

*Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay**Veterinaria (Montevideo) Suplemento, Julio 2001*

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay Tel-Fax (598-2) 408 6174 - 409 945 - Email: smvet@adinet.com.uy



Contenido

Pág.

FACULTAD DE VETERINARIA DPTO. DOC. Y BIBLIOTECA ENTRADO y ANOTADO El 3 de Agosto de 2001. Donación
--

1) Inseminación artificial: conceptos generales -----	5
2) Congelación de semen: consideraciones generales -----	7
3) Conservación de semen: consideraciones generales -----	9
4) Inseminación artificial a hielo seco en Uruguay -----	10
5) Revolución de nitrógeno en el mundo tecnificado de la IA -----	10
6) Importaciones de semen -----	13
7) Inseminación artificial a nitrógeno líquido en Uruguay -----	13
8) Congelación de semen a nitrógeno líquido -----	13
9) Participación de la hembra en el proceso de IA -----	14
10) Fisiología de la reproducción de la hembra -----	14
11) Anestro pos-parto -----	16
12) Sincronización de celo -----	18
13) Inseminación artificial a tiempo fijo - IATF - -----	20
14) Estado actual de la IA en Uruguay -----	21
15) Diferencias tecnológicas de la IA a través del tiempo en Uruguay -----	21
16) Inseminación artificial en el futuro -----	22
Agradecimientos -----	23
Bibliografía consultada -----	23

Esta edición consta de 1600 ejemplares y se distribuye sin costo a todos los socios de la SMVU.

Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente, por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16-12-1988), el Dpto. de Documentación y Biblioteca de la Fac. de Veterinaria.

Se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

Abreviaturas:

Anestro Postparto	APP
Condición Corporal	CC
Congreso Mundial de Buiatría 2000: Punta del Este, Uruguay	CMB.2000
Cuerpo Lúteo	CL
Gonodotrofina	GnRH
Holando	Hol.
Hormona Folículo Estimulante	FSH
Hormona Luteinizante	LH
Inseminación Artificial	IA
Inseminación Artificial Tiempo Fijo	IATF
Prostaglandina	PGF2
Sincronización de celo	SC
Sistema Nervioso Central	SN
Uruguay	Urg.
Vaquillonas	Vaq.

VETERINARIA

ISSN 0376 - 4362 - Indizada en: Vet-CD/BEASTCD

Suplemento, Julio 2001

REDACTOR RESPONSABLE:

Aldo Pérez Riera, MV

CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":

Pedro Bañales, DMV

Luis Barros, DV, MSV, PhD

Daniel Elhordoy, DV, FRCVS

Jacqueline Maisonnave, DMV, PhD

María A. Solari, DV

Asesor Bibliotecológico:

Elba Domínguez

CONSEJO DIRECTIVO (1999 - 2001)

Presidente:

Dr. Aldo Pérez Riera

Presidente Suplente:

Dr. Alberto Sanner

Titulares:

Dr. Oscar Ferreira

Dr. Jorge Slavica

Dr. Eduardo Galagorri

Dra. Analía Cobo

Dr. Alvaro Fernández

Dr. Ariel Saez

Comisión Fiscal:

Dr. Ignacio Pereira

Dra. Alicia Baldovino

Dr. José M. Borrazas

CENTRO DE VETERINARIOS DE LA SMVU

ARTIGAS
Ramón Rodríguez
Lavalleja 234

DURAZNO
Ana Acuña
Artigas 375

MALDONADO
Juan C. Dibarbouré
Veterinaria Maldonado
Velázquez esq. Mitre

RIO NEGRO
Carlos De Mateo
Young, 19 de Abril 1920

SAN JOSE
Joaquín Rossi
Colón 523

CANELONES
Ramiro Díaz
Batlle 304

FLORES
Héctor García Pintos
Trinidad, Granja Roland

PASO DE LOS TOROS
Carlos Casadei
Leandro Gómez 514

RIVERA
Rafael Piazze
Luis A. de Herrera 536

SORIANO
Edgardo Bellini
Mercedes, Sánchez 811

CERRO LARGO
Alberto Sanner
Melo, Esteban Vieira 658

FLORIDA
Luis Albornoz
Luis A. de Herrera 481

PAYSANDU
Carlos Pepe
Uruguay 1189

ROCHA
Omar Pereyra
Zorrilla de San Martín 157

TACUAREMBO
Pedro Dutra
Lab. Vet. "El Campo"

COLONIA
Hugo Betancour
José Artigas s/n
Colonia Miguelete

LAVALLEJA
Amalia Villalba
Minas, Rodó 424

PANDO
Alberto Varela
Wilson Ferreira 1017

SALTO
Francisco Hermann
Washington Beltrán 69

TREINTA Y TRES
Mónica Burgos
Basilio Araújo 1038 A

RIO BRANCO
Pedro Fleitas
Virrey Aredondo

DELEGATURAS DE LAS MVU

CONAHTSA
Aníbal Ibarburu
Oscar Ferreira
Agustín Landeira

**FUNDACION "MARCO
PODESTA"**
Alvaro Olivera

AUDU
Ana Terzhagui
Eduardo Galagorry

**COMISION ASESORRA
C.J.P.P.U.**
Walter Faliveni
Julia Saizar
Alicia Baldovino

C.H.L.C.H.
Mariano Carballo
Jesús Falcón

ASOCIACIONES ESPECIALIZADAS QUE INTEGRAN LA SMVU

Comisión de Reproducción e
Inseminación Artificial (CRIA)

Sociedad de Buiatría del Uruguay

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Pequeños Animales (SUVEPA)

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Animales Silvestres (SUVEAS)

Soc Veterinaria Especialistas en Cerdos (SVEC)

Asoc. Uruguaya de Veterinarios
Laboratoristas (AUVELA)

Asoc. Vet. Esp. Protección Alimentos (ANEPA)

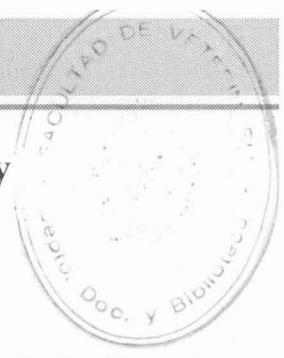
INTEGRACIÓN de COMISIONES

SEDE SOCIAL
Rafael Varela
Jorge Butthyany
Juan José Mari
Alicia Baldovino
MERCOSUR
Hugo Fontañá
Julio García Lagos
Ignacio Pereira
Eugenio Perdomo
Angela Rista
Luis Barros
Jorge Baraibar
Orgelio Cabrera
FESTEJOS
Elbio Sosa
Rafael Varela
Analía Cobo
Magela Damiani
María Raimondi
Beatriz de la Torre

FINANZAS
Oscar Ferreira
Rafael Varela
Ariel Saez
BOLETÍN Y R.R.P.P.
Luis Delucchi
Daniel Alza
M. Guadalupe
Daniel Rossi
Fernando Echezarreta
Alvaro Fernández
Viviana Cuñarro
REVISTA
María Solari
Jacqueline Maisonnave
Daniel Elhordoy
Luis Barros
Pedro Bañales

**CURSOS Y
CAPACITACION**
Oscar Ferreira
Eduardo Galagorry
Juan José Mari
Inés Sienna
Ana de León
**CULTURA Y
DEPORTES**
Walter Faliveni
Raúl Piaggio
Raquel Pérez
J. de Miquelerena
ESTATUTOS
Eduardo Galagorry
Joaquín Rossi
Gastón Casaux
Oscar Ferreira
Margarita de Miquelerena

**ASUNTOS
UNIVERSITARIOS**
Julio García Lagos
Angela Rista
Luis Alberte
Gastón Cossia
Mario Alvarez
Carlos Pereira
Gabriel Maruri
DECRETO 160/97
G. De Gregorio
Luis Delucchi
Alvaro Trinidad
REPRODUCCION
Pedro Bañales
Guillermo de Navas
A. Durán del Campo
Luis Cuenca
Gabriel Durán



Historia de la inseminación artificial en vacunos en Uruguay

Aníbal Durán del Campo¹

1) INSEMINACION ARTIFICIAL CONCEPTOS GENERALES

Por conocida, no insistiremos en detalles menores de esta tecnología; cabría sí, recordar, que el investigador ruso Ivanov, habría inseminado ovejas y vacas en 1900, que la primera cooperativa de IA fue creada en Dinamarca en 1936 y que el primer mojón importante para su desarrollo, correspondió a los americanos Phillips y Lardy, cuando en 1940 desarrollaron un diluyente a base de citrato de sodio y yema de huevo, que permitió extender el volumen de semen y prolongar su vida útil 48 a 72 horas.

A partir de allí la inseminación se desarrolla vigorosamente, al extenderse considerablemente el radio de acción de las vacas a las que podía alcanzarse dentro de un período de 72 horas.

Inseminación Artificial en Uruguay - Primera parte

En los primeros años de la década del 40, el hacendado A. Fernández Goyechea y el Dr. Juan C. Gutiérrez Fabre, realizan los primeros trabajos de IA en lanares, los que son divulgados en revistas y sendas conferencias en los salones de la Asoc. Rural del Uruguay y Federación Rural respectivamente.

También los Ings. A. Fillat y L. Larrea publican los resultados de sus trabajos en medios periodísticos, mientras los Drs. D. Jaunsolo, J. Riet y L. Echenique, investigan en el campo experimental de la Dirección de Ganadería en La Sierra, haciendo públicas sus investigaciones en el Boletín oficial de esta última.

En 1943 y 44 el Dr. D. Jaunsolo realiza trabajos en vacunos, lo que no resulta fácil, dado que hay que convencer a los hacendados no solo de sus ventajas, sino también contestar si los terneros no tendrán diferencias con los nacidos por servicio natural, si no serán más débiles, si procrearán cuando alcancen su madurez

y si el porcentaje de parición no será muy inferior, etc.

La desconfianza es tan grande, que el Dr. Jaunsolo nos cuenta que cae de improviso a inspeccionar un trabajo que llevaba a cabo uno de sus técnicos y al constatar que las vacas recién inseminadas permanecían con un toro, interroga al encargado, quien le responde que así lo ha dispuesto el patrón a efectos de «asegurar el servicio».

Hasta 1960, la inseminación en vacunos, progresa lentamente, practicándose preferentemente en Hereford y muy poco en ganados lecheros.

La mayor dificultad radica en la extracción de semen, cuya calidad, frecuentemente era muy pobre dado que por lo general, los toros eran adquiridos durante la Exposición del Prado; de acuerdo a los cánones de la época, los jurados priorizaban la belleza premiando reproductores excesivamente preparados y gordos, sobrealimentados, de vida totalmente sedentaria y clerical a la que eran sometidos, al punto de prohibírseles

compartir su vida aburrida, con las vacas del establecimiento.

Adquiridos esos toros - que bien podían pesar 800 o más kilos - se les conducía a su nuevo destino, donde se recomendaba como primer medida, disminuir paulatinamente la ración, caminarlos cada día una o más horas, prohibirles entrar al pesebre y - a efecto de que fueran tomando conciencia de que la vida no era solo comer - disponer algunas vacas - alambrado por medio - para que se fueran enterando que no solo el patrón tenía derecho a ciertos placeres sensuales.

