



TITULO: “CARACTERIZACION Y ESTRATEGIAS FARMACOLOGICAS PARA MEJORAR LOS PROBLEMAS DE FERTILIDAD EN RODEOS LECHEROS”

INTEGRANTES	FIRMA
BARTOLOME, Julián	
BILBAO, Guillermina	
ZAPATA, Luis	



Número de Proyecto: .....

Año: .....

(No llenar)

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA**

**Facultad de Ciencias Veterinarias**

**1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO**

**1.1. TÍTULO del PROYECTO**

“Caracterización y estrategias farmacológicas para mejorar los problemas de fertilidad en rodeos lecheros”

**1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN:** Básica - Aplicada - Desarrollo Experimental

**1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL:** (Ver Códigos en Planilla Adjunta) .....

**1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES:** (Ver Códigos en Planilla Adjunta) .....

**2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO**

**2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS** Cátedra de Obstetricia, Departamento de Producción Animal

**2.2. OTRAS INSTITUCIONES:**

**2.3. EQUIPO de TRABAJO:**

**2.3.1 . INTEGRANTES**

Apellido y Nombre	Título Académico	Categ. Invest.	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac. Hs./Sem
Bartolomé, Julián	PhD	2	D	Conicet	Exclusiva	1
Bilbao, María Guillermina	PhD		Co-D	Obstetricia	Adscripto	1
Zapata, Luis	MV		I	Obstetricia	Adscripto	1

(1) D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

**2.3.1. BECARIOS:**

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
Ramos, Sebastián	UNLPam	Perfeccionam	Bartolomé, Julián	20

**2.3.2. TESISISTAS:**

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

**2.3.3. PERSONAL de APOYO:**

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

**2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:**

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
	Director Co-Director Tesisista		

**3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 3 años****3.1. FECHA de INICIO: 1/01/2014 FINALIZACIÓN: 31 / 12/ 2016****4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)**

Una característica relevante de los rodeos lecheros es la notoria disminución de los índices reproductivos. El objetivo general es caracterizar la problemática en un rodeo en la Pcia de La Pampa y evaluar el impacto de diferentes estrategias farmacológicas sobre las estructuras ováricas y el ambiente uterino. Los objetivos específicos son: i) caracterizar las tasas de concepción y pérdidas de gestación en un año en un rodeo lechero y evaluar factores de riesgo, como factores climáticos, índice de temperatura y humedad (ITH), condición corporal (CC) y cambios de dietas; ii) estudiar el efecto de un tratamiento extendido de progesterona (P4) sobre la reanudación de la ciclicidad postparto; y iii) evaluar el efecto de un tratamiento con eCG post IA sobre el ambiente uterino y la fertilidad. Se determinarán: i) tasas de concepción a los 35, 100 y 180 días post IA en tambo comercial con servicio por IA continuo; ii) P4 los días 35, 52, 59 y 69 postparto; el día 69 se analizará P4, estradiol, glucosa y NEFA; iii) P4 y PAGs en sangre y receptores de esteroides, LIF-R, IL6ST e IGFBP los días 22, 29 y 35 de gestación. El día 35 se determinará P4, LIF, IGF-1 y PG-F2a en fluido luminal uterino.

**4.1 Palabras claves: (de 4 a 6)****Rodeos lecheros / Fertilidad / Anestro posparto / Progesterona / eCG.****4.2 Abstract en Inglés: (Máximo 200 palabras) Res.N° 097-CS-12.**

There has been a marked decline in the reproductive index of dairy cows. The objective of this study is to characterize the state of arts in La Pampa and evaluate the efficacy of different pharmacological strategies over ovarian structure and uterine environment. The specific objectives are: i) evaluate the effects of climate factors, temperature-humidity index, body score condition and changes in diet on conception and loses rates over a year in a dairy herd; ii) study the effect of a extended treatment with progesterone (P4) over postpartum anestrous; and iii) study the effect of a extended treatment with eCG post AI over uterine environment and fertility. There will be recorded: i) conception rates at 35, 100 and 180 d post AI in a dairy herd; ii) P4 levels at 35, 52, 59 y 69 d postpartum and P4, estradiol, glucose and NEFA at 69 d; iii) P4 and PAGs levels in blood and estradiol receptors, LIF-R, IL6ST e IGFBP at 22, 29 and 35 d of pregnancy. P4, LIF, IGF-1 y PG-F2a levels in luminal uterine fluid at 35 d.

