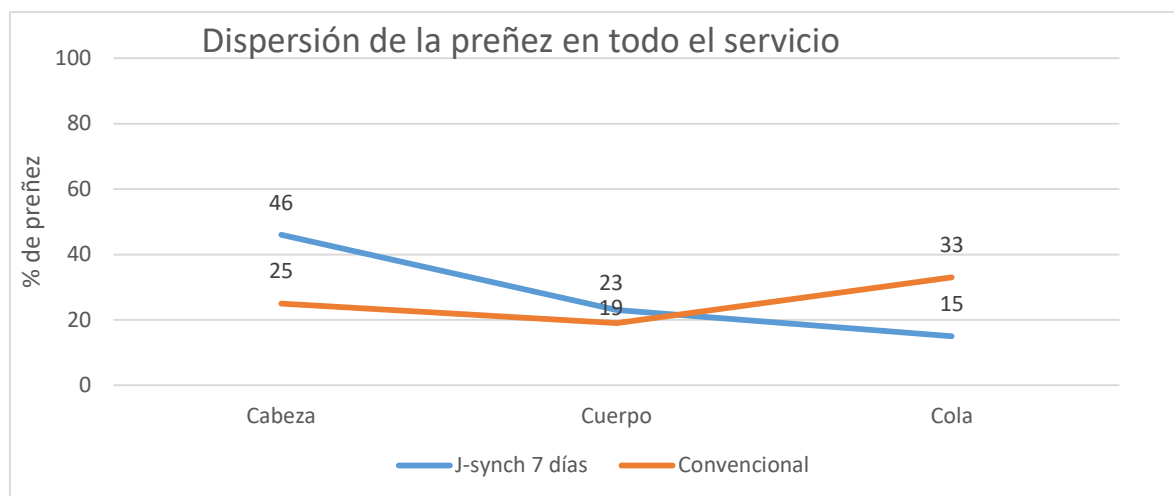


Figura 4. Se muestran los porcentajes de preñeces finales (IATF + Toros) según tamaño de las mismas en cada grupo de tratamiento. Donde se puede apreciar una relación casi inversa en lo que respecta a los porcentajes según tamaño de preñez.

5. DISCUSIÓN

Los resultados de preñez obtenidos muestran diferencias numéricas importantes, aunque no son estadísticamente significativas ($p= 0.15$), siendo aceptables para el caso del Grupo J-Synch Modificado, considerando que se trata de vacas con cría al pie; pero relativamente bajos para el caso del Grupo Convencional.

Se evaluaron las diferentes variables que pudieron haber influido en los resultados, según la siguiente clasificación:

- a) -FACTORES INHERENTES A LOS ANIMALES.
- b) -FACTORES INHERENTES AL MANEJO.
- c) -FACTORES INHERENTES AL AMBIENTE.
- d) -FACTORES INHERENTES A LA ALIMENTACIÓN.

a) FACTORES INHERENTES A LOS ANIMALES:

- **Infertilidad de las vacas:** ésta posibilidad se rechaza debido a que todos los animales se encontraban con cría al pie y fueron sometidos a un chequeo ginecológico con US, por lo cual se infiere que deberían ser fértiles. No obstante, debe considerarse que la cantidad de vacas ciclando y en anestro superficial fue mayor en el lote Convencional que en el J-Synch modificado, y el número de vacas en anestro profundo tuvo una relación inversa (Tabla 2).
- **Fecha de parición:** todas las vacas parieron en el mes de julio.
- **Ciclicidad de las vacas:** ya fue descrita anteriormente.
- **Sanidad:** el calendario sanitario se encuentra bajo supervisión profesional y contempla las medidas necesarias para prevenir enfermedades abortigéncias y/o diagnosticar oportunamente su aparición, no existiendo antecedentes de las mismas. Con planes sanitarios anuales, obligatorios y los impuestos en el establecimiento. De los obligatorios, se vacunan todas la hembras entre los 3 y 8 meses de edad con la vacuna contra brucelosis cepa 19, se realiza control de brucelosis bovina anualmente a todas las hembras mayores de 18 meses, se vacuna contra fiebre aftosa según ley actual (1 o 2 veces al año dependiendo de la categoría). Los impuestos son: se realiza la prueba de tuberculina a todos los animales mayores a 1 año cada 365 días, se vacuna contra enfermedades reproductivas con varias dosis hasta llegar al primer servicio, donde la primera es aplicada en la primera selección de las hembras que se realiza al destete, la segunda dosis se aplica al año de vida donde se hace la segunda selección de las mismas, y 2 meses previo al inicio del servicio se realiza la tercera dosis junto a la última selección, aplicándose la cuarta dosis a los 30 días siguientes. Luego se repite anualmente la vacuna 2 veces al año, donde una se aplica 30 días previo al servicio y la otra al diagnóstico de gestación. Se realizan desparasitaciones cuatrimestrales con rotación de drogas antiparasitarias, se aplica cobre inyectable 2 o 3 veces al año, multivitaminicos generales primavera y otoño. Se vacuna contra carbunco a todos los animales mayores a 1 año, en el mes de noviembre, y tratamientos específicos según la necesidad.