Meses después comenzaba el adiestramiento sexual con vacas en celo sujetas a cepos especiales, donde frecuentemente el toro miraba a la vaca con indiferencia y al técnico con aire sobrador. Esa actitud no se compadecía con la realidad, desde que ya se le había engañado con una torpe vagina artificial y posteriormente, - simulando una vaca - se le hacía montar un burdo caballete de madera revestido con un cuero vacuno. (Foto 1.)



Foto 1. En relación al aire sobrador con que los toros miraban a los técnicos, la foto evidencia que aquellos no eran tan astutos como creían, dado que no solo se les engañaba con una tosca «vagina» artificial, sino que tampoco podían distinguir una vaca viva, de un burdo maniquí cubierto por un cuero vacuno.

Algunas veces intentaba abordar aquella no logrando elevarse lo suficiente, o la misma no resistía su peso y caía al suelo; solía también suceder que esa actitud indiferente del toro distrajera la atención del técnico y sorprendiendo a éste, eludiera hábilmente la vagina artificial eyaculando en la distraída vaca que no esperaba tanta delicadeza. Como alternativa, debimos hacernos prácticos en la extracción de semen mediante masaje de las vesículas seminales vía rectal, o recurrir al electroeyaculador, toda vez que hubiéramos podido convencer al dueño del toro - **y a éste mismo** - de la « inocuidad » del método, (Foto 2).

Semanas después se lograba extraer semen, que por lo general ni siquiera pasaba el exámen microscópico y por supuesto tampoco los test de concentración, morfología y motilidad. Todo ello no era de extrañar, dado que no otra cosa podía esperarse de un par de testículos recubiertos por tejido adiposo que impedían la termoregulación necesaria para una correcta espermatogénesis.

Finalmente, mejorada la calidad del semen y verificada la misma con los tests antes mencionados, se procedía a su dilución, paulatino enfriamiento y conservación en heladera a 5ª C. durante un máximo de 72 horas.

Tampoco era de extrañar que algún día el toro - convertido ahora en Don Toro - se negara a trabajar y entonces nuestros técnicos o nosotros mismos, convertidos en

verdaderos sicólogos, ensayáramos todo tipo de pruebas a efectos de convencerle que debía deponer su inamistosa actitud y colaborar con la Empresa.

Una de las tácticas mas usadas y exitosas, era aquella que los propios técnicos acostumbraban a utilizar en su vida privada y recordando que no hay mejor forma de incentivar la libido, que cambiar de objetivo, sustituían la vaca del cepo por otra más atrayente y de no tener suerte, las vacas en celo volvían al rodeo sin ser inseminadas.

La inseminación - hasta comienzo del 60 - se hacía a vaginoscopio, depositando el semen en el primer tramo del cervix y nos ruboriza reconocer, que sin desconocer la existencia de la técnica por vía rectal, carecíamos de práctica suficiente como para ensayarla. La falta de esterilización del vaginoscopio nos aumenta el rubor, pero debemos reconocer que era prácticamente imposible llevarla a cabo entre vaca y vaca, haciéndolo solamente al fin de cada jornada.

Tiempo después solicitamos al colega y amigo argentino Dr. E. A. Cano, que nos enviara a uno de sus técnicos, cumpliéndose el aprendizaje en un tambo de San José, constituyendo ello un paso muy importante, que muy pronto se expandió por todo el país.

Otro de los problemas - quizás no menor - era la prolongada duración de los trabajos, derivado en parte por las dificultades en el manejo del toro y al hecho

de desconocer en parte el mecanismo fisiológico - estado corporal, nutrición y amamantamiento - que determinaban tan largo período de anestro, toda vez que eran las propias vacas las que tenían el autocontrol de su actividad sexual.

No terminaban allí los inconvenientes: los técnicos - generalmente muy jóvenes - aparte de saber andar a caballo y extraer semen - debían evaluar éste, preparar el diluyente, diluir aquel, esterilizar material, manejar planillas etc. y también permanecer enclaustrados semanas o meses dentro del establecimiento. A veces con algún pretexto conseguían se les condujera al pueblo más cercano y otras, lograban controlar su ansiedad dentro del mismo, lo cual por lo general no era bien visto por los dueños, determinado la suspensión del trabajo por «indisciplina partidaria».

En una ocasión realizaba el tacto en un establecimiento en el que había trabajado uno de mis técnicos; a los pocos minutos constaté que eran muchas las «vacías» y al sentir la mirada del patrón fija en mí, dije nerviosamente «: este muchacho no preñó nada», a lo que aquel muy seriamente contestó « no creas, la muachacha de casa está embarazada».

Si dificultades presentaban los trabajos en los establecimientos, muchos mas los había en el caso de hacerlos en forma cooperativa, donde opiniones y dudas eran tan diversas.

Nuestro productor rural era - y sigue siendo - individualista y era todo un desafío ponerse de acuerdo para seleccionar el toro, compartir gastos, honorarios etc.

En 1957 un grupo de ocho tamberos de San Ramón habían adquirido un toro Holando; tenían inseminador y requirieron nuestro asesoramiento.

Comenzamos reuniéndonos cada semana en San Ramón para organizar el trabajo, fijar gastos, honorarios etc.; percibí que había varios tamberos muy comprensivos y otros no tanto, por lo que sugerí reunirme solamente con los tres mas capacitados que se encargarían después de trasladar al resto lo que se resolviese. El tema económico era el mas discutido, por lo que hice notar que si cada uno vendía uno de sus toros, por ese concepto, mas el ahorro de la ración correspondiente, podría pagarse el trabajo.



Foto 2. Extracción de semen a campo: vaca y toros ariscos, cepo primitivo y mínimas condiciones de laboratorio, obligaban a nuestros técnicos a convertirse en guapos y habilidosos.

A la siguiente reunión pregunté al triunvirato como había caído mi proposición, contestándoseme que salvo en un caso, el resto había estado de acuerdo; ¿ que objetó el hombre? pregunté.

Dijo que el toro no le gustaba nada, porque el mismo piquete era compartido por éste y su caballo a quien le ponía la ración; si aquel se la robaba, que se arreglara con este último.

Una Cooperativa interesante - quizás la primera de ese tipo -se formó en 1962 entre seis Cabañas sanduceras: El Timbó de Liuzzi, Sta. Inés de Pereira Iraola, Sta Ma. del Queguay de J. D. Durán, El Cardo de Elorza, Rodríguez Noya y Los Molles - los que habían adquirido dos Poll Hereford en Argentina y otro en el Cardo.

Los toros fueron estacionados en Sta. María - no estaba solucionado el problema del congelado - por lo que se trabajaba con semen fresco extraído día por medio y debidamente diluido, era transportado en un Ford A por el técnico José A. Horta, quien recorría 160 km diarios. El semen a Los Molles ubicado a 90 km era enviado a través de la Agencia Copay.

El trabajo se mantuvo hasta 1966, cuando se decidió suspenderlo dada la abundante descendencia que habían dejado los toros, habiéndose inseminado mas de 2000 vacas con un promedio de 60/65% de preñez.

2) CONGELACION DE SEMEN: CONSIDERACIONES GENERALES

En 1949 en Cambridge, los investigadores ingleses Polge, Smith y Parkes habían logrado cierto éxito al congelar células vivas.

En 1952, los mismos autores consiguen congelar semen de gallo y toro; ensayos anteriores habían fracasado en virtud de que el agua de constitución del espermatozoide - 87% - y aquella que integraba el propio diluyente, congelaban y sus finos cristallitos destruían la integridad celular.

En realidad, el aspecto físico-químico de la congelación no era otra cosa que el pasaje de un estado líquido a sólido, para el que debían tomarse ciertas precauciones.

El azar hizo que por error se incluyera inadvertidamente glicerol en uno de los diluyentes ensayados, el que, actuando tanto fuera como dentro de los espermatozoides, evitaba la formación de los cristallitos a que hacíamos referencia. Por supuesto que no todo fue tan simple y hubieron de ensayarse cientos de experiencias para dar con la mejor concentración de glicerol, los elementos químicos que debían acompañarle, la velocidad de enfriamiento etc.

En 1952, en nuestra Facultad disertó el Dr. Polge y poco después el Dr. Parkes, quienes ratificaron el éxito de sus investigaciones, anunciando que en Inglaterra ya se inseminaba con semen congelado.

En 1954 en usufructo de una beca otorgada por FAO, tuvimos oportunidad de observar todo el proceso de congelación en Nueva Zelanda y Australia. Vueltos a Uruguay, mas allá de los informes correspondientes y algunas publicaciones, comenzaron a surgir las primeras trabas para comenzar la operación «congelación de semen» y ello, agregado a cierta dosis de pesimismo, nos inhibió de insistir sobre el tema. Nos desmoralizaba volver otra vez a la ardua tarea de convencer a los productores en desarrollar una tecnología tan revolucionaria e insólita, máxime recordando las enormes dificultades que se habían tenido para introducir la inseminación a semen fresco años atrás. Ignorábamos así mismo, si el país estaba en condiciones de proveernos todos los elementos necesarios para el desarrollo de la técnica y con el dolor del fracaso volvimos a nuestros trabajos de inseminación a semen fresco.

En 1956 recibimos la visita de dos químicos - Aníbal Alvarez y Ruben Novaro - quienes nos expresaron que tenían todos los elementos necesarios para congelar y requerían nuestro asesoramiento.

En síntesis, la operación comenzaba con la extracción de semen, la evaluación del mismo, su dilución en un medio glicero-lado, enfriamiento durante 4 horas - período de equilibración -, pipeteado en ampollas de 2 mls. que se cerraban a la lámpara y luego, dispuestas en canastos especiales - inmersión en alcohol rectificado al 95% a 5°C. contenido en grandes cubas de acero, el que, con el agregado de pequeños trocitos de hielo seco se

iba enfriando hasta congelar el material seminal. Terminada la operación, el semen congelado pasaba a conservarse en hielo seco en grandes heladeras.

En esta forma, pero con instrumental de mucha precisión comenzó a congelarse en el extranjero.

Congelación de semen en Uruguay: primeros intentos

Consecuencia de aquella visita de Alvarez y Novaro, surge la formación de una Empresa de congelación - Banco de Semen Congelado - BASEMCO. Tarea ímproba fue informar, interesar, responder, convencer a un sector rural que mucho había costado integrarlo a las ventajas de la inseminación con semen fresco y que aún no todos habían aceptado. Reaparecieron entonces las dudas, las preguntas insólitas, las inevitables referencias a costos, porcentajes de preñez etc.

Se publicaron artículos informativos en revistas agropecuarias, pero fue necesaria toda la fe de Novaro para que día a día y en los fines de semcon los personajes influyentes de la Cabaña Nacional interesándolos en el tema.

Tampoco fue fácil obtener el material especial que necesitábamos para congelar - termos de cuatro litros, artículos de vidrio, termómetros para bajas temperaturas, jeringas etc. Provisoriamente se había logrado un salón en el Laboratorio Galien, que disponía de ciertas comodidades y un soplete que permitía cerrar a la lámpara las ampollas conteniendo el semen.