#### **4.3. Key words: (de 4 a 6)**

**Dairy herds / Fertility / pospartum anestrous / Progesterone / eCG**

### **5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES**

#### **5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA**

La Pcia. de La Pampa cuenta con un total de 986.658 vacas, 396.202 vaquillonas, 609.834 terneros y 57.138 toros en las estadísticas del Ministerio de la Producción de la Pcia. de La Pampa correspondientes al 2011. En cuanto a los rodeos lecheros, La Pampa cuenta con 172 tambos y un total de 20 mil vacas lecheras aproximadamente con una producción diaria promedio de 18 litros. En los últimos años se ha producido una concentración de vacas y predominan los tambos grandes donde la producción individual mejora alcanzando niveles de 35 litros por vaca por día. Esta tendencia es común para todo el país y la intensificación e incremento de la producción trae aparejado inconvenientes en el manejo reproductivo con disminución de la fertilidad. Aunque no existen datos regionales, informes de otras cuencas que incluye también a los tambos de La Pampa indican que las tasas de preñez promedio no superan el 15% cuando deberían acercarse al 21% para compensar las tasas de rechazo (30 a 35%) y mantener el número de vacas en ordeño. Esta problemática no es solo regional, por el contrario afecta los rodeos bovinos en todo el país y el mundo con un detrimento en la producción de alimentos. Entre los varios factores con incidencia negativa sobre la fertilidad de esos animales se encuentran la selección artificial hacia una mayor producción de leche y las condiciones de manejo y salubridad de los rodeos<sup>1,2,3</sup>. Estos tienen que mitigar algunos de los mecanismos que suprimen la reproducción, como por ejemplo anestros postparto muy prolongados, baja detección del período de celo, baja tasa de concepción por inseminación artificial (IA) y gran mortalidad embrionaria<sup>1</sup>. Entre las condiciones ambientales que pueden impactar sobre los índices reproductivos, se encuentran las temperaturas ambientes extremas, la humedad relativa, la radiación solar y la velocidad del viento<sup>3,4,5,6,7</sup>. El índice temperatura y humedad (ITH) se utiliza para estimar el nivel de estrés térmico que experimenta el ganado y en determinadas condiciones climáticas, es un buen estimador de la temperatura rectal de las vacas lecheras<sup>8</sup>. La fertilidad reducida en rodeos lecheros durante períodos de elevada temperatura, humedad o ambos, puede asociarse a bajos niveles de progesterona plasmática, demostrándose que la administración de progesterona exógena no altera la tasa de concepción total, pero resulta beneficiosa para la fertilidad en vacas con baja condición corporal durante la época estival<sup>7</sup>. Además, la tasa de concepción aumenta en vacas con altos niveles de progesterona circulante al momento de la administración de la hormona, y disminuye la pérdida de preñeces en el primer servicio por IA<sup>9</sup>.

Las vacas experimentan infertilidad cuando los nutrientes están específicamente orientados a favorecer la producción de leche. La pérdida de tejido adiposo, que ocurre como consecuencia de ella, afecta negativamente a la reproducción<sup>10</sup>. La condición corporal es una estimación del tejido adiposo que poseen, factor de reconocida importancia para la producción de leche. Si bien la escala para determinarlo varía entre los distintos países, bajos valores indican demacración y altos, obesidad. Variaciones en la condición corporal entre pariciones refleja lo que ocurre con la producción lechera. Las vacas pierden condición corporal durante el postparto<sup>11</sup>, y este balance energético negativo se agrava en la época estival<sup>12</sup>. Después del parto puede ocurrir que las vacas manifiesten una situación de anestro, de duración variable, que puede prolongarse en detrimento de la producción. El reinicio de los ciclos estrales está influenciado por la condición corporal al momento del parto y del servicio por IA, los cambios estacionales y el nivel de producción de leche<sup>13</sup>. Estas diferencias metabólicas se reflejan en los niveles de glucosa y ácidos grasos no esterificados (NEFA)<sup>2</sup>, y pueden afectar la fertilidad por mecanismos independientes al retraso de la primera ovulación post parto<sup>14</sup>. Algunas estrategias farmacológicas utilizando progesterona exógena han resultado eficientes en inducir el reinicio de los ciclos postparto e incrementar las tasas de preñez en vacas con quistes ováricos, pero fallaron en animales con proestros normales<sup>15</sup>.