- **Condición corporal:** la condición promedio fue 5 (escala 1-9), con evolución favorable. (flushing).
- **Semen:** el semen utilizado fue de un único toro, raza Braford, que al adquirirlo al centro de inseminación, fue enviado junto a un certificado de calidad seminal, el cual se adjunta al final de este trabajo. Luego de conocidos los resultados de la IATF, se procedió a analizar el semen, donde se corroboró que se encontraba dentro de los parámetros normales de calidad para poder ser utilizado en IATF. Además, en el Grupo J-Synch modificado, los resultados fueron buenos, por lo que ese dato, más los dos análisis de calidad seminal, podrían descartar al semen como factor negativo en los resultados.
- **Respuestas de las vacas al tratamiento hormonal:** Existen resultados que indican una asociación entre la presencia de celo previo y la fertilidad del servicio de un protocolo de IATF (López del Cerro et al., 2011). Acosta Romero (2012) también observó diferencias en cuanto a la tasa de preñez cuando se utilizó pintura como método de detección de celo resultando para las despintadas (celo) del 63,3% (50/79) vs un 21,9% (9/41) para las que continuaban con pintura (no celo). En este trabajo, dicha relación se mantuvo para el Grupo J-Synch Modificado, pero no hubo casi diferencias entre las preñeces de vacas en celo y no celo del Grupo Convencional (Tabla 1). También se comprobó que no hubo diferencias significativas en las preñeces según ciclicidad en el Grupo Convencional, pero si hubo diferencias en el Grupo J-Synch Modificado, a favor de las vacas cíclicas y en anestro Superficial (Tabla 3).

b) FACTORES INHERENTES AL MANEJO

- **Instalaciones:** corrales, manga y casilla de operaciones en excelente estado. Sombra y bebederos con agua fresca permanente.
- **Cumplimiento de los tiempos planeados en el protocolo:** fueron respetados según lo establecido.
- **Descongelado del semen:** Se utilizó el descongelador automático marca “Cito Warm Water Thaw®” (modelo AI CT-12-36 USA.) manteniendo el agua a temperatura

constante ($36^{\circ}\text{C} \pm 1$) chequeada con un termómetro de alcohol secundario. Dicho procedimiento se realizó bajo sombra, para evitar la luz directa con el semen.

- **Inseminador:** todas las vacas fueron inseminadas por el mismo operario (Médico Veterinario), con experiencia.
- **Estrés:** Mínimo. Se evitaron factores estresantes, ya que todo el personal del establecimiento está concientizado y capacitado al respecto. No perros, no golpes, no gritos, no picanas eléctricas, solo banderas.
- **Antecedentes de los potreros:** en años anteriores se realizó IATF en animales pastoreando dichos potreros con resultados normales.

c) FACTORES INHERENTES AL AMBIENTE

La Temperatura del día de la IA (de 7:30 a 11:30 hs) fue de 20°C promedio y la humedad del 35 %.

d) FACTORES INHERENTES A LA ALIMENTACIÓN

La base nutricional fue semejante para ambos grupos. Como se mencionó anteriormente, todas las vacas preñadas del establecimiento se encontraban en un mismo potrero, de pastura natural, sin suplementación. Comenzaron los partos el 1 de julio, y el 31 del mismo mes se retiraron las vacas de dicho potrero (de parto) y se hizo una división al azar, para conformar los lotes A y B. Dichos lotes fueron colocados en dos potreros lindantes, donde comenzaron a ser suplementadas estratégicamente con 1,5 a 2 kg por día de semilla de algodón y sales minerales ad libitum (Sugar block Mineral® -NUTRENCOOP). El agua de bebida fue del mismo origen en ambos grupos. En el potrero donde se encontraban las vacas del lote “B”, como variable imprevista, nacieron/rebrotaron plantas de *Mellilotus alba*, que habían sido sembradas el año anterior, siendo ésta la única diferencia encontrada en la consociación de especies forrajeras entre los dos potreros. Luego de la US de diagnóstico de gestación, ambos grupos fueron unificados y llevados a otro potrero de pastura natural (sin presencia de plantas de *Mellilotus alba*) sin suplementación de semilla de algodón, pero manteniendo las sales minerales a disposición permanentemente, para continuar con el servicio natural de toros.

Como posibles causas alimenticias que podrían haber interferido en los resultados, se analizan por separado los factores: Semilla de Algodón y Melilotus alba.

SEMILLA DE ALGODÓN:

Como se mencionó en la introducción, la semilla de algodón, presenta en su composición, una sustancia denominada Gossipol, la cual al ser ingerida puede ser toxica según la cantidad de la misma presente en las semillas y de la cantidad consumida.

El efecto del gossypol en la reproducción en hembras bovinas es controversial entre los diferentes autores:

Trabajos realizados con vaquillonas superovuladas mostraron sobre los resultados obtenidos un efecto negativo, con la administración de 5 g por día de gossypol libre administrado como torta de algodón. Los animales que recibieron dietas con gossypol desarrollaron un menor número de folículos y tuvieron un mayor porcentaje de embriones degenerados y un menor porcentaje de embriones transferibles (Stahringer et al., 2003).

En novillas púberes (380kg peso/13 meses de edad) a las que se les administraron 40 mg/kg peso vivo por día se observó que no afectaba el desarrollo folicular ni del cuerpo lúteo, pero sí disminuían la fertilidad y producía retrasos del desarrollo (Rev. Erika, Gossipol libre, 2013).

Otros investigadores no encontraron un efecto negativo de las dietas conteniendo gossypol sobre la reproducción de la hembra bovina. En este sentido no se observaron alteraciones de dietas conteniendo 10 g por día de gossypol sobre el pico preovulatorio de hormona luteinizante o sobre los niveles séricos de progesterona entre los días 1 y 16 del ciclo estral. Vacas que recibieron de 0 a 16,3 g por día de gossypol libre por un período de 62 días previo al servicio presentaron porcentajes de preñez elevados y similares (Stahringer et al., 2003).

En categoría vaca adulta, es posible suministrar hasta un 15 o un 20 % de semilla de algodón sobre el total de la dieta en materia seca, lo que significa aproximadamente 2,7 kg de semilla tal cual. En cuanto a torta de algodón se les puede administrar hasta un 15 % de la

dieta total de las que tienen bajo contenido de gossypol libre o 7 % de aquellas con alto contenido de gossypol libre (Stahringer et al., 2003). Por todo lo mencionado, se descarta al gossypol, como posible causa de la baja tasa de preñez.