Pero no era todo conversar: también debimos realizar - a nuestro costo - demostraciones prácticas, visitar establecimientos, extraer semen, congelar y mostrar el semen, que la verdad sea dicha, generalmente resultaba de muy poca motilidad.

La primer gran dificultad la encontrábamos en el estado de los propios toros a los que debíamos extraer semen y que ya comentáramos en el capítulo anterior.

Sin exageración podemos afirmar que era abismal la diferencia entre aquellos pertenecientes a Centros de Toros que habíamos visto en el extranjero, con plenas garantías sanitarias, criados y man-



Foto 3. Moderno centro de congelación: fondo a la izquierda, el toro ya preparado para la extracción de semen, el que se introduce rápidamente al laboratorio a través del amplio ventanal. Sobre las mesadas de éste, se dispone de: computadora, microscópio, instrumental para la evaluación del material, envasadora automática de pajuelas, etc.

tenidos exclusivamente para producir semen y los que nos presentaban a nosotros, de incierto estado sanitario, excesivamente gordos, no adiestrados a la vagina artificial y muchas veces tan ariscos, que para salvaguardia de quien debía extraer semen, debíamos interponer un poste tras el que, el técnico pudiera guarecerse del ataque de algún «bicho» malhumorado, (Foto 3).

Al no disponer de un Centro de Toros, el trabajo de laboratorio muchas veces debía hacerse en pleno campo y la evaluación del semen se reducía generalmente a examinar su apariencia y motilidad microscópica.

Si la congelación que hacíamos en el Laboratorio era bastante primaria, la artesanal en el medio rural lo era mucho más. Los tiempos y ritmos de enfriamientos y congelación eran aproximados, el período de equilibración mas o menos, al no tener gas para cerrar ampollas debimos usar tubos de vidrio donde depositábamos 2 ml de semen y obturábamos con tapones de corcho. Las heladeras eran las que podían proporcionarnos los cabañeros y allí, entre jarras de leche, mamaderas, refrescos y cerveza, nos debían compartir algún terrenito donde disponer tubos, diluyentes, semen, ma-

traces y probetas. Si había niños en la casa la heladera se abría constantemente y el semen sufría mas de la cuenta.

La congelación era la obra más dificultosa: las cubas de acero que habíamos visto en el extranjero fueron sustituidas por termos de cuatro litros en el que disponíamos el alcohol y las ampollas o tubos, enfriando al «mas o menos», midiendo la temperatura con un termómetro manual. La operación duraba unas dos horas y muchas veces « a la luz mortecina de una farol» como decía Gardel, terminábamos de congelar en la madrugada. Finalmente, con mucho cansancio y mas angustia, - a efectos de dormir tranquilos - decidíamos descongelar un tubo y observar el semen al microscopio y fueron muchas las veces que, «.....» dormimos intranquilos».

La realidad era dolorosa: tiempo y dinero perdido, desaliento del cabañero, sacrificio sin compensación, el dolor del fracaso y Novaro tratando de explicar lo inexplicable.

También quedábamos mal con los espermatozoides: les habíamos prometido liberarlos del monótono encierro testicular para vivir una eternidad y solo le habíamos dado una enfermiza vida de pocos minutos.

Todo estas desventuras no estaban exentas de anécdotas indefinibles entre trágicas o risueñas.

En algún momento debimos congelar a un toro Holando que había sido vendido por el Dr. Pastorino para Brasil, con el compromiso de extraerle un par de eyaculados; hacia allí nos dirigimos y llegados a Yaguarón, fuimos conducidos unos 50 kilómetros, hasta un tambo donde todo estaba preparado para trabajar. La operación se había organizado para que pudiéramos tomar el motocar que volvía a Montevideo cuatro horas mas tarde.

Comportándose como buen compatriota, en muy pocos minutos el toro nos regaló tres excelentes eyaculados. Ya en el motocar, con mínimas comodidades - y dando explicaciones a diestra y siniestra con quienes compartíamos el camarote - nos tocó manejar el semen diluido en probetas y repartirlo en termos enfriados.

En el Laboratorio, ansiosamente nos esperaban Alvarez y Novaro con todo preparado para congelar de inmediato; previamente les había adelantado que el material era de primera calidad.

Finalizada la congelación - ya de madrugada - resolvimos como siempre, «dormir tranquilos, « procediendo a descongelar el primer tubo: ni un solo espermatozoide, vivo o muerto, navegaba bajo la lente del microscopio, por lo que repetimos la operación con otros dos tubos con igual resultado.

Sobre la mesa de mármol, aún descansaban dos probetas vacías en las que habíamos traído el semen diluido en una y el diluyente en otra; de una de ellas extrajimos una gota que, ansiosamente dispusimos bajo la lente del microscopio: millones de espermatozoides retozaban alegremente:

¡ Habíamos tirado el semen y congelado el diluyente ! Había tenido una jornada de casi 24 horas seguidas, cansancio y esperanza acumulada y sin embargotampoco esa noche pudimos dormir tranquilos!

Congelación en Pellet o pastilla

En 1964 en el 5º Congreso Mundial de Reproducción e IA en Trento, los investigadores japoneses Nagase y Niwa, presentaron un revolucionario método de

congelación en pellet o pastilla. Recibida la publicación, leímos el trabajo varias veces; el procedimiento parecía tan sencillo que llegamos a sospechar que los japonesitos habían ocultado algún detalle. ¿ Como una gota de semen diluido en un diluyente glicoglicerolado, agregado a yema de huevo y depositado sobre agujeritos practicados en la superficie de piedras de hielo seco, congelaban en segundos, conservando intacta la movilidad de millones de espermatozoides ?

Semanas después nos visitó el colega Cano de Buenos Aires y leímos junto al trabajo: parecía no haber duda en cuanto a la corrección del procedimiento utilizado y decidimos - él allá y nosotros acá - reproducir la experiencia.

En setiembre 1965, con el colega Arnoldo Echavarrén concurrimos a la Cabaña El Sauce que administraba el Ing. Rodríguez Seré, a efectos de congelar semen a un Poll Hereford; extraído el mismo y comprobada su buena apariencia y motilidad microscópica, el semen fue diluido y finalizado el período de equilibración, comenzamos con una pistola de inseminación de lanares a depositar pequeñas gotitas del material en agujeritos practicados con una lezna sobre la superficie del hielo seco.

Finalizada la operación, con la ansiedad que es de imaginar, descongelamos una pastilla disponiendo una gota a consideración del microscopio: imposible olvidar el maravilloso espectáculo que millones de espermatozoides nos brindaban corriendo y brincando alegremente. ¡ Que diferencia con aquellos espermatozoides aburridos que estamos acostumbrados a ver! ¡ Por fin cumplíamos con la promesa que le habíamos hecho en cuanto a hacerlos sobrevivir más que sus propios progenitores!

Quizás en ese momento no nos dimos cuenta de la importancia del hallazgo, el que poco después fue publicado en la Propaganda Rural, divulgándose entre colegas especializados provocando un explosivo aumento de la inseminación en el país y también en Argentina a través del colega Cano.

Ignorábamos sin embargo los graves problemas que tendríamos para conservar el semen en Bancos y también provisionar con hielo seco a los termos establecidos en el área rural.

En cuanto al período de conservación del semen diremos que en 1992, en el establecimiento San Ramón de Don R. Chouy en Salto, con su autorización y también la del Ing. Rodríguez Seré, inseminamos con ese semen que llevaba 27 años de Banco, un lote de vacas con un porcentaje de retención del 58%. Dicho semen sigue aún en conservación, pero quizás nos sea difícil realizar personalmente otra prueba cuando aquel cumpla sus 50 años de encierro.....

3) CONSERVACION DE SEMEN : CONSIDERACIONES GENERALES

Consecuencia de la congelación y simultáneamente a ella, surge la necesidad de conservar el semen sin que por ello, pueda perder sus características; se sabía sí, que por debajo de los 60° C bajo 0, el semen comenzaba a deteriorarse. El mismo hielo seco usado para congelar - menos 69° bajo 0 -, fue requerido para conservar el material seminal enfriando a igual temperatura alcohol rectificado a 95%.

Cualquiera fuera el método utilizado, fue necesario construir amplias heladeras compartimentadas de modo de acondicionar en canister metálicos, los rieles conteniendo las ampollas o tubos.

Las primeras investigaciones llevadas a cabo en el extranjero demostraron que tan baja temperatura y tiempo de conservación, no afectaban la estructura y vitalidad espermática; también que el semen conservado durante 10 meses mantenía ligera supremacía en cuanto a fertilidad sobre aquel recién congelado y finalmente, que el máximo de fertilidad podía lograrse a los tres años de estacionamiento.

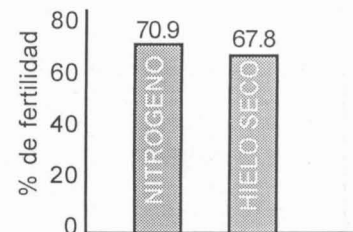
De cualquier manera, fue dable constatar que la conservación en hielo seco era onerosa, dada la cantidad de hielo seco necesario y la mano de obra convocada para molerlo, que las heladeras ocupaban mucho espacio y la temperatura alcanzada estaba muy próxima a la del deterioro del semen. No pudo extrañar entonces, que alrededor de 1960 se comprobara que el nitrógeno líquido - menos 197° C. - podría resultar más económico, necesitar menos mano de obra, ocupar menos espacio, ser más higiénico y ofrecer mayor seguridad para el manejo del semen.

Había sí, que diseñar y construir envases de acero inoxidable - termos o biostatos y canister para depositar las ampollas de semen, pero dada la eficacia de la industria americana y francesa, el problema quedó prontamente solucionado con gran variedad de distintos modelos de biostatos: termos banco, para congelar, inseminar y/o transportar nitrógeno. Por lo demás, pudo comprobarse que la muy baja temperatura de éste, tampoco deterioraba la integridad celular ni su vitalidad y en comparación con semen sometido a seis meses de conservación en hielo seco, lograba un ligero mejor porcentaje de fertilidad, pero que llegaba a un 6. 9%, cuando aquella llegaba a cinco años, (Gráfica 1).

Conservación de semen a hielo seco en Uruguay

Por fin, luego de mucho luchar habíamos conseguido congelar semen, no solo en forma práctica, sino con resultados promisorios, determinando un verdadero incremento de la inseminación. Estábamos en 1967 y teníamos derecho a ser optimistas, pero ignorábamos que lo más difícil de la telenovela estaba por aparecer.: ¿ dónde y cómo conservaríamos las pastillas de semen ? Conocíamos como se hacía en USA y otros países, pero en ambos casos el semen se congelaba en ampollas cerradas a la lámpara, mantenidas en los primeros tiempos en hielo seco y luego en nitrógeno.

Nuestro caso no era el mismo, pues congelábamos en pellets y no disponíamos de nitrógeno, ni biostatos; la única alternativa era hacerlo en hielo seco, modelo del que no teníamos ningún asesoramiento.



Gráfica 1. Diferencia en fertilidad de semen conservado en hielo seco y nitrógeno líquido.