En los bovinos, el período embrionario se inicia con la fertilización y culmina al final de la diferenciación, abarcando un lapso de 42 días. El mayor número de pérdidas ocurre en este período. La progesterona es indispensable para el establecimiento y progresión de la preñez, ya que regula diversos mecanismos, genómicos y no genómicos<sup>16</sup>. En rumiantes, el Interferón- $\tau$ , cuyo máximo se da el día 16, es la señal embrionaria que mantiene elevados los niveles de progesterona. Entre los múltiples genes cuya expresión en útero es regulada por progesterona, se encuentran el receptor del factor inhibidor de leucemia (LIF-R) y la proteína transductora de señales de IL-6 (L6ST) que actúa como co-receptor. LIF es una citoquina de la familia de la interleuquina 6 (IL-6), involucrada en la receptividad uterina en numerosas especies, entre ellas el ganado bovino<sup>17</sup>. Tanto progesterona como IGF-1 (por sus siglas en inglés, Insuline-like Growth Factor) y las proteínas de unión (IGFBP) que regulan su biodisponibilidad<sup>18</sup> deben hallarse en concentraciones óptimas, por debajo de las cuales el microambiente uterino se vuelve desfavorable para el desarrollo embrionario<sup>19</sup>. Evidencias demuestran que la generación de cuerpos lúteos accesorios durante la preñez inducidos por gonadotrofinas coriónica equina (eCG) post IA incrementan los niveles de progesterona, favoreciendo la preñez<sup>20</sup>, pero más estudios son necesarios para esclarecer estos efectos. La rápida detección de la preñez es fundamental en los sistemas productivos, y determinarse a través de los niveles de glicoproteínas asociadas a preñez (por sus siglas en inglés, PAGs), sintetizadas por los trofoblastos y detectables en muestras de sangre de animales preñados<sup>21,22</sup>.

De acuerdo al Anuario 2012 publicado por el Ministerio de la Producción de la Pcia. de La Pampa, la región integra el dominio de los climas templados y semiáridos. Si bien el sector nororiental del territorio está constituido por buenos suelos y registra la mayor cantidad de precipitaciones, hacia el oeste y sudoeste ambas características beneficiosas para la producción se pierden, siendo las amplitudes térmicas muy pronunciadas, típicas de los climas continentales. Un agravante de esta situación es la disminución de cabezas totales de ganado bovino en la provincia, que supera el 30% en el período 2007-2011. Por lo tanto, la implementación de estrategias apropiadas para disminuir la subfertilidad del ganado en la región se vuelven imperiosas.

## **5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)**

- J.A. Bartolome, J.J.J. van Leeuwen, M. Thieme, O. Safilho, P. Melendez, L.F. Archbald, W.W. Thatcher. Synchronization and resynchronization of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the Ovsynch protocol. *Theriogenology* 2009;72(6):869-78.
- Bartolome, J. A., Wallace, S. P., De la Sota, R. L. & Thatcher, W. W. The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 78, 1110–6 (2012).

### **5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:**

## **6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO**

### **6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO**

Problema Científico: Una característica que se ha vuelto relevante en los rodeos, tanto de carne como lecheros, es la notoria disminución de los índices reproductivos<sup>1,3,2</sup>. Dado que esta subfertilidad se da aparejada a un aumento de la producción lechera, se discute si la selección artificial hacia una mayor producción es la responsable de ello, o si el manejo y los cuidados no son los adecuados para favorecer una reproducción óptima<sup>2</sup>.

Hipótesis de trabajo: Las condiciones climáticas de la región pampeana afectan de manera singular la fertilidad de los rodeos lecheros, por lo que la caracterización de la situación actual es fundamental para la implementación de estrategias de manejo adecuadas. La mejora nutricional de los rodeos no sólo eleva la condición corporal sino que propicia el desarrollo de folículos con oocitos de calidad y favorece el establecimiento de un ambiente uterino óptimo para la fecundación y la implantación. A su vez, estrategias farmacológicas aplicadas a aumentar el contenido de progesterona plasmática en combinación con métodos de IA a tiempo fijo, puede favorecer no solo la fertilidad sino disminuir la interrupción de la preñez.