MELILOTUS ALBA:

DICUMAROL: no se encontraron antecedentes de que el Dicumarol interfiera en los procesos reproductivos de los bovinos. Si en los productivos, dado que el efecto tóxico del mismo, al ser un potente anticoagulante, es producir hemorragias. Por lo que se descarta al mismo como posible interferente en los resultados de este ensayo.

MOLIBDENO: La hipocuprosis en bovinos a nivel reproductivo genera retraso en la involución uterina, abortos, repetición de servicios, celos silentes y retardo de la pubertad (Hernández et al., 2016).

Trastornos clínicos y hallazgos patológicos en bovinos pastoreando Melilotus alba fueron descritos en un caso ocurrido en el Dpto. Vera (Los Charabones) Santa Fe. Esta sintomatología fue asociada a un elevado contenido de molibdeno en esa planta, al ser cultivada en suelo de pH alcalino y textura arcillosa (Ruksan et al., 1982).

La administración parenteral de Cu en forma de complejos orgánicos (EDTA, glicinato, metionato), ha demostrado ser efectiva para prevenir la deficiencia de Cu y sus signos clínicos (Hidiroglou, Ivan y McDowell, 1990).

Se descarta esta carencia mineral (tanto primaria como secundaria) como causa de la falla reproductiva debido a que ambos lotes tuvieron una aplicación de 5 ml (75 mg de Edetato de Cu) de cobre inyectable (Suplenut, Biogenesis®) 60 días previo al inicio del tratamiento para la IATF, y una semana antes (junto al control ginecológico) se les aplicó una segunda dosis del mismo. Además de recibir suplementación de sales minerales durante toda su temporada de servicio, con Sugar block Mineral® (NUTRENCOOP, Argentina) de autoconsumo (ad libitum) que contienen cobre en su composición.

FITOESTROGENOS: La importancia de los fitoestrógenos radica principalmente en que pueden actuar como agonistas o antagonistas estrogénicos, ya que ejercen sus efectos tanto

en el macho como en la hembra en tejidos donde existen receptores para estrógenos (ER) (Whitten et al., 2002).

Los estrógenos favorecen la diferenciación celular y el crecimiento de las glándulas mamarias, el útero, la vagina, los ovarios, los testículos, los epidídimo, la próstata, el sistema vascular (Dubey et al., 2000) y el sistema nervioso (McGarvey et al., 2001), además de controlar un gran número de funciones corporales, por lo cual las moléculas que simulen estos efectos pueden conllevar a desórdenes fisiológicos clínicos o subclínicos.

En los machos bovinos se ha comprobado que la ingestión de pasturas que contienen COU, ocasiona metaplasia glandular y epitelial, tanto en la próstata como en las glándulas bulbo-uretrales. Se presenta además, un mayor número de espermatozoides inmaduros con disminución significativa en la movilidad (Romero et al., 1997).

Según algunos autores, en las hembras bovinas los fitoestrógenos reducen el porcentaje de concepción. En un ensayo con 608 vacas alimentadas con alfalfa contaminada con el hongo *Pseudopeziza medicaginis*, se obtuvo menos del 30% de gestaciones a pesar de haberse realizado 1264 inseminaciones en el lapso de un año. Este porcentaje de gestaciones se redujo en un 10% adicional al incorporar el número de vacas que tuvieron abortos espontáneos. Aún en las que presentaron gestaciones normales, los niveles de estrógenos estaban alterados, sintomatología característica del síndrome estrogénico (Romero et al., 1997).

Adams (1995) encontró una asociación entre la actividad estrogénica en ovejas y el consumo de tréboles; cuando la pastura con la cual se alimentaban las hembras contenía 25 mg kg⁻¹ de COU, se presentó una baja tasa de nacimientos, desarrollo de folículos hemorrágicos, prolapso de útero, metritis y edema uterino. En vacas lecheras alimentadas con alfalfa seca con un contenido de 68,8 mg kg⁻¹ de COU, se presentó un síndrome estrogénico con características similares al descrito en las ovejas (Romero et al., 1997).

Los principales efectos en las vacas sometidas al consumo de fitoestrógenos son: desarrollo inmaduro de la glándula mamaria, edema vulvar, descarga de moco cervical, engrosamiento del útero. Algunos animales presentan una predisposición genética o

medioambiental a la formación de quistes ováricos, ninfomanía y anestro prologado inducidos por el consumo de fitoestrógenos (Adams, 1995).

Se ha comprobado que concentraciones de 20 a 50 mg de COU por kg de alfalfa, son suficientes para inducir la presencia de manifestaciones estrogénicas en los animales. El consumo diario de 500 mg de COU por vaca equivale a una concentración plasmática de 13 ng/dL de este compuesto, lo que resulta ser 1000 veces mayor a la concentración de 17 β -estradiol encontradas durante el estro. Aun considerando una actividad 160 veces menor en el COU con relación al 17 β -estradiol, la cantidad equivale a seis veces la concentración de estrógenos sanguíneos durante el estro. Se podría inferir que las vacas estarían realizando un proceso de anticoncepción por el consumo de los fitoestrógenos y las que pudieran quedar preñadas, afrontarían un proceso patológico por el efecto embrio-tóxico de los estrógenos y en las gestaciones avanzadas por antagonismo de los estrógenos sobre la progesterona (Le Bars, Le Bars y Brice, 1990; Valderrabano, 1992).

Chandrareddy et al. (2008) reportaron el caso de tres mujeres que consumían dentro de su dieta altas cantidades de soya (40 gr de isoflavona), en las que se evidenciaron algunos de los efectos adversos de los fitoestrógenos en el tracto reproductivo. Estas pacientes presentaron síntomas comunes entre ellas como anomalías en el sangrado, en algunas ocasiones amenorrea, miomas endometriales, proliferación del epitelio uterino, infertilidad y la no respuesta a los tratamientos médicos. Cuando la soya fue retirada de sus dietas se observó una mejora en las semanas subsiguientes.