Los primeros congelados los fuimos guardando en pequeños envases de chapa que depositábamos en termos de boca ancha rellenos con hielo seco molido.

Colmada la capacidad de éstos, debimos construir heladeras con espesas paredes de espumplast, dentro de las que disponíamos en un marco metálico dividido en 81 espacios, otros tantos tubos de vidrio especialmente construido de 60 centímetros de altura por 6 de diámetro, destinados a alojar los envases de semen.

Para facilitar la tarea, dentro de los tubos habíamos diseñado una especie de ascensores integrados por una fina varilla metálica a la que habíamos soldado pequeñas chapitas de metal que hacían de piso para los envases.

Tiempo después nos percatamos del enorme gasto y trabajo que nos causaba moler tanto hielo seco y resolvimos agregar en la heladera alcohol rectificado que mantendría igual temperatura que aquel. Días después debimos comenzar un trabajo de inseminación y constatamos que la motilidad del semen no respondía a la calidad que tenía en el momento de ser congelado; resultado que se repitió con otras muestras evaluadas.

Al final tuvimos que concluir que los vapores de alcohol se colaban a través de los tapones de algodón de los envases y deterioraba el semen. Reforzamos entonces los tapones, disponiendo en las bocas de los tubos grandes, diversos elementos - algodón, género, corcho etc.- los que tampoco dieron resultado. Finalmente ensayamos pelotas de goma, que se tomaron tan a pecho su misión, que solo rompiendo el tubo de vidrio podía accederse al semen.

Volvimos otra vez al hielo seco molido - sin alcohol - pero ¿cuanto semen se había deteriorado y cuanto debíamos reponer a nuestro costo?

A fines de ese año - 1967 - disertó en la facultad el profesor alemán Hans Merk, a quien invitamos nos diera una opinión sobre nuestro Banco ubicado ahora en el Laboratorio Aster. Luego de observado atentamente y realizadas algunas preguntas, nos felicitó por la originalidad y elegancia de los mapas de semen dispuestos en las paredes y con seriedad germana me espetó: « para fin de año no tendrá un solo espermatozoide vivo».

Cada vez que se subía un ascensor para sacar un envase de semen, varios de ellos quedaban expuestos algunos segundos fuera de la línea de frío y la repetición de la operación repercutía en forma totalmente negativa para los pobres espermatozoides.

Costaba y dolía comprender la situación, días después el Dr. C. Caorsi nos pedía le enviáramos un semen que habíamos congelado y manteníamos en custodia desde meses atrás; semanas después, sin una queja, amable, cordial y caballerescamente, nos solicitó inutilizáramos el semen.....

Otra vez a la lucha, a reponer el semen, a disculparnos. ante los cabañeros.....

4) INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A HIELO SECO EN URUGUAY

No habíamos solucionado totalmente el problema de la conservación, cuando algunos clientes de cuyos toros habíamos congelado semen nos convocaron para inseminar.

En 1957 habíamos congelado en ampollas, semen de un toro Holando adquirido entre varios tamberos; los mismos tenían su propio inseminador, de modo que nuestra labor se concretó a enviarles 60 ampollas de semen y durante varias semanas remitirles hielo seco.

El porcentaje de retención fue solamente discreto, pero **en 1958 nacieron en el país los primeros terneros de semen congelado.**

Pocos meses después, desde Casupá se nos convocó para inseminar 70 vacas Hereford de cría; meses antes con electroyaculador habíamos obtenido - y congelado - semen de un toro muy viejo imposibilitado de montar debido a trastornos de la articulación coxo-femoral.

El trabajo se prolongó en demasía porque la mayoría de las vacas estaban recién paridas y entraron en celo tardíamente lo que no impidió que al tacto rectal comprobáramos un buen porcentaje de preñez.

Cuando - de acuerdo al presupuesto aceptado - remitimos la cuenta al cabañero, el costo del hielo seco y sus tres envíos semanales, superaron el precio establecido por vaca preñadas.

El productor no estaba desconforme con el resultado, pero nos solicitó eliminaríamos el semen....., otro Caorsi mas....

A partir de 1965 - con el semen congelado en pastillas - la inseminación tomó nuevo impulso y también buenos resultados, pero el costo del hielo seco y el mantenimiento del semen desde el laboratorio, no dejaban de significar una constante preocupación y un factor de encarecimiento de los trabajos.

5) LA REVOLUCION DEL NITROGENO EN EL MUNDO TECNIFICADO DE LA INSEMINACION

En capítulos anteriores hicimos mención a la revolución provocada por la aparición del nitrógeno, el que ya había desplazado totalmente al hielo seco.

Mencionamos así mismo como aquellos países altamente tecnificados habían enfrentado y solucionado el problema, no solo desde el punto de vista técnico, sino también industrial, produciendo a requerimiento de aquellos, máquinas, instrumentos, envases de semen y modelos de biostatos.

En esas condiciones la inseminación, no solo creció considerablemente, sino que los mismos productores coincidieron en expresar que renunciarían a producir leche si por alguna circunstancia no pudiesen inseminar sus vacas.

Revolución del nitrógeno y los biostatos en el Uruguay

En realidad, esta fue una pequeña cadena de revoluciones, porque incluye el problema del nitrógeno, los biostatos, la importación de semen y hasta la misma mecánica de la inseminación,

Aunque con alguna dificultad, trataremos de destrabar y recordar todos estos acontecimientos que por haber comenzado hace ya casi 50 años, se nos hace difícil establecerlos en forma cronológica.

Un problema llamado nitrógeno líquido

El nitrógeno a temperatura ambiente es un gas natural que integra junto al oxígeno, argón, y trazas de otros gases, el 28, 78 y 0.93 % respectivamente del aire de la atmósfera y mediante deshidratación

y presión se transforma al estado líquido alcanzando una temperatura de menos 197° bajo 0.

En 1964, desde las entrañas de un barco desembarcó en Montevideo el primer biostato con semen consignado a un productor; como la travesía había llevado casi tres semanas, resultaba imperioso reponer nitrógeno, o pasar las ampollas de semen a hielo seco.

Afortunadamente nos enteramos que en Rondeau 2423 estaba instalada la Compañía Industrias Nacionales Oxígeno, Caños y Acero S.A. - **CINOCA**, la que, mediante deshidratación del aire producía oxígeno, resultando como subproducto cierta cantidad de nitrógeno, muy poco utilizado por la industria.

Allí tuvimos la oportunidad de conocer al Sr. Paladino, encargado de producción de dicha planta, quien no solo nos proporcionó ese nitrógeno, sobrante, sino que posteriormente, tuvo en el desarrollo de la inseminación una importante contribución industrial y comercial.

Esa circunstancia nos reveló la posibilidad de pasar el semen conservado en hielo seco a nitrógeno, lo que como veremos, no fue muy fácil dada la tradicional burocracia de aquel entonces.

La llegada de ese termo y la posibilidad de importar semen produjo entre los cabañeros gran expectativa, traducida así mismo en múltiples gestiones que dieran marco legal a las mismas, pero el panorama en ese aspecto era verdaderamente desolador.

No había legislación referida a la importación de semen; la importación de biostatos no estaba prevista en el Banco República por carecer del rubro que el Banco exigía para cada artículo a importar.

De llegarse a regularizar ambas situaciones, el país no tenía ninguna planta de producción de nitrógeno capaz de abastecer los Bancos de semen.

En 1965, el Ministerio de Hacienda había liberado de impuestos la importación de semen promoviendo la introducción de éste, que sumados a los «importados» a través de la frontera con Brasil, mas las necesidades de los dos únicos Bancos de plaza - Banco de semen ADdelC y Basemco, comenzaron a presionar sobre la escasa producción de nitrógeno. Como no podía importarse biostatos,

pero sí, semen, muchos productores comenzaron a importar pequeñas partidas de semen, entrando los biostatos libremente, a título de envase de aquellos, lo que nos recordó el viejo cuento de aquel loco que pasaba permanentemente por la aduana carretillas de tierra, hasta que preguntado que quería hacer con tanta tierra dijo: «nada, lo que me interesan son las carretillas».

En 1968 ya habíamos pasado a biostatos todo el semen conservado en hielo seco, dando fin a un período de enorme preocupación y no pocos accidentes.

No era raro muchas veces, ante urgente necesidad de nitrógeno, correrse hasta la frontera Rivera Santana para conseguirlo.

Un episodio insólito se produjo en Noviembre de 1971, cuando la máquina procesadora de oxígeno de CINOCA tuvo un desperfecto y quedó varios días sin trabajar. Por mas que el amigo Paladino nos alentaba cada día diciéndonos que muy pronto estaría en marcha, el nivel de los cinco termos que poseía el Banco ADdelC se encontraba peligrosamente bajo.

Como primer medida suspendimos los trabajos de inseminación en los establecimientos al no poder alimentar los biostatos correspondientes.

Un sábado, medimos el nivel de nitrógeno de todos los termos emparejándolos a 6 centímetros; de no tener respuesta de Cinoca, el lunes iríamos a Rivera.

El lunes temprano estábamos en el Banco midiendo el nitrógeno de cada termo: uno de ellos albergando 4880 pastillas ¡estaba seco!

Angustia ¿qué toros» habrían fallecido en el accidente? ¿A qué cabañero tendríamos que extender nuestras condolencias? Otra vez a reponer semen.

Con la inquietud que era de imaginar, exploramos el mapa correspondiente al termo siniestrado; la pérdida más importante e irreparable, era la del semen de un toro Holando - que el dueño creía era el mejor del país -. Cuatro años atrás, a dicho reproductor ya muy viejo y con serias lesiones óseas y articulares del tren posterior, le habíamos sometido a varias sesiones de electroeyaculación, que nos había permitido hacer un banco de mil y pocas pastillas, con las que el dueño ha-

bía planificado hacer un programa de inseminación durante varios años con vaquillonas especialmente seleccionadas para el caso. En uno de los termos aún a salvo, teníamos semen de un hijo de dicho toro, pero sabíamos que ello no iba a conformar al productor.

Para eliminar todo tipo de presiones, comunicamos a la ARU la pérdida tenida y a aquel remitimos copia de la misma; por supuesto que ello determinó perder con aquel - y para siempre - toda actividad laboral.

El accidente puso en evidencia la necesidad urgente de contar con máquinas productoras de nitrógeno y durante meses asesoramos honorariamente al mismo Paladino y al Cdr. Barrios, sobre el porvenir de la inseminación en el país, la urgente necesidad de contar con nitrógeno, de cuya escasez dependía el desarrollo de la misma.

Finalmente, el 8.7.1972 en la calle Martín García se inauguró la primer Empresa diseñada para producir nitrógeno - **NITROL S.A.** - y fue tanto el impulso que dio a la inseminación y conservación de semen, que poco después la misma Empresa debió instalar otra máquina melliza.

Posteriormente, la Cía sueca Aktiebolaget Gas Accumulatie - **AGA** - establecida en 1946, derivó en 1977 su producción de oxígeno, también a nitrógeno, utilizando para ello sofisticadas máquinas autocontroladas, que determinaron el cese de producción de Nitrol.