Objetivo: caracterizar la problemática de baja fertilidad en rodeos lecheros y evaluar diferentes estrategias farmacológicas sobre la fertilidad de vacas lecheras en un rodeo de la Provincia de La Pampa.

Los objetivos específicos son:

1) Caracterizar las tasas de concepción y pérdidas de gestación a lo largo del año en un rodeo lechero y evaluar factores de riesgo tales como el impacto de factores climáticos (temperatura ambiente, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento), el índice de temperatura y humedad (ITH), condición corporal y cambios de dietas.

2) Evaluar el efecto de un tratamiento extendido de progesterona sobre la reanudación de la ciclicidad postparto.

3) Evaluar el efecto de un tratamiento con eCG post inseminación artificial sobre el ambiente uterino y la fertilidad.

Resultados esperados: La caracterización de los factores que afectan las tasas de concepción y pérdidas de la gestación en rodeos representativos de la región, bajo las prácticas de manejo

actuales, nos permitirán analizar cuáles son las herramientas de las que disponemos o diseñar nuevas estrategias para mejorar la fertilidad. El tratamiento extendido con progesterona debería favorecer el retorno a la ciclicidad de vacas en anestro postparto, mientras que la eCG aplicada por inseminación artificial debería mejorar el ambiente intrauterino a favor de la preñez.

## 6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.

Actividades y metodología:

Año 1 - Hipótesis 1: Factores tales como el clima, índice de temperatura y humedad, la condición corporal, la época de parto y los cambios en la dieta afectan la fertilidad de los rodeos lecheros.

Objetivo 1: Caracterizar las tasas de concepción, pérdidas de preñez y evaluar los factores de riesgo.

Metodología: Rodeo perteneciente a tambo comercial, con 3000 vacas en ordeño, ubicado en el Departamento Trenel, Pcia. de La Pampa. Las vacas se encuentran en corrales secos y reciben una ración que combina silo de sorgo, silo de maíz, rollo de alfalfa molido, maíz molido, pellets de girasol, pellets de soja, gluten, agua y sales minerales administrada dos veces al día para cubrir los requerimientos de una vaca Holstein en lactancia (NRC, 2001). El servicio por IA es continuo con una breve interrupción del 15 de Marzo al 1 de Mayo para evitar los partos de verano.

Las vacas (n=3000) recibirán una dosis de prostaglandina F<sub>2α</sub> el día 45±7 y una segunda dosis el día 59±7 con detección de celo e IA a celo detectado. Las vacas no inseminadas serán evaluadas por palpación rectal y sincronizadas con un protocolo Ovsynch más dispositivo de progesterona. Todas las semanas las vacas que no retornan al celo serán evaluadas por preñez para determinar las tasas de concepción a los 35 días post IA y reevaluadas a los 100 y 180 días de gestación. Se registrará para cada animal la fecha de parto, fecha de servicio, estado corporal (escala de 1 a 5) al momento del diagnóstico de gestación, el tipo de dieta, los cambios de dieta, lactancia, producción de leche y días en leche, técnico inseminador y toro. Además, se registrará la radiación solar, velocidad del viento, la temperatura ambiente diaria máxima y mínima y la humedad relativa, para calcular el ITH<sup>12</sup>. Este parámetro se utilizará para estimar el efecto del estrés por calor, en los días 1 a 40 de gestación<sup>23</sup>.

Análisis estadístico: El efecto de las diferentes variables sobre la tasa de concepción a los 35 días y las pérdidas de preñez entre los días 35, 100 y 180 de gestación a lo largo de un año calendario serán evaluadas por regresión logística múltiple<sup>24</sup>. Se considerarán diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ .

Año 2 - Hipótesis 2: Un tratamiento prolongado con progesterona será efectivo en reanudar la ciclicidad en vacas de baja condición corporal.

Objetivo 2: Evaluar el efecto de un tratamiento extendido de progesterona sobre la reanudación de la ciclicidad postparto en vacas con baja condición corporal.