El consumo de fitoestrógenos contenidos en los forrajes puede influir en la formación de quistes foliculares en vacas. Aunque el diagnóstico por sintomatología es complejo, los animales del hato empiezan a manifestar los siguientes signos y síntomas que son de utilidad en la observación clínica; hay que tener en cuenta que no son patognomónicos: vacas repetidoras, vacas sub-fértiles e infértiles, abortos, endometritis, estros persistentes, ninfomanía, hiperplasia de mamas, relajación de los ligamentos pélvicos, problemas osteoarticulares, hiperplasia uterina e hiperemia vulvar (Romero et al., 1997).

Como se mencionó en la introducción, los fitoestrógenos más comunes en las leguminosas son los coumestranos (coumestrol) y las isoflavonas. El Coumestrol es un compuesto orgánico

natural de la clase de fitoquímicos conocidos como coumestanos que imita la actividad biológica de los estrógenos ya que tiene aproximadamente la misma afinidad de unión por el ER- β receptor de estrógeno que el 17 β -estradiol, pero mucha menos afinidad por el receptor ER- β . En todo caso, la potencia estrogénica del coumestrol en ambos receptores es mucho menor que la de 17 β -estradiol (Kuiper et al., 1998).

La forma química del coumestrol orienta sus dos grupos hidroxilo en la misma posición que los dos grupos hidroxilo en el estradiol, lo que le permite inhibir la actividad de las enzimas implicadas en la biosíntesis de las hormonas esteroideas “aromatasa e hidroxiesteroide deshidrogenasa” (Blomquist et al., 2005). La inhibición de estas enzimas da como resultado la modulación de la producción de hormonas (Amin y Buratovich, 2007).

Las alteraciones más comunes a nivel reproductivo son el crecimiento uterino, descargas vaginales, desarrollo mamario, ovarios quísticos y estros irregulares (Sanin et al., 2010).

Los **isoflavonoides** son una clase de flavonoides (metabolitos secundarios de las plantas, que se sintetizan en principio, a través de la llamada "vía biosintética de los flavonoides") encontrados en las leguminosas y sólo en pocas no leguminosas. Están implicados en los mecanismos de defensa de la planta ante el herbivorismo, y también funcionan como señales químicas en la fijación de nitrógeno. Los isoflavonoides tienen variadas funciones en las legumbres. Algunos, como los rotenoides, poseen una fuerte acción insecticida y otros tienen efectos antiestrogénicos. Por ejemplo, las ovejas que pastan en tréboles ricos en isoflavonoides suelen volverse infértiles. El sistema de anillos de los isoflavonoides tiene una estructura que guarda similitudes con la de los esteroideos, lo que permite a estas sustancias unirse a receptores de estrógenos (Taiz et al., 2006).

Actualmente la problemática en los animales de producción radica en que el consumo de fitoestrógenos se asocia a fenómenos subclínicos; lo cual conlleva a un diagnóstico difícil y a la perpetuación del problema en los hatos (Boué et al., 2003).

6. CONCLUSION

Los resultados de este trabajo, junto al análisis de todos los factores interferentes, llevaron a las siguientes conclusiones específicas:

*El tratamiento J-Synch modificado de 7 días obtuvo resultados aceptables de preñez en la categoría vaca con cría al pie, presentando diferencias numéricas entre los dos grupos de tratamientos, pero que no son estadísticamente significativas.

*La manifestación de celo al momento de la IATF fue diferente entre ambos grupos, siendo marcadamente mayor en el Grupo Convencional. Si bien la expresión del celo fue mayor en el Grupo Convencional la correlación celo preñez fue mayor en el Grupo j-Synch modificado.

*No se encontraron diferencias en el resultado de preñez final por IATF más repaso con toros. No obstante ello, la dispersión de las mismas es marcadamente diferente, siendo ideal en el lote J-Synch modificado con mayor cabeza, buen cuerpo y poca cola, en contraste con el lote Convencional, donde la relación es prácticamente inversa, cuyo resultado trae aparejado pérdidas económicas importantes por cada día que se atrasa el nacimiento de los terneros, por su relación directa sobre la cantidad de kg producidos por vaca por año.

*La preñez en el grupo J-Synch según estructura ovárica es normal comparando con trabajos publicados en la literatura. Lo que no resulta normal es lo ocurrido en el grupo convencional, donde la tasa de preñez fue indiferente a la estructura ovárica, con porcentajes de preñeces similares entre los diferentes estatus ováricos.

De acuerdo a todo lo analizado, a las conclusiones puntuales y a la literatura consultada, se infiere que la baja tasa de preñez en el Grupo Convencional, pudo deberse a la presencia de fitoestrógenos en las plantas de *Melilotus alba* consumidas por dicho grupo, las cuales generaron un síndrome estrogénico. Esta afección cesa luego de un tiempo prudencial de retirados de la fuente de intoxicación, demostrado por el gradual aumento de preñez en las vacas que dejaron de consumir *Melilotus alba*.