En la actualidad, AGA es la única productora de nitrógeno del país, produciendo un promedio de 200 000 metros cúbicos mensuales - 260 000 litros - de los que unos 12000 son derivados a la industria de la inseminación.

Por fin, la historia del nitrógeno quedaba resuelta, pero nitrógeno y biostatos estaban unidos por un común cordón umbilical y la existencia de éstos en el Uruguay aún estaba en su etapa embrionaria.

Un problema llamado biostato

Ya hemos tratado algunos aspectos referentes al problema biostato, su primer aterrizaje en el país, su «importación» a través de la Aduana y también «acompañando como príncipe consorte» la importación de semen.

De cualquier manera, la cantidad de biostatos así introducidos, no contemplaba ni de cerca lo que la industria de la inseminación - en plena efervescencia - requería.

El Banco República no tenía en su rubro el número correspondiente que debía poseer cada artículo de importación; figuraba sí, el número con el que podían importarse termos, pero no de este tipo denominado biostato. Tras largas tramitaciones, admitió conceder el número que correspondiese siempre y cuando recibiese del Ministerio de Ganadería y Agricultura un «certificado de necesidad». Afortunadamente el Ministro Dr. Carlos Frick era un productor rural y rápidamente pudo convencer a las autoridades del BROU, de la imperiosa necesidad de disponer de biostatos que permitieran continuar el vigoroso ritmo impuesto por los productores al progreso genético de los ganados uruguayos.

Fue así que, - alrededor de 1968/70, el BROU concedió el número **45027 al rubro biostato** habilitando su importación.

A partir de allí, aunque con los inconvenientes derivados de la falta de experiencia de los importadores en un rubro que no conocían y la de los mismos técnicos que debíamos asesorar sobre marcas, modelos, fabricantes etc, fueron llegando poco a poco distintos tipos de biostatos y en 1974, Banco de Semen ADdelC e Ismael Stirling importaron 100 biostatos de muy distintas modelos de forma de contemplar las necesidades de plaza, (Foto 4).



Foto 4. «El reposo del guerero». Termos disfrutando su vacación invernal.



Foto 5. Termos Bancos; adelante termos de inseminación flanqueando las simpáticas lecheritas MVE A 300.

De esa importación destacamos el primer Biostato Banco llegado al país, con capacidad para guardar mas de 100.000 pastillas y los famosos **MVE A300**, que si bien podían utilizarse para conservar semen, prestamente fueron convocados como el elemento ideal para el transporte de semen y/o nitrógeno, por lo que el ingenio popular rápidamente los bautizaron como las «lecheras», permanentes y simpáticas viajeras en la bodega de las recordadas unidades de ONDA, (Foto 5).

Estas «lecheritas»- verdaderos Ford A de la inseminación - se transformaron al comienzo de su introducción al país, en fuente de intriga de los pasajeros que preguntaban a guardas o conductores de

ómnibus, de que se trataba y que éstos, con un dejo de sapiencia especial contestaban : «**allí va leche de toro**», (Foto 6).

Y ello nos recuerda la diferencia de cultura rural existente entre Nueva Zelanda y Uruguay; estando en 1954 en aquella, frecuentemente debíamos tomar el ómnibus para trasladarnos de Ruakura donde estudiábamos y residíamos, a la cercana ciudad de Hamilton .

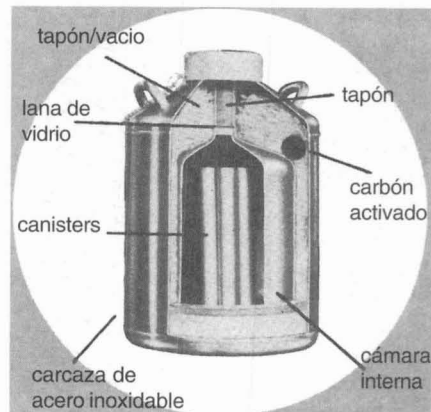


Foto 6. Interior de un crióstato (termo).

La inseminación con semen congelado recién comenzaba y no era raro que al lado del conductor viajara también algún biostato y más de una vez - vimos y oímos - como alguna «viejita» con cara arrugada y sombrero coronado por alguna florcita aburrída, preguntara al conductor que semen llevaba allí. Pero lo

asombroso del caso resultaba, que la curiosa pasajera no solo era informada al respecto, sino que también alguna vez intercambiaban comentarios o aún discutían sobre las bondades del toro que «producía esa leche».....

6) IMPORTACION DE SEMEN

La posibilidad de importar semen no fue un problema menor y hubieron de transcurrir varios años, docenas de notas, discusiones, argumento, decretos y reglamentaciones, para alcanzar el objetivo que permitiese a la cabaña Nacional y al país, disponer de herramienta tan fundamental para el mejoramiento genético de sus ganados.

Dada su extensión y el enorme «papeleo» generado, solo mencionaremos los hechos más importantes.

El 10.09.1956, el suscrito, perteneciente a la División Fomento de la Dirección de Ganadería, en previsión del desarrollo de la comercialización internacional de semen, remitió nota al Director Dr. R.Lombardo, alertando sobre la necesidad de incluir determinadas medidas en relación a problemas económicos, zootécnicos y sanitarios que podrían provocar la importación de aquel. En la misma se hacía referencia a la competencia que significaría para la cabaña Nacional la introducción de semen, sugiriendo solo se aprobaran aquellos cuando proviniesen de toros probados: «toros con famosas progenies y no con famosos antepasados».

En lo sanitario se hacía notar el riesgo de introducir enfermedades venéreas, proponiendo que el material seminal fuera manejado exclusivamente por veterinarios, previa exigencias sanitarias en el país de origen.

El 7.4.1960, el Ministerio de Hacienda libró un decreto liberando de gravámenes toda mercadería importada de interés Nacional, pero curiosamente aplicaba al semen importado pesados gravámenes que entre derechos aduaneros, recargos, adicionales, sellados, timbres etc. alcanzaban al 105% de su valor CIF.

Ese mismo año, los cabañeros Ing. C. Gasparri y D.A. Symond, elevaron al Ministerio de G.A. y P. sendas solicitudes para importar semen de Estados Unidos.

El 23.2.1961, el Ejecutivo, a requerimiento de la Div. Fomento Ganadero y en atención a que: «la importación de semen de reproductores probados ha de producir considerables beneficios» dictó un decreto reglamentando su importación. A su vez, la misma Div. Fomento Ganadero, hace notar lo injusto que representa el 105% de gravamen para el semen y solo 25% para la importación de toros. «¿No implica el semen congelado, el reproductor mismo envuelto en distinto envase?»

El 19.9.1965, el Ministerio de Hacienda con el de G.A. y P. resuelven incluir el semen congelado o fresco entre «aquellas mercaderías de utilidad pública», liberándolos de todo tipo de gravámenes.

A partir de allí la importación de semen toma impulso, aunque se interponen nuevas disposiciones: un decreto de 1967 exige vigilar la calidad genotípica de los toros dadores, lo que determinan largos paseos por las diversas reparticiones del Ministerio.

Otro decreto de 1971 aclara que el semen importado solo podrá ser utilizado en vientres de pedrigui, disposición que queda derogada por otro decreto de 1979.

Un decreto del 20.02.1980 regula las normas de importación-exportación de semen, embriones y óvulos, debiéndose exhibir el desarrollo de las últimas cinco generaciones, grupos sanguíneos etc.

En 1990, un nuevo decreto comete a la Dirección General de los Servicios Veterinarios, el contralor, supervisión y regulación de todas las técnicas artificiales de reproducción y en su art. 3: «Los veterinarios son los únicos autorizados y responsables para dirigir, controlar y asesorar en todo lo referente a técnicas artificiales de reproducción.»

En 1992 se exige por decreto, que semen o embriones deberán proceder de Centros de Reproducción aprobados por el Min. de G.A. y P. También en ese año, otro decreta otorga a la ARU autorización para admitir o no la importación de semen según sea la calidad del reproductor donante. También las Gremiales intervienen en el tema reglamentando a sus asociados las condiciones que requieren los toros cuyo semen desea importarse.

Como se ve, otra larga y discutida novela afortunadamente hoy perfectamente reglamentada.

7) INSEMINACION ARTIFICIAL A NITROGENO LIQUIDO EN URUGUAY

Desde el punto de vista de la organización, manejo del rodeo, inseminación en sí, etc., el cambio del nitrógeno por el hielo seco no altera para nada el panorama.; introduce en cambio cierta economía en cuanto al costo del hielo seco y sus envíos y así mismo resulta menos laborioso al evitarse el tedioso trabajo del molido.

Desde el punto de vista técnico, la conservación y manejo del semen en el termo resulta mas seguro que en hielo seco, dada la escasa diferencia de temperatura existente entre éste y la mínima necesaria para no deteriorar aquel, lo que podría traslucirse en un mejor porcentaje de preñez.

Finalmente, teniendo en cuenta que la congelación en pellets se inicia en 1965, que alrededor de 1970 se permite la importación de biostatos y en 1972 se da solución al problema del nitrógeno, puede decirse que en Uruguay, a partir de ese año desaparece totalmente la inseminación a semen fresco y a hielo seco para ser substituida exclusivamente por aquel.

8) CONGELACION DE SEMEN A NITROGENO LIQUIDO

Mucho había avanzado el país en materia de inseminación: - congelación en pastillas, acceso a biostatos y producción de nitrógeno a discreción -.

Sin embargo era de preocupar el costo y dificultades que requería la congelación de semen en hielo seco, sobretudo - en ausencia de Centros de Toros - las que debían llevarse a cabo en el medio rural.

El acceso al nitrógeno había mitigado el problema dado que permitía congelar en hielo seco y guardar en biostatos.

Como forma de prolongar la existencia de hielo seco, habíamos diseñado cajones especiales de madera, dentro del que se acomodaban cajas de espumaplast a manera de aislante y dentro de la cual se acomodaban piedras de hielo de 20 ki-

los. De cualquier manera - dependiendo de la temperatura ambiente y el trabajo a realizar-, la misma solo alcanzaba a durar de 3 a 4 días, provocando el regreso del técnico con poco semen, o el envío de mas hielo seco.

En los Centros de Toros modernos, ampollas o pajuellas se ubicaban en canastillas sobre una bandeja, la que se exponían a pocos centímetros del nivel líquido del nitrógeno dispuesto en una cuba cuyo vapor iba enfriando lentamente el semen, debidamente controlado por termómetros de precisión.

Con el colega Rafael Cash, decidimos que encontrar un método que permitiera congelar pellets en nitrógeno podría resultar muy útil.

A comienzos de 1977 iniciamos algunos ensayos debiendo en principio encontrar una superficie donde depositar el semen a congelar y así mismo, averiguar la altura del nivel del nitrógeno a la que debíamos colocar aquel para proceder a la congelación. Era sabido que la velocidad de congelación tenía enorme relación con el éxito de la misma, dado que tanto la forma muy lenta como muy acelerada perjudicaría el semen. Para dar solución al primer problema debimos ensayar diversos medios de superficie: metales, cartón, cartón con vaselina, metales varios, para finalmente comprobar el mejor comportamiento de los acrílicos.