Metodología: Vacas Holstein en lactancia (n=30) con una condición corporal baja de 2.5 (escala de 1 a 5) y en anestro<sup>25</sup> serán asignadas al azar a dos grupos experimentales. Las vacas en el Grupo 1 (n=15) recibirán un dispositivo de progesterona y una dosis de GnRH el día 52, una segunda dosis de PGF retiro del dispositivo el día 59 y serán observadas por celo e IA a celo detectado (Control). Las vacas en el Grupo 2 (n=15) recibirán un dispositivo de progesterona el día 35 postparto y una dosis de GnRH el día 52, una dosis de PGF el día 59 y serán observadas por celo

e IA a celo detectado (Tratamiento con progesterona). Los días 35, 52, 59 y 69 postparto se realizarán ecografías y se colectarán muestras de sangre para registrar estructuras ováricas y determinar concentración de progesterona. Además, se colectará fluido folicular de folículos preovulatorios por aspiración transvaginal el día 69, para analizar el contenido de progesterona, estradiol, glucosa y NEFA, por espectrometría CG-MS o métodos enzimáticos colorimétricos, respectivamente<sup>12</sup>.

Análisis estadístico: Se estudia el efecto del tratamiento (Grupo 2) sobre el tamaño folicular, concentraciones de progesterona y estradiol, glucosa y NEFA. Si se cumplen los supuestos de una distribución normal, los datos se analizarán mediante la prueba paramétrica de análisis de varianza. Si los mencionados supuestos no se cumplen luego incluso de una transformación normal, se recurrirá a la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Se considerarán diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ . Se considerarán diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ .

Año 3 - Hipótesis 3: La administración de eCG post IA altera el ambiente uterino y estructuras ováricas favoreciendo la implantación y desarrollo del embrión.

Objetivo 3: Evaluar el efecto del tratamiento con gonadotrofina coriónica equina (eCG) post IA sobre las hormonas ováricas y el ambiente uterino.

Metodología: Vacas Holando Argentino ( $n=30$ ), primíparas, de alta producción y con 60-70 días en leche y una condición corporal baja de 2.5 a 2.75 distribuidas al azar en dos grupos experimentales. Grupo 1: Vacas ( $n=15$ ) inseminadas utilizando el protocolo Ovsynch, el día 22 post IA recibirán una dosis de solución salina (Control). Grupo 2: Vacas ( $n=15$ ) inseminadas utilizando el protocolo Ovsynch, el día 22 post IA recibirán 400 UI de eCG (Tratamiento con eCG). Los días 22, 29 y 35 de gestación se recolectarán muestras de sangre y biopsias de endometrio. Se determinarán los niveles de progesterona y PAGs en sangre y la presencia de receptores de esteroides, LIF-R, IL-6ST e IGFBP mediante PCR a tiempo real y técnicas de inmunohistoquímica<sup>17</sup>. El día 35 se recupera fluido luminal uterino para evaluar el contenido de progesterona, LIF, IGF-1 y PG-F2 $\alpha$  por inmunoensayos.

Análisis estadístico: Se estudia el efecto del tratamiento (Grupo 2) sobre los niveles de progesterona, PAGs, receptores de esteroides, LIF-R, IL-6ST e IGFBP. Si se cumplen los supuestos de una distribución normal, los datos se analizarán mediante la prueba paramétrica de análisis de varianza. Si los mencionados supuestos no se cumplen luego incluso de una transformación normal, se recurrirá a la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Se considerarán diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ . El contenido de progesterona, LIF, IGF-1 y PG-F2 $\alpha$  en el fluido luminal uterino se analizarán mediante la prueba paramétrica "t de Student". Si los mencionados supuestos no se cumplen luego incluso de una transformación normal, se recurrirá a la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se considerarán diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ .

### **6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS**

Este trabajo pretende caracterizar, en parte, la situación actual y aportar nuevas estrategias de manejo de rodeos lecheros de la región pampeana, para mejorar la fertilidad. Nos proponemos determinar los indicadores metabólicos más apropiados para la falta de retorno a la ciclicidad luego del anestro postparto así como la receptividad al embrión por parte del ambiente intrauterino. A su vez, implementamos dos estrategias orientadas a favorecer la ciclicidad y la gestación respectivamente que, de resultar efectivas, su utilización podrá extenderse sin mayores



inconvenientes a otros rodeos lecheros de la región, sometidos a condiciones similares, tanto climáticas como de manejo, dado que todos los productos empleados se encuentran hoy en el mercado.