El consumo de plantas que contienen fitoestrógenos favorece la actividad farmacológica endógena cuyo efecto depende básicamente del tipo, la cantidad y de la especie consumida. Los fitoestrógenos están ampliamente contenidos en gran variedad de plantas y forrajes, y tienen diversos efectos principalmente en el tracto reproductivo en la mayoría de especies animales que dependen de su acción agonistas o antagonistas estrogénicos, produciendo desde infertilidad hasta una respuesta estrogénica exacerbada. La información disponible es aún escasa por lo que son necesarias mas investigaciones que permitan determinar los efectos dependientes sobre los parámetros reproductivos y su repercusión sobre la producción en general. se hace obvia la necesidad de investigaciones que permitan dilucidar los efectos de acuerdo a dosis, especies, efectos nocivos o benéficos, los mecanismos de acción entre otros.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abba, M.; De Luca, J.C.; Mattioli, G.; Zaccardi, E.; Dulout, F.N. 2000. Clastogenic effect of copper deficiency in cattle. *Mutation Research*, v. 466, p. 51-55.
- Acosta Romero, M.L. (2012). Uso de la pintura para detección de celo en programas de IATF en bovinos de carne y su incidencia en el valor del semen a utilizar. *Especialidad en Reproducción Bovina*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Adams, N.R. 1995. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 73(5): 1509-1515.
- Ahola, J.K.; Engle, T.E.; Burns, P.D. 2005. Effect of copper status, supplementation, and source on pituitary responsiveness to exogenous gonadotropin-releasing hormone in ovariectomized beef cows. *J Anim Sci*, v. 83, p. 1812-1823.
- Amin and Michael Buratovich (2007). «The Anti-Cancer Charm of Flavonoids: A Cup-of-Tea Will Do!». *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* 2 (2): 109-117.
- Atkins J.A., Busch D.C., Bader J.F., Keisler D.H., Patterson D.J., Lucy M.C., Smith M.F. 2008. Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: effect of day of the cycle. *Journal Animal of Science* 86. 83-93
- Balbuena, O. y Mastandrea O*. 2003. Trastornos clínicos en bovinos pastoreando *Melilotus alba* con niveles altos de molibdeno en la zona centro-chaqueña. INTA Colonia Benítez.
- Balbuena O. y Kucseva C. S., 2013, Utilización de la semilla de algodón en la alimentación de bovinos para carne. EEA INTA Colonia Benitez.
- Baruselli, P.S., Marques M.O., Vieira L.M., Konrad J.L., Crudeli G.A. 2015. Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Revista veterinaria*. Vol. 26-2
- Blomquist CH, Lima PH, Hotchkiss JR (2005). «Inhibition of 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (3 α -HSD) activity of human lung microsomes by genistein, daidzein, coumestrol and C18-, C19- and C21 hydroxysteroids and ketosteroids». *Steroids* 70 (8): 507-514.

- Bó G.A., Adams G.P., Caccia M., Martinez M., Pierson R.A. and Mapletoft R.J. 1995a. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science* 39 (3): 193-204.
- Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Tribulo, H.E., Caccia, and M., Mapletoft, R.J., 1995b. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41: 1555-1569.
- Bo G.A., Barusselli P.S., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tribulo R., Tribulo H., Mapletoft R.J. 2002a. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57, 53-72.
- Bó, G.; Cutaia, L.; Chesta, P.; Balla, E.; Pincinato, E.; Peres, L.; Maraña, D.; Avilés, M.; Menchaca, A.; Veneranda, G.; Baruselli, P. 2005. Implementación de Programas de Inseminación Artificial en Rodeos de Cría de Argentina. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. Tomo I 97-128
- Bó G.A., de la Mata J.J., Baruselli P.S. and Menchaca A., 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 86(1): 388-396.
- Bonilla, C. 2004. Isoflavonas en ginecología, terapia no convencional. *Rev Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 55(3): 209-217.
- Boué, S.M., T.E. Wiese., S. Nehls., M.E. Burow., S. Elliott., CH. Wientjes., B.Y. Shih., J.A. McLachlan and T.E. Cleveland. 2003. Evaluation of estrogenic effects of legume extracts containing phytoestrogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(8): 2193-2199.
- Bridges G.A., Hesler L.A., Grum D.E., Mussard M.L., Gasser C.L. and Day M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2alpha from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69 (7): 843-851
- Bridges G.A., Mussard M.L., Burke C.R., and Day M.L. 2010. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Animal Reproduction Science*, Volume 117, (3); 208-215

- Caccia M. and Bó G.A.,1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 49 (1): 341
- Chandrareddy, A., O. Muneyyirci-Delale., S.I. McFarlane and O.M. Murad. 2008. Adverse effects of phytoestrogens on reproductive health: a report of three cases. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 14(2): 132-135.
- Chen, H.Q., X.J. Wang., Z.Y. Jin., X.M. Xu., J.W. Zhao and Z.J. Xie. 2008. Protective effect of isoflavones from *Trifolium pratense* on dopaminergic neurons. *Neuroscience Research* 62(2): 123-30.
- Cutaia, L, Veneranda, G, Tribulo, R, Baruselli, PS, y Bó GA. 2003. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina; 119-132.
- D.E Rosa, Guillermo A. Mattioli. 2008. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos.
- De la Mata J.J. and G.A. Bó. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55:17-23.
- de la Mata J., de la Mata C. y Bó G., 2013a. Evaluación del grado de despintado en la base de la cola sobre la tasa de preñez en vaquillonas Angus sincronizadas con un protocolo de IATF. X Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC 2013. 308. 17
- de la Mata J.J., de la Mata C.A. y Bó G.A.. 2013b. Características foliculares y luteales y tasa de preñez en receptoras de embriones sincronizadas con un protocolo j-synch 6d. X Simposio internacional de reproducción animal-IRAC. 376.
- De la Mata J.J., Menchaca A. y Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentina, Córdoba. Resúmenes pp 143-157.
- Deulofeu, V., Marenzi, A., Stoppani, A., 1969. *Química Biológica*, El Ateneo, 9° ed. Pp.418-1325, Buenos Aires.