En relación a lo segundo, se congelaron muestras a distintas alturas de la superficie del nitrógeno - 3 a 10 centímetros - de las que finalmente se adoptó una altura de 5 centímetros.

La evaluación del semen se hizo según motilidad al microscopio inmediatamente de descongelada la muestra y luego de un test de resistencia de cuatro horas.

Finalmente, se decidió hacer una prueba de campo y durante la siguiente temporada de inseminación, fue comparada la fertilidad de idénticas muestras de semen congeladas por ambos métodos, las que prácticamente no arrojaron diferencias significativas.

El procedimiento se extendió rápidamente entre los colegas lo que significó un interesante aporte al desarrollo de la inseminación.

Con referencia a este tema no nos resistimos a contar una anécdota curiosa: años después debí presentar un curriculum de nuestra actuación profesional, pero llegado el momento de detallar donde había sido publicado este trabajo, no me fue posible localizarlo. Sabedor que el Dr. Carlos Carlevaro - profesor de la materia en nuestra Facultad - era un celoso cuidador de su archivo, le solicité me diera el dato que me faltaba. Días después me comunicó que le había sido imposible encontrarlo y hasta puso en duda hubiera sido publicado.

Recién tomé conciencia que nos habíamos olvidado de hacerlo, o sea que el invento había nacido sin padre, o en todo caso tendría que ser empadronado tarde en el año 2001.

9) PARTICIPACION DE LA HEMBRA EN EL PROCESO DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL

Hasta aquí hemos hecho referencia directa o indirecta en este proceso, al toro y al constante progreso llevada a cabo en su área: extracción, evaluación, congelación y conservación del semen.

El papel de la hembra fue postergado mucho tiempo y debieron pasar años para que múltiples investigaciones en el área de la fisiología de la reproducción aclararan importantes procesos de intercomunicación entre Hipófisis, Hipotálamo, Sistema Nervioso Central - SNC, Gonadas, Utero etc. con interesantes repercusiones en el desarrollo de la inseminación.

Ese desconocimiento de años atrás y el amplio conocimiento actual, han posibilitado hoy en día, el desarrollo de trabajos de inseminación distintos y claramente definidos.

Si nos retrotraemos al comienzo de esta historia - 1942 - debe señalarse con referencia a la hembra - que era muy poca la atención que se le prestaba; si acaso alguna consideración sobre aspectos nutritivos que incluían el previo aporte de sales minerales, sumado a veces a inyectables de vitaminas A y fosforados.

Era sí importante, la vacunación contra Aftosa, virosis que muchas veces determinó al aplazamiento del inicio de los

trabajos o su suspensión cuando el mismo ya había dado comienzo.

La hembra era dueña de su destino y exclusiva administradora de su propio circuito hormonal; en esas condiciones, el anestro determinaba largos períodos de inseminación, muy especialmente agravado cuando se trataba de ganados de cría.

En esa época, no conocíamos - o no se le daba mayor importancia - a la condición corporal de la vaca y tampoco el mecanismo mediante el que, el amamantamiento prolongaba ese anestro.

Las investigaciones sobre fisiología de la reproducción se tradujeron luego en un importante aporte al desarrollo de la inseminación, no solamente mejorando del porcentaje de preñez, sino también incidiendo favorablemente en aspectos laborales y económicos.

10) FISILOGIA DE LA REPRODUCCION EN LA HEMBRA

Las Investigaciones sobre fisiología de la reproducción resultaron fundamentales y antecedieron a todos los acontecimientos conducentes al vigoroso desarrollo de la IA.

La vieja y excelente Fisiología que escribiera el Prof. Dr. en Med. Humana, E. Gley - que estudiáramos en 1941-, muy poco nos aclaraba sobre muchos de los procesos que hoy se conocen detalladamente.

La Hipófisis - enseñaba - «produce una hormona - Folículo o Estrona» - con acción directa sobre la apertura de la vulva y queratinización de las células vaginales». A su vez, agregaba, «el CL segrega Luteína o Progesterona, encargada de mantener la preñez».

En 1944, Carbonero Bravo, señalaba que de aquella Luteína se había logrado separar dos componentes: Prolán A, con acción estimulante sobre los folículos y Prolán B con acción luteinizante.

Sobre ese esquema, años después el Lab Dispert de Uruguay, produciría un preparado hormonal a base de gonadotropina coriónica humana, extraída de orina de mujer embarazada, rica especialmente en hormona luteinizante: LH y bajo porcentaje de hormona: FSH, con acción

- entre otras - sobre el desarrollo y maduración del folículo.

Ambas hormonas producidas por el lóbulo anterior de la Hipófisis actuaban también en el macho estimulando las células intersticiales del testículo para producir andrógenos.

Recordemos que en aquellos años, dicho producto hormonal con el nombre de Progón, fue muy utilizado por veterinarios, - con no demasiado éxito - para intentar solucionar situaciones de baja libido en toros y carneros, así como para combatir problemas de hipogonadismo, criptorquidia y oligoespermia.

En 1962 el investigador egipcio E.S.E. Hafez, da cuenta de la acción del Estradiol segregado en el ovario con preponderante acción sobre el comportamiento sexual de la hembra, haciendo notar a su vez, la actividad de la placenta encargada de producir gonatrofina coriónica.

No eran muchos más los conocimientos que se manejaban en la década del 50.

Órganos, glándulas y hormonas sexuales, involucradas en el mecanismo de la reproducción

Este proceso realmente apasionante, impresiona no solo por la importancia del mismo, sino también por el pequeño tamaño de la mayoría de las glándulas que intervienen en su desarrollo y las preponderantes acciones que producen sus minúsculas cantidades de hormonas.

A efectos de facilitar la descripción de tan intrincado mecanismo, ofrecemos una relación anticipada de cada una de ellas, de modo que el relato de los acontecimientos resulte de más fácil comprensión.

Cerebro y Sistema Nervioso Central

El papel del cerebro en el registro de los estímulos ambientales no es generalmente valorado debidamente; sin embargo son, olfato, tacto y ojos a través del nervio óptico, transmisores de sensaciones que llegan hasta aquel para traducir la información y remitirla a los órganos de destino.

El circuito endócrino, llega al cerebro y órganos, a través de mensajes químicos - hormonas - que alcanzan su objetivo vía receptores especiales - estructuras moleculares - instaladas en órganos específicamente susceptible a esa hormona.

El SNC, recibe todas esas informaciones provenientes del ambiente, para trasladarlas al eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadas.

Hipotálamo: consecuencia de estímulos del SNC, sus neuronas producen la hormona liberadora de las gonatrofinas: GnRH.

GnRH : llega al lóbulo anterior de la Hipófisis, a través del sistema porta hipofisiario, estimulando la secreción de las hormonas gonadotróficas: FSH y LH

FSH : estimula el desarrollo de los folículos y tiene importante rol en el reclutamiento de los mismos.

LH : producida en el lóbulo anterior de la Hipófisis, provoca la ovulación de los folículos preparados para ello y estimula a partir del colesterol, la síntesis de varias hormonas, entre ellas Estradiol.

Estas tres hormonas se libran en forma pulsátil.

INHIBINA : producida por la Granulosa del folículo, tendría acción inhibitoria sobre la producción de FSH, controlando así el desarrollo folicular.

ESTROGENO : 17 B estradiol, producido por el folículo dominante, aumenta la frecuencia de pulsos de la GnRH que libera LH, produce la regresión del CL en formación y tiene participación en el comportamiento de celo en la vaca., estimándose así mismo, que podría regular el transporte del huevo hacia el útero. Provoca la atresia del folículo dominante cualquiera fuese la fase en que se encuentre, con lo que logra sincronizar las ondas foliculares. Su importancia resulta importante para sincronizar celo y ovulación al mismo tiempo, base de la inseminación artificial a tiempo fijo - IATF -

PROGESTERONA: aislada por primera vez por Dutt y Casida en 1948, - producida por el CL - disminuye la descarga de GnRH, e inhibe la producción de LH y consecuente ovulación. Su acción sobre el Hipotálamo determina - cuando se agota en el organismo - la liberación masiva de las gonatrofinas hipofisiarias. Del tenor de su presencia, depende la secreción de PGF2 por el útero y ovulación o atresia del folículo dominante. Condiciona así mismo al endometrio para preparar, recibir, alimentar el embrión y proteger la gestación.

PROSTAGLANDINA: descubierta por E.U.Von Hulen en 1935 en extractos, secreciones de próstata y vesículas seminales humanas, se supo posteriormente que también era producida en otros órganos, pero desde el punto de vista de la reproducción interesa la prostaglandina endógena producida a partir del día 13 del ciclo por glándulas instaladas en el endometrio mismo. De acuerdo a investigaciones recientes, folículos de la segunda onda inducirían la formación de receptores de oxcitocina ubicados en el endometrio, necesarios para la síntesis y liberación de prostaglandina que, trasladada al ovario vía arteria uterina, sería quien, mediante constricción de los vasos que alimentan al mismo, provocarían la lisis del CL.

Por otra parte, esa prostaglandina estaría encargada de acelerar la involución uterina y el reclutamiento y crecimiento de los folículos.

Mas adelante, la prostaglandina exógena daría fuerte impulso al desarrollo de la IA. según veremos cuando se trate la sincronización de celo y la IATF.

Dinámica folicular

El estudio de la dinámica folicular es reciente y constituye el último avance en lo que se refiere al conocimiento endócrino del ciclo estral. Si bien ya en 1980 se hablaba de ondas foliculares, conocimiento éste logrado a través de la observación bajo el microscopio de cortes y estudios histológicos del ovario, el desarrollo de la técnica de ultrasonografía transrectal, permitió la observación detallada y precisa de cada una de las ondas foliculares, su desarrollo, crecimiento, desvanecimiento y todo cuanto acontece en el minúsculo escenario folicular. Quizás, no en el escenario científico, pero sí, en el que nos movemos como simples veterinarios, asombrados al comprobar como, cantidades infinitamente mínimas de hormonas, puedan causar en animales de gran tamaño como los vacunos, cambios tan trascendente para el animal en sí y la subsistencia de la misma especie. Estos conocimientos sobrepasan la importancia meramente académica, para alcanzar en el orden práctico, fundamental contribución al desarrollo de una técnica de inseminación moderna y revolucionaria como la inseminación artificial a tiempo fijo : IATF.

La **foliculogénesis** es el proceso fundamental de esa dinámica folicular; se sabe a partir de 1990, que, tanto en vacunos como en lanares, serían dos a tres las ondas foliculares que ocupan el espacio de un ciclo estral y que cada una de ellas - FSH mediante - llevan a cabo distintas funciones.

Según algunos investigadores, una onda puede definirse como el desarrollo simultáneo y armónico de 5 a 10 folículos actuando en distintos estadios: **reclutamiento, selección y dominancia.**

Por **reclutamiento** se conoce el crecimiento de varios folículos que bajo influencia de FSH alcanzan - el grado de preovulatorio; por **selección**, la elección de uno solo de ellos y por **dominancia**, la culminación del período de maduración que, LH mediante - será inducido a ovular.

Previamente, ese folículo dominante secretará **estradiol**, que provocará la reducción de los folículos subordinados y será factor fundamental para provocar en la vaca la sintomatología del celo.