#### 6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

##### Año 2014. Experimento 1:

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisión	x	x	x	x								
Campo					x	x	x	x				
Análisis									X	x	x	X

##### Año 2015: Experimento 2:

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Campo			x	x	x	x						
Análisis							x	x				
Publicación									X	X	x	X

##### Año 2016: Experimento 3:

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Campo			x	x	x	x						
Análisis							x	x				
Publicación									X	X	x	X

#### 6.5. FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

El proyecto promueve la consolidación de un grupo de trabajo formado recientemente y la formación de un becario en los procedimientos de laboratorio de investigación.

### **7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO**

#### **7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:**

El trabajo se llevará a cabo en el Laboratorio de Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción, que pertenece al Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam). Las instalaciones del laboratorio son las adecuadas para el desarrollo de tareas de investigación. Éste cuenta con el espacio físico suficiente para albergar a un grupo de trabajo; dispone de áreas de escritorios, equipados con computadoras e impresoras, y de un laboratorio en completo funcionamiento (mesadas, piletas, ecógrafo portátil, lupa, microscopio, platinas y baño térmicos, centrífuga de mesada, phímetro, agitadores, fuentes de poder, balanzas, freezer, heladera, etc). A su vez, cuenta con un aula disponible para seminarios. En el laboratorio LabCap perteneciente a la misma facultad, se encuentra un espectrómetro de masas acoplado a cromatografía gaseosa, un lector de ELISA y un espectrofotómetro de espectro visible/UV, todos en perfecto estado de conservación y funcionamiento, disponibles para su utilización en las determinaciones mencionadas.

La Facultad de Cs. Veterinaria de la UNLPam tiene acceso a animales en pie de rodeos comerciales. En el mismo predio donde se encuentran los animales, se dispone de una estación meteorológica donde pueden registrarse la temperatura ambiente, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento a los que está expuesto el rodeo.

## **7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD**

La determinación de hormonas por radioinmunoensayos se llevará a cabo en laboratorios de investigación biológicas que ofrezcan el menor precio de al menos tres presupuestos. Para llevar a cabo las técnicas de PCR a tiempo real e inmunohistoquímica, los integrantes del equipo de trabajo cuentan con estrechos lazos de cooperación con otros grupos de investigación, de esta y otras universidades del país.

## **7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN**

La determinación de hormonas se realiza de manera estandarizada por radioinmunoensayos electroquimioluminiscencia. La adquisición de equipos contadores de radioactividad exige áreas especialmente destinadas a manejo de material radioactivo así como la presencia de personal autorizado por la CNEA para manipularlo.

La técnica de PCR a tiempo real, por el carácter cuantitativo de los resultados que arroja, es en la actualidad una de las más poderosas para establecer patrones de expresión génica a partir de la cantidad de ARN mensajero detectado. Las técnicas de inmunohistoquímica permiten la visualización in situ de los factores estudiados, es una técnica semi-cuantitativa, pero con la capacidad de poner en evidencia en qué tipos celulares se encuentran los factores estudiados, si co-localizan, etc.

## **7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:**

El laboratorio cuenta con un subsidio PICTO UNLPam-2011-0238 recientemente otorgado, y con un proyecto PEU-UNLPam aprobado para 2012-2013-2014. Además, se desarrollan actividades en conjunto con las empresas Elastec y Biogénesis-Bagó, que subsidiaran parcialmente los requerimientos económicos de este proyecto.

## **7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total) \***

<b>Año 1</b> .....	<b>\$ 12,000</b>
Insumos.....	\$ 9,000
Bibliografía (Society for Theriogenology).....	\$ 1,600
Movilidad .....	\$ 1,400
<b>Año 2</b> .....	<b>\$ 15,000</b>
Insumos.....	\$ 11,000
Bibliografía (Society for Theriogenology).....	\$ 2,000
Movilidad .....	\$ 2,000
<b>Año 3</b> .....	<b>\$ 18,000</b>
Insumos.....	\$ 14,000
Bibliografía (Society for Theriogenology).....	\$ 2,400
Movilidad .....	\$ 1,600