- Díaz González G.J. 2010. Plantas tóxicas de importancia en salud y producción animal en Colombia.
- Dubey, R.K., D.G. Gillespie., L.C. Zacharia., M. Rosselli., K.R. Korzekwa., J. Fingerle and E.K. Jackson. 2000. Methoxyestradiols mediate the antimitogenic effects of estradiol on vascular smooth muscle cells via estrogen receptor-independent mechanisms. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 278(1): 27-33.
- Elika (Fundación Vasca para la seguridad agroalimentaria), 2013. Gosipol libre.
- Ferreira Gonzalo. 2006. Semilla de algodón en la alimentación de vacas lecheras, pero cuidado con los excesos. *Producir XXI*, Bs.As., 15(181):48-49.
- Franke, A.A., L.J. Custer., C.M. Cerna and K.K. Narala. 1994. Quantification of phytoestrogens in legumes by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(9): 1905-1913.
- García Calderón, F, R. Viejo, M. Ridaó y A. Casaro. 1994. Niveles de cobre sanguíneo y hepático en vacas preñadas suplementadas con aminoacetato de cobre. *Vet. Arg.*, XI (109):595-601.
- García Fernández J.A., 2016. Toxicología Sistémica, Intoxicaciones por plantas.
- García-Vaquero, M.; Miranda, M.; López-Alonso, M.; Castillo, C.; Benedito, J. 2011 Evaluation of the need of copper supplementation in intensively reared beef cattle. *Livsci*, v. 137, p. 273-277.
- Geary T.W., Downing E.R., Bruemmer J.E., Whittier J.C. 2000. Ovarian and Estrous Response of Suckled Beef Cows to the Select Synch Estrous Synchronization Protocol. *The Professional Animal Scientist* 16. 1-5.
- Gehm B.D., J.M. McAndrews., P.Y. Chein and J.L. Jameson. 1997. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(25): 14138-14143.
- Glitso, L.V., W. Mazur., H. Adlercreutz. K. Wahata., T. Makela., B. Sandstrom and K. Wahala. 2000. Intestinal metabolism of rye lignans in pigs. *British Journal of Nutrition* 84: 429-437.

- Gooneratne, S.R.; Buckley, W.T.; Christensen, D.A. 1989. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Can J Anim Sci*, v. 69, p. 819-845.
- Hernández Arroyave Walter H., Ocampo Pablo E., Ortiz M, Montoya Luis M., Flórez P., Bustamante John J. 2016. Suplementación parenteral de cobre y su relación con índices de fertilidad en bovinos de regiones con altos niveles de molibdeno en el Magdalena Medio colombiano. *Veterinaria y Zootecnia ISSN 2011-5415 Vol 10 No.1*.
- Hidiroglu, M., Ivan M., and McDowell, L.R. (1990) Copper metabolism and status in cattle. In: *Proceedings of the 16th World Buiatrics Congress*. Interlinh Consultoria and Eventos, Salvador, Bahia, Brasil, pp. 1247-1252
- Humphires, W.R.; Phillippo, M.; Young, B.W.; Bremner, I. 1983. The influence of dietary iron and molybdenum on copper metabolism in calves. *Br Nutr*, v. 49, p. 77-86.
- Informe Agrometeorológico, 2015, Inta Reconquista, Santa Fe.
- Kasimanickam R., Day M.L., Rudolph J.S., Hall J.B., Whittier W.D. 2009. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesteronebased synchronization protocol in beef cows. *Theriogenology* 71. 762-767.
- Knuckles, B.E., D. DeFremery and G.O. Kohler. 1976. Coumestrol content of fractions obtained during wet processing of alfalfa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24(6): 1177-1180.
- Kuiper, G.G., J.G. Lemmen., B. Carlsson., J.C. Corton. S.H. Safe., P.T. Van der Saag., B. Van der Burg and J.A. Gustafsson. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor b. *Endocrinology* 139(10): 4252-4263.
- Le Bars, J., P. Le Bars and G. Et Brice. 1990. Presence accumulation et devenir du coumestrol dans la luzerne et ses derives. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 166(5): 463-469.
- Lenis Samin Y. Y., Gutiérrez Gómez M. T. y Tarazona Morales A. 2009. Efectos de los fitoestrógenos en la reproducción animal.
- López C., Odorizzi A., Basigalup D., Arolfo V., Martínez M.J. 2006. El Trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba. INTA Manfredi.

- Lopez del Cerro, P., Scándolo, D.G., Vanzetti, L., Cuatrín, A., Scándolo, D., Maciel, M. 2011. Efecto de la aplicación de Lecirelina en la fertilidad de vaquillonas Braford que no manifiestan celo previo a la IATF. IX Simposio Internacional de Reproducción Animal. pp 326. 9 al 11 de Noviembre. Córdoba, Argentina.
- M.B. Roigé, M.O. Tapia. 1996. Efecto de algunos tóxicos de origen vegetal y fúngico en el rumen.
- Macmillan K.L., Thatcher W.W. 1991. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biology of Reproduction* 45. 883-889.
- Majak, W.; Steinke, D.; Lysyk, T.; Ogilvie, K.; McGillivray, J. 2006. Efficacy of Copper Supplementation in the Prevention of Molybdenosis in Cattle. *Rangeland Ecol Manage.*, v.59, p. 285-292.
- Martinez M.F., Adams, G.P., Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R. and Mapletoft, R.J. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54: 757-769.
- Maxie, G.; editor. Jubb, Kennedy & Palmer's 2007. *Pathology of Domestic Animals*. 5th Ed. New York: Elsevier.
- McDonald, P. et al. 2010. *Animal Nutrition*. 7th.Ed. San Francisco: Benjamin-Cummings Publishing Company.
- McGarvey, C., P.A. Cates., A. Brooks., I.A. Swanson., S.R. Milligan., C.W. Coen and KT. O'Byrne. 2001. Phytoestrogens and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity and pituitary luteinizing hormone release in the rat. *Endocrinology* 142(3): 1202-1208.
- Menchaca A., Dutra, S., Carrau, J.M., Sapriza, F., Salazar, J., de la Mata, J.J. et al. 2015. Improvement of pregnancy rates by using the 6-day J-Synch protocol in recipient cows transferred with in vitro produced embryos. *Animal Reprod.* 12: 653 (Abstract)
- Menchaca, A., Nuñez Olivera R., García Pinto C., Cuadro F., Bosolasco D., Fabini F., Dutra S., de la Mata J.J., Bó G.A.. 2017. Efecto de la prolongación del proestro en la fertilidad de los programas de IATF. XII Simposio internacional de reproducción animal-IRAC. 191-216.