Si por cualquier contingencia, ese folículo dominante no llegara a ovular, el mismo regresará y otro folículo tomará su puesto para completar su desarrollo y ovulación.

Celo

El celo resulta la expresión visible de un estado fisiológico manifestado por las vacas toda vez que, su mecanismo de reproducción queda sincronizado para unirse sexualmente al toro. Sólo durante ese corto período, la hembra buscará y/o aceptará la unión con aquel; mas allá de dicho período y solo por muy pocas horas - aún sin su consentimiento - la vaca podrá ser inseminada con iguales perspectivas de fecundación.

La detección del celo, es tan importante, que hoy en día se le considera el eslabón más flojo de la cadena de sucesos que integran todo el proceso de la inseminación. Investigaciones llevadas a cabo en vacas lecheras, llegan a la conclusión de que 12 a 16% de vacas - aún ovulando - no muestran celo y obviamente no serán inseminadas. Celos cortos o muy cortos y/o de débil expresión, muchas veces influenciados por temperaturas extremas -

bajas o altas - celos nocturnos y a veces poca habilidad de quienes son los encargados para ello, determinan que no todas las vacas en celo sean detectadas.

A pesar de los varias ensayos realizados - toros retajados con chin-ball, pastas esmaltadas, pinturas especiales o parches Kamar, dispuestos en las últimas vértebras y que deberían desaparecer o cambiar de color al ser montadas, vacas o novillos androgenizados etc, no han dado resultados totalmente efectivos. Foto 7.

Estudios realizados en Australia sobre miles de vacas y muchos tambos, con observación durante las 24 horas del día, permitieron conocer algunos rasgos interesantes del comportamiento de la vaca en celo; así por ejemplo, pudo saberse que el promedio de montas por vaca fue de 8.5 durante ese período, 7 horas de duración, mientras 10% de ellas se dejaban montar una vez y solo durante 2 segundos.

Esas cifras corresponden a vacas lecheras de alta productividad y seguramente

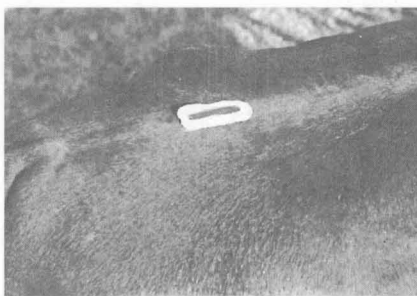


Foto 7. Parche Kamar.

su comportamiento debido al estrés de producción podría estar determinando esa baja expresión del celo; seguramente el comportamiento de vacas de razas de carne es mucho más expresivo.

Todas estas características del celo y el hecho de que la ovulación se produce alrededor de 27 horas luego de iniciado aquel, condicionan el momento de la inseminación.

Experiencias del investigador australiano Macmillan, indican que el momento óptimo podría ubicarse entre las 4 y 12 horas de iniciado el celo y si semen e inseminador son buenos, también daría

buen resultado inseminar en las primeras 4 horas.

En Uruguay, las vacas detectadas en celo en la mañana son inseminadas en la tarde y viceversa, por lo que prácticamente se estaría inseminando en la segunda mitad del celo.

Sin embargo, la inseminación una sola vez al día, o sea en cualquier momento del período del celo, ha dado buenos resultados y con muy poca diferencia con aquella realizada dos veces. Ello ha determinado que en zonas lecheras en que el inseminador debe recorrer varios tambos, la inseminación se realice solo una vez con buen índice de preñez.

Estacionalidad

El ritmo sexual a lo largo del año - **estacionalidad** - difiere mucho según especies y aún dentro de razas; muy intenso en los ovinos y muy variable según se trate de razas de lana gruesa o lana fina, no tiene sin embargo en los bovinos demasiada importancia, atribuyéndosele la misma al sistema de crianza y domesticación a la que estos últimos han sido sometidos desde hace miles de años.

Dicho proceso está regulado por la glándula Pineal, alojada en la parte posterior del cerebro, por encima del Hipotálamo y llega a aquella transmitida por vía nerviosa a través de la retina o receptores específicos que captan la luz. Esta información nerviosa recibida en la Pineal, es transformada por ésta en forma de hormona - Melatonina - producida y segregada durante las horas sin luz - oscuridad. El invierno, con sus noches largas, expone a los animales al efecto de aquella, inhibiendo la descarga de GnRH, mientras que durante los días largos, el aumento de melatonina estimula la descarga de ésta, favoreciendo la presentación del celo.

11) ANESTRO POSTPARTO

El anestro postparto es definido como el período de tiempo transcurrido entre parto y primer manifestación de celo. Ese período vacío es causa de bajos procreos, razón que ha sido motivo de honda preocupación en productores, científicos y gobierno, por las grandes pérdidas que produce.

Más allá de causas nutritivas y la pesada carga del amamantamiento, el anestro tiene una base neuro-hormonal importante. La ausencia de celo que lo caracteriza, no implica necesariamente inhibición folicular, habiéndose demostrado que 10 días después del parto, la actividad de aquellos - aunque en forma porcentualmente baja - puede restablecerse, aún con bajos niveles de LH y GnRH. Situación que se agrava en casos de desnutrición y amamantamiento. La falta de progesterona es también una constante :: vaca que no ovula no produce progesterona, tampoco LH y falta estímulo para producir Estradiol, elemento esencial para la evocación del celo. Se estima que luego del parto, Hipotálamo, Hipófisis, Utero y Ovarios, atraviesan un período de recuperación a efectos de prepararse para comenzar a ciclar, a cuyo efecto es fundamental una buena nutrición. En ese sentido es opinión unánime que una **buen condición corporal - CC - en momentos del parto**, es fundamental, sobre todo porque comúnmente las vacas pierden peso luego del mismo.

Tanto la Dra. Pereira como la Ing. Quintans, confirman la **importancia de la nutrición** para el logro de una buena CC y a ésta, para que los folículos dominantes alcancen el grado pre-ovulatorio, circunstancia necesaria para acortar el período del anestro.

Sin contar con los conocimientos de ahora, en 1968 estimábamos que el porcentaje de procreo en el país no superaba el 60/65%, incluyendo el lote de segunda parición con solo 45/50% y que la razón de ello no se debía a problemas de esterilidad sino de **infertilidad funcional**, déficit alimenticio del último tercio de la preñez y primeras semanas de lactación, recordando que en otros países el destete temprano daba buenos resultados.

El Prof. Bonsma de Sud Africa, años antes -1965 - aunque sin mayor rigor científico (nada se conocía sobre dinámica folicular), había expuesto la importancia de la CC, adjudicando dentro de una clasificación convencional - 1 a 8 -, el grado 4, como el estado óptimo para que las vacas alcanzaran el mayor índice de fertilidad, (Foto 8).

Para que una vaca tenga cada año un ternero - nos dice la Dra. Pereira -, la misma

deberá ser fecundada antes de los 83 días después del parto, constatándose en Uruguay que ese período se extiende hasta los 102 días, agregando que en la vaca con cría la distribución de nutrientes tiene distintas prioridades, según el siguiente orden: metabolismo basal, reserva de energía, preñez, lactancia y ciclos estrales. Obviamente, razona Pereira, si la nutrición no es suficiente, estos ciclos no sucederán, disminuirá el tamaño de los folículos dominantes y la frecuencia de LH, extendiéndose el anestro.

La colega afirma también, que hay diferente comportamiento entre razas lecheras y de carne y mientras el 95% de las primeras pueden reiniciar su actividad ovárica a los 50 días, dentro de ese lapso solo responderán el 40% de las razas carniceras.

El Dr. A. Fernandez nos recuerda, que entre el período que va desde un folículo primordial hasta llegar a dominante, transcurren 60 días y una mala nutrición en ese período puede incidir en la calidad del folículo y su ovocito. Deduce en consecuencia, que en víspera de sincronizar celo, deberá tomarse en cuenta la situación nutritiva por la que el ganado pasó durante ese período anterior.

La CC no es sólo importante, sino también muy difícil de mejorar con tratamientos hormonales.

El Ing. Oscarberro estima que el anestro postparto está más afectado por la alimentación preparto que por aquella después del mismo, mientras el Dr. A. Gar-

cía sostiene que el último mes de preñez y los tres siguientes, resultan los más críticos desde el punto de vista nutritivo, cobrando gran importancia frente a la baja heredabilidad de los parámetros reproductivos. En vaquillonas, agrega el Dr. Luigi Baroni, la deficiente nutrición no solo retarda la pubertad, sino también provoca disminución de la cintura pélvica y probabilidad de distocia.

Desde el punto de vista mineral, en Uruguay sería el fósforo el elemento primordial y su deficiencia retrasa la aparición de la pubertad y contribuye al anestro prolongado y baja fertilidad.

También los suplementos grasos son útiles agrega Thatcher, pues incrementan el tenor del colesterol en sangre, necesario éste, para la síntesis de progesterona a partir de células luteales, lo que se refleja en un anticipo de la actividad cíclica.

El otro factor negativo - para algunos más importante aún que el nutritivo - resulta el **amamantamiento**; para la Dra. Pereira, la succión del pezón, la presión de la cabeza del ternero sobre la ingle, factores visuales y auditivos, suprimen los pulsos de LH y prolongan el anestro. Si se pudiera prescindir del ternero entre los 20 y 40 días de nacidos, los ciclos se reiniciarían antes y las vacas comenzarían a ciclar. La importancia del destete ya ha sido señalada años atrás por los colegas L. Dutto y T. Sobrero.

Muy recientemente la Dirección de Estadísticas Agropecuarias - DIEA - realizó con datos proporcionados por 57 ve-

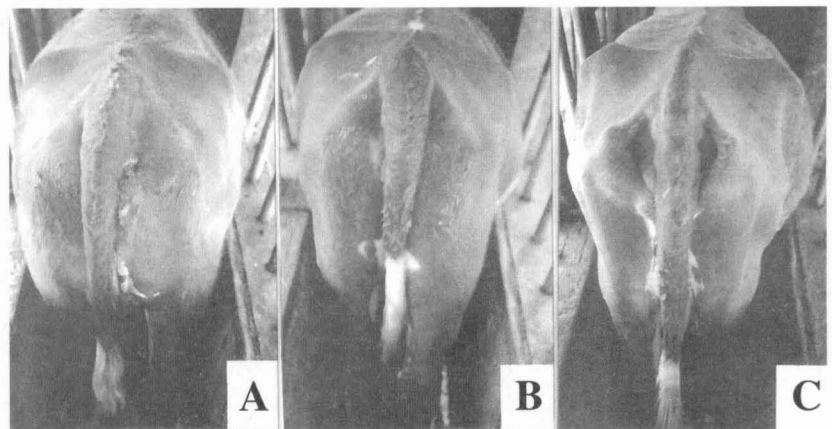


Foto 8. Condición corporal. a) muy gorda; b) ideal; c) excesivamente flaca.

terinarios, una encuesta destinada a determinar la **influencia del destete en el índice de preñez**.

De dicha investigación pudo saberse que: de 357 rodeos integrados por **145 000 vacas con ternero al pie, el % de preñez alcanzó en dos años consecutivos 66 y 64%**.