\* *El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.*

## **8.1. BIBLIOGRAFÍA**

1. Santos, J. E. P. *et al.* Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Society of Reproduction and Fertility supplement* **67**, 387–403 (2010).
2. Thatcher, W., Santos, J. E. P. & Staples, C. R. Dietary manipulations to improve embryonic survival in cattle. *Theriogenology* **76**, 1619–31 (2011).
3. Ingraham, R. H., Gillette, D. D. & Wagner, W. D. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in subtropical climate. *Journal of dairy science* **57**, 476–81 (1974).
4. Vincent, C. K. Effects of season and high environmental temperature on fertility in cattle: a review. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **161**, 1333–8 (1972).
5. Gwazdauskas, F. C. Effects of climate on reproduction in cattle. *Journal of dairy science* **68**, 1568–78 (1985).
6. Villa-Mancera, A., Méndez-Mendoza, M., Huerta-Crispín, R., Vázquez-Flores, F. & Córdova-Izquierdo, A. Effect of climate factors on conception rate of lactating dairy cows in Mexico. *Tropical animal health and production* **43**, 597–601 (2011).
7. Friedman, E., Roth, Z., Voet, H., Lavon, Y. & Wolfenson, D. Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of dairy science* **95**, 3092–9 (2012).
8. Dikmen, S. & Hansen, P. J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *Journal of dairy science* **92**, 109–16 (2009).
9. Bartolome, J. a *et al.* Synchronization and resynchronization of inseminations in lactating dairy cows with the CIDR insert and the Ovsynch protocol. *Theriogenology* **72**, 869–78 (2009).
10. Lucy, M. C. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction (Cambridge, England) Supplement* **61**, 415–27 (2003).
11. Roche, J. R. *et al.* Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of dairy science* **92**, 5769–801 (2009).
12. Shehab-El-Deen, M. A. M. M. *et al.* Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. *Animal reproduction science* **117**, 189–200 (2010).
13. Crowe, M. A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **43 Suppl 5**, 20–8 (2008).
14. Garverick, H. a *et al.* Concentrations of nonesterified fatty acids and glucose in blood of periparturient dairy cows are indicative of pregnancy success at first insemination. *Journal of dairy science* **96**, 181–8 (2013).
15. Bartolome, J. a *et al.* Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows III. Administration of GnRH 23 days post AI and ultrasonography for nonpregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* **63**, 1643–58 (2005).
16. Bech-Sabat, G., García-Ispierto, I., Yániz, J. & López-Gatius, F. Therapeutic approaches to pregnancy loss of non-infectious cause during the late embryonic/early foetal period in dairy cattle. A review. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene* **45**, e469–75 (2010).

17. Song, G., Satterfield, M. C., Kim, J., Bazer, F. W. & Spencer, T. E. Progesterone and interferon tau regulate leukemia inhibitory factor receptor and IL6ST in the ovine uterus during early pregnancy. *Reproduction (Cambridge, England)* **137**, 553–65 (2009).
18. Keller, M. L., Roberts, A. J. & Seidel, G. E. Characterization of insulin-like growth factor-binding proteins in the uterus and conceptus during early conceptus elongation in cattle. *Biology of reproduction* **59**, 632–42 (1998).
19. Walsh, S. W., Williams, E. J. & Evans, a C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science* **123**, 127–38 (2011).
20. Bartolome, J. A., Wallace, S. P., De la Sota, R. L. & Thatcher, W. W. The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* **78**, 1110–6 (2012).
21. Green, J. C. *et al.* Technical note: A rapid enzyme-linked immunosorbent assay blood test for pregnancy in dairy and beef cattle. *Journal of dairy science* **92**, 3819–24 (2009).
22. Piechotta, M. *et al.* Comparison of commercial ELISA blood tests for early pregnancy detection in dairy cows. *The Journal of reproduction and development* **57**, 72–5 (2011).
23. García-Ispierto, I. *et al.* Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* **65**, 799–807 (2006).
24. Agresti, A. *Categorical Data Analysis*. 734 (John Wiley & Sons: 2002).at <<http://books.google.com/books?id=hpEzw4T0sPUC&pgis=1>>
25. Bartolome, J. a *et al.* Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology* **63**, 1628–42 (2005).