- Menchaca A., Nuñez Olivera R., Garcia Pintos C., Fabini F., De La Mata Javier, Huguenine E., Bó. 2019. Es posible mejorar la fertilidad con protocolos de proestro prolongado? Bases fisiológicas, resultados y nuevas perspectivas. 13 Simposio Internacional de Reproducción Animal.
- Moeller, R.B. Copper. 2004. In: Clinical Veterinary Toxicology. Plumlee K.H. (ed.) Mosby, pp. 195-197.
- Moussa, M.; Shu, J.; Zhang, X.; Zeng, F. 2015. Maternal control of oocyte quality in cattle “a review”. *Animal Reproduction Science*, v. 155, p. 11-27.
- Mussard M.L., Burke C.R. and Day M.L. Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. 2003. *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology* 79. 185
- Mussard M.L., Burke C.R., Behlke E.J., Gasser C.L. and Day M.L. 2007. Influence of premature induction of an LH surge with GnRH on ovulation, luteal function and fertility in cattle.. *Journal of Animal Science* 85. 937-943
- O'Dell BL. The concept of trace element antagonism: The Cu-Mo-S triangle. *J Nutr* 1997; 127: 1045S1047S
- Olson, K.C. 2007. Management of Mineral Supplementation Programs for Cow-Calf Operations. *Vet Clin Food Anim*, v.23, p. 69-90.
- Panigatti, José Luis. 1974. Manejo del Melilotus para asegurar su resiembra natura. INTA Rafaela.
- Patisaul, H.B., M. Dindo., P.L. Whitten and L.J. Young. 2001. Soy isoflavone supplements antagonize reproductive behavior and estrogen receptor alpha- and beta-dependent gene expression in the brain. *Endocrinology* 142(7): 2946-2952.
- Pérez Rivero J.J., Aguilar Setién A., Martínez Maya J.J., Pérez Martínez M., Serrano H. 2007. Los Fitoestrógenos y el Efecto de su Consumo en Diferentes Órganos y Sistemas de Animales Domésticos.
- Perusia Oscar R.y Rodriguez Roberto A., 2001, Micotoxicosis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. Del cuaderno de divulgación técnica N°4: Plantas toxicas y Micotoxinas. 3° Edición 2/97.
- Perusia R. Oscar M.V. y Roberto Rodriguez Arnesto M.V., 2017. Plantas toxicas y micotoxinas.

- Phillippo M. Trace elements in animals productions and veterinary practice. Occ. publication N° 7, 1999. Ed. Suttle, NF, Gunn RG, Allen WM, Linklater KA, Wiener G. London (Inglaterra), 1983; p. 51-60.
- Picco, S. et al. 2012. Effects of copper sulphate concentrations during in vitro maturation of bovine oocytes. *Theriogenology*, v. 77, p. 373-381.
- Pike, A.C., A.M. Brzozowski., R.E. Hubbard., T. Bonn., A.G. Thorsell., O. Engström., J. Ljunggren., J.A. Gustafsson and M. Carlquist. 1999. Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist. *The EMBO Journal* 18(17): 4608-4618.
- Polo, C.A. Hipocuprosis y selenosis bovina. *Revista Universidad de Caldas*, 1993.
- Pursley J.R, Mee M.O., Wiltbank M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology* 44. 915-923
- Ramírez, C.E.; Tittarelli, C.M.; Mattioli, G.A.; Giuliadori, M.; Puchiri, M. 1997. Hipocupremia bovina en cinco partidos de la provincia de Buenos Aires. Argentina. *Vet Arg.*, v. 14, n. 131, p. 12-17.
- Ramos, G., P. Frutos, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788. 24080 León. España. Arch. Zootec.* 47: 597-620.
- Randel, R. D. 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal animal Science* 68; 853-862.
- Ré M., de la Mata J.J. and Bó G.A., 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reprod. Fert. And develop.* 26:118 (Abstract).
- Romero, C.M., R.T. Castellanos., R.M. Mendoza., R.A. Reyes and A.R. García. 1997. Síndrome estrogénico en vacas lecheras por consumo de alfalfas con grandes cantidades de coumestrol. *Veterinaria México* 28(1): 25-30.
- Rómulo Campos G., Érika A. Hernández. 2008. Relación Nutrición/Fertilidad en Bovinos. *Bioquímica y Fisiología*.
- Ruksan, B., Casaro A.; Jaechke J.; Lagos F. y Gonzalez Pandal (1982) *Rev. Arg. Prod. Animal* 2 (6): 552-569.

- Sanin Lenin Y., Gomez Guitierrez M., y Morales Tarazona A. Phytoestrogen effects on animal reproduction. 2010. Universidad Nacional de Colombia. Portal de revistas.
- Setchell, K.D., A.M. Lawson., S.P. Borriello., R. Harkness., H. Gordon., D.M. Morgan., D.N. Kirk., H. Adlercreutz., L.C. Anderson and M. Axelson. 1981. Lignan formation in man microbial involvement and possible roles in relation to cancer. *The Lancet* 318 (8236): 4-7.
- Souto L.A., Maquivar M., Mussard M.L., Bridges G.A., Grum D.E., Day M.L. 2009. Fertility and luteal regression with 5d-CIDR synchronization programs in postpartum beef cows using differing luteolytic treatments. *Journal Animal of Science* 87. 372
- Stahringer R. C., 2003. Efecto del Gossypol sobre la Reproducción de los Bovinos. EEA INTA Colonia Benítez.
- Stahringer R. C., 2003. La condición corporal en el manejo de cría. EEA INTA Colonia Benítez.
- Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. (2006) *Secondary Metabolites and Plant Defense*". En: *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. Capítulo 13.
- Thatcher W.W., Macmillan K.L., Hansen P.J., Drost M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31. 149-164.
- Toll Vera L.R. 2018. Los tréboles de olor como recurso forrajero. Archivo digital. Facultad de Agronomía y Zootecnia. UNT.
- Tribulo H.E., Bárdon J., Combessies G., Martinez A. 2006. Manejo reproductivo en rodeos de carne IRAC 236 pp.
- Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J.G., Dufour J.J. 1994. Influence of corpus luteum induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and and cloprostenol. *Journal Animal of Science* 72. 1796-1805.
- Twagiramungu H., Guilbault L.A., Dufour J.J. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal Animal of Science* 73. 1796-1805.

- Valderrabano, J. 1992. Alteraciones reproductivas asociadas al consumo de fitoestrógenos. *Investigación Agraria Producción y Sanidad Animales (España)* 7(2): 115-124.
- Verdoljak J., Pereira M., Gándara L., Acosta F., Martínez González J. 2018. Reproducción y mortalidad de razas bovinas en clima subtropical de Argentina.
- Walter Hernández-Aroyave, Pablo Eduardo Ocampo-Ortiz, Luis Mauricio Montoya-Flórez, John Jairo Bustamante-Cano. 2016. Suplementación parenteral de cobre y su relación con índices de fertilidad en bovinos de regiones con altos niveles de molibdeno en el Magdalena Medio colombiano.
- Wang, G.S., S. Kuan., O.J. Francis., G.M. Ware and A.S. Carman. 1990. A simplified HPLC method for determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38(1): 185-190.
- Whitten, P.L., H.B. Patisaul and L.J. Young. 2002. Neurobehavioral actions of coumestrol and related isoflavonoids in rodents. *Neurotoxicology and Teratology* 24(1): 47-54.
- Wikipedia. 2019. Coumestrol.
- Zierau, O., G. Kretschmar., F. Möller., C. Weigt and G. Vollmer. 2008. Time dependency of uterine effects of naringenin type phytoestrogens in vivo. *Molecular and Cellular Endocrinology* 294(1-2): 92-99.

8. ANEXOS

Se adjunta informe de análisis de calidad seminal.

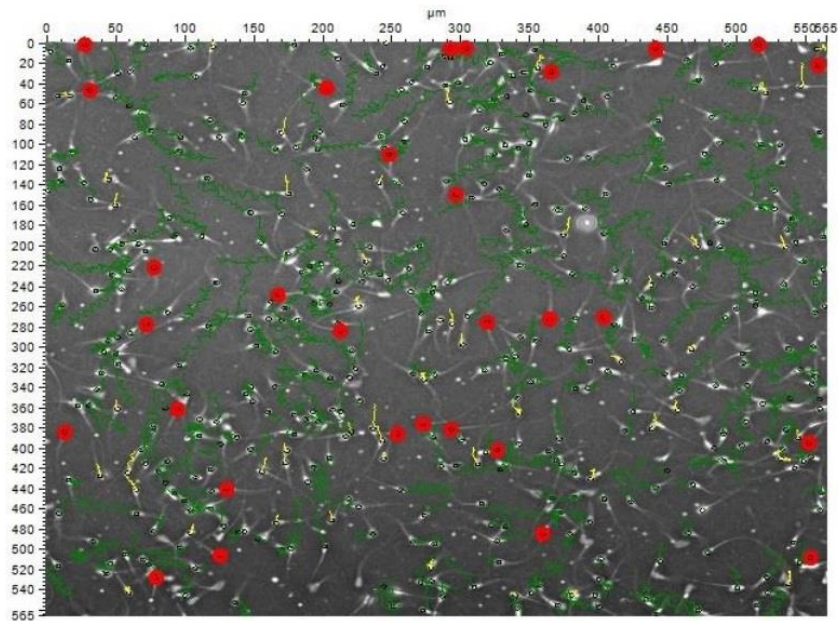


CIAVT

Ruta 33 Km 636 – CP:2600 – Venado Tuerto
Prov. Santa Fe – República Argentina
Tel: 03462-435133 | www.ciavt.com.ar

AndroVision™ Informe de Análisis de Muestra

Nombre del animal:	MIDAS	Raza:	BRAFORD	Fecha de análisis:	08.10.2019
Identificación:	ANALISIS	Especie:	BOVINO	Propietario:	
Centro de I.A.	CIAVT	Partida:	07.10.19	Presentación:	1 PAJ 0.5 CC



Concent. espermios (mill/ml):	58,57	Temperatura de análisis:	+ 37°C
% de espermios móviles:	61,44	Espermios captados:	2022
% de espermios progresivos:	55,39	Tipo de Muestra:	Semen Congelado
Concent. espermios. prog/dosis:	16,30	Diluyente:	ANDROMED
% de espermios inmóviles:	38,56		

(Ref. mínimo: 30%)
(Ref. mínimo: 6 millones)

Observaciones:
La evaluación microscópica realizada por este laboratorio muestra que el material seminal analizado **HA SUPERADO** los valores de referencia (Ref.).

Dr. Raúl Mazzeo
Director Técnico
Mat. Prof. Nº 559 – Ley Nº 20.425 – Reg. Nº 1525