21 rodeos con 11400 vacas, sometidos a **destete temporario**, lograron **77 y 80% de preñez** y 19 rodeos sometidos a **destete precoz alcanzaron 77 y 75%** en dos años consecutivos.

La experiencia sirvió también para constatar que el **destete temprano**, según se practique en marzo, abril o mayo, determinaron porcentajes de preñez de 77, 71 y 58% respectivamente, indicando la conveniencia de destetar lo antes posible. Como puede verse, parecería que desde el punto de vista técnico el problema del bajo procreo en el país estaría resuelto, o al menos, conocida la metodología para mejorarlo.

Sin embargo, esos conocimientos no se ven acompañados por soluciones económicas que permitan destetar precozmente en praderas y continuar el desarrollo de las terneras, así como de las vacas de segunda parición en buenas condiciones nutritivas. Países más fuertes económicamente protegen a sus productores mediante fuertes subsidios, sea por ternero nacido o de otra forma, lo que permiten porcentajes de parición del 85 a 90%.

Debe tenerse en cuenta que para alcanzar ese logro, nuestro productor deberá invertir dinero durante varios años - dos de crianza para entorar temprano, uno de gestación y otros dos para vender gordo el producto resultante y rescatar esa inversión.

Subsidiar el costo de la pradera - ya realizado tiempo atrás - sería una buena solución para el productor, la industria frigorífica y el Estado.

12) SINCRONIZACION DE CELO

Uno de los problemas más arduos que plantea la inseminación, tanto en bovinos como en ovinos, ha sido, no solo la identificación del celo, sino también la dispersión de los mismos con la consiguiente extensión del trabajo, período de parición y mayor costo.

Por esa razón, la posibilidad de sincronizar celos, se constituyó en una vieja aspiración de los investigadores, tratando de aclarar una vieja pregunta sin respuesta: ¿ Por que, ovejas y vacas, por iniciativa propia y/o de la naturaleza, son las encargadas de fijar las fecha para entrar en celo ?.

En 1948, Dutt y Casida en USA, habían constatado en ovejas, que dosis diarias de progesterona, actuando sobre la Hipófisis, frenaban la producción de LH inhibiendo la ovulación, sin que por ello quedase suspendida la foliculogénesis y desarrollo del CL, de modo que en determinado momento todas las ovejas tuviesen folículos maduros alineados con igual desarrollo.

Si en esas condiciones se suspendía la administración de progesterona, desaparecía el freno sobre la Hipófisis, permitiendo que ovulación y celo coincidieran entre 48 y 72 horas mas tarde.

En 1959, en Uruguay repetimos en gran escala trabajos realizados en ovejas, a las que progesterona inyectada durante 10 días consecutivos, complementada con hormona PMSG lograba un 90% de celo concentrado. En Nueva Zelandia y Australia, esos primeros éxitos fueron mejorados años después con diversos vehículos de progesterona, tales como esponjas intravaginales, implantes subcutáneos, controles intravaginales CIDR y otros, lo que permitieron un manejo mas cómodo y rápido de las ovejas .

En vacunos sin embargo, por mas que el aspecto fisiológico fuera muy similar en ambas especies, sea porque dosis y costo de la progesterona fuera mayor y tam-

bién mas dificultoso el manejo de los rodeos, esa metodología no se popularizó.

En realidad, no era la progesterona en sí la que sincronizaba el celo, sino curiosamente, la abrupta supresión de ésta, quien convocaba a la Hipófisis a iniciar una serie de acontecimientos que permitirían unificar el celo de muchas hembras en pocas horas.

Si suprimir abruptamente el suministro de progesterona bastaba para sincronizar el celo, también la lisis del CL - productor de aquella - podría tener igual resultado. Paradójicamente pues, en un caso se proporcionaba progesterona exógena para suprimirla luego, y al contrario en otro, se suprimía aquella mediante lisis del CL - su fuente de producción-.

La lisis del CL, mediante localización de éste por vía rectal y presión sobre la base de implantación en el ovario, fue entonces ensayada exitosamente, aunque con ciertas restricciones.

En efecto, en los primeros cinco días de su desarrollo, el tamaño del CL es mínimo, difícil de localizar y aún de presionar; al llegar al día 8, su volumen aumenta aunque mantiene tono blando, del noveno al décimo segundo, el tamaño se mantiene pero con tono firme, para a partir de ese momento - incrustado en el estroma del ovario - comenzar a desvanecerse lentamente, hasta desaparecer a los 20/22 días de existencia, (Foto 9).

Dados tamaño y tono, el CL se hacía imposible de oprimir en esos primeros cinco días, así como tampoco en los últimos 3 ó 4 del ciclo, por lo que la enucleación sólo podía practicarse en el

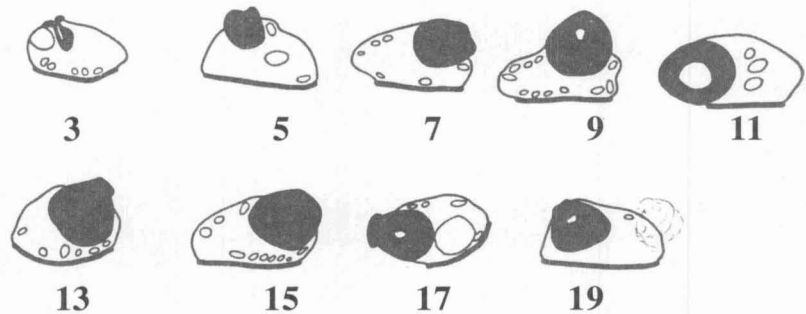


Foto 9. Desarrollo del CL; crecimiento, estacionamiento y desvanecimiento.

61/65% de los días del ciclo, o sea en igual porcentaje de vacas ciclando.

Esta metodología fue ensayada en Uruguay a partir de la década del 60 y tuvo adeptos y detractores, estos últimos argumentando que manipulaciones bruscas y no muy idóneas, podían lesionar el ovario y provocar hemorragias y/o lesiones adhesivas permanentes dentro o fuera del oviducto.

También en Argentina se discutían los resultados de la enucleación y en 1966 fuimos invitados a presentar nuestra experiencia sobre el tema en un simposio organizado por CADER - Consejo Argentino de Estudios sobre Reproducción - en el que concluíamos, que: el 80% de los animales enucleados presentaban celo dentro de las siguientes 120 horas - máxima expresión 48/72 horas - con un índice de fertilidad igual al de celos naturales.

Así mismo se hacía notar la influencia en los resultados del estado corporal de las vacas y de que estuviesen o no con cría al pie.

De cualquier manera - con ventajas y desventajas - la sincronización de celo mediante enucleación había puesto en el tapete la importancia de la misma y la posibilidad de llegar a dicho objetivo mediante métodos menos cruentos y más prácticos y efectivos. Por lo pronto, el tablero estaba listo y solo correspondía movilizar las fichas en función del conocimiento fisiológico que ya se poseía.

En 1970 aparece en el escenario la prostaglandina - droga que, aplicada en determinadas circunstancias, producía la lisis del CL y que el Prof. Foote vaticinara, podría dar solución al problema de la sincronización.

Cabe señalar sin embargo, que en forma muy semejante a lo señalado en el caso de la enucleación, tampoco aquella es capaz de lisis el CL en sus primeros 4 ó 5 días y últimos 3 ó 4 del ciclo. De cualquier manera, la dificultad de localizar manualmente el CL, hacía que la prostaglandina apareciera desde ese punto de vista más efectiva que aquel.

Por otro lado, - aunque más oneroso - el método resulta menos cruento y más práctico, lo que ha determinado en las últimas décadas la presentación de múltiples trabajos de investigación destina-

dos a encontrar la mejor forma de utilizar la droga : dosis requerida, aplicación única o doble, espacio entre ambas aplicaciones, vía de aplicación - intramuscular, subcutánea o intravaginal, mejor momento del ciclo etc.

Sin pretender definir todas las variantes mencionadas en la abundante literatura, a título informativo mencionaremos algunas de las aplicaciones más vigentes:

- * prostaglandina sin verificación del ciclo en que se encuentra el rodeo, e IA.,
- * verificación de celo durante los primeros cinco días del trabajo, con IA y prostaglandina al día seis, e IA,
- * verificación de celo durante los primeros 12 días, seguido por prostaglandina al día 13, e IA.
- * prostaglandina al comienzo del trabajo, seguido de una segunda prostaglandina 12 a 14 días después e IA.

Cada método tiene su ventaja, - económica o práctica - y el veterinario deberá asesorar al productor sobre la técnica que más se adecue a su situación económica y a las facilidades que preste cada establecimiento.

Debe quedar claro que la respuesta a la prostaglandina - igual que la enucleación del CL - está condicionada al estado corporal y sanitario de las vacas y en el caso de estar amamantando, a la edad del ternero o al tiempo que el mismo haya

sido destetado o impedido mamar tablilla nasal mediante.

No deja también de ser un inconveniente, la distinta reacción en cuanto al período de manifestación de celo, los que generalmente se distribuyen a lo largo de muchas horas disminuyendo el porcentaje de fecundación.

A la luz de los nuevos conocimientos de fisiología folicular, se estima que la diferencia de reacción de vacas a la prostaglandina, - tiempo transcurrido entre lisis del CL y celo - no es efecto de la distinta sensibilidad a la droga, sino al período de desarrollo en que puedan haberse encontrado las ondas foliculares en momento de su aplicación :

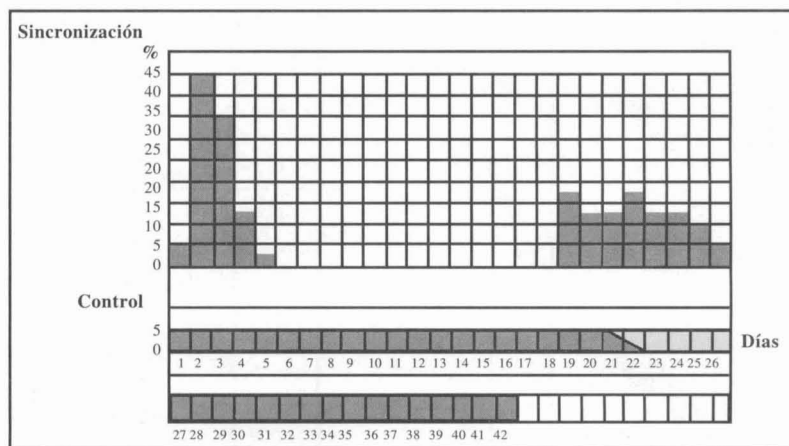
cuando la prostaglandina se aplica entre los 5 y 10 días del ciclo, el celo aparecería tres días mas tarde,

entre los 11 y 13 días, los celos se dispersarían, con disminución de la fecundación ante la posibilidad de que folículos y ovocitos estuviesen envejecidos,

entre 14 y 16 días, el celo se produciría tres días mas tarde.

De ello surge que, la prostaglandina sería esencialmente sincronizadora de celos, pero no de ondas foliculares, (Gráfica 2).

Entramos pues en el tema de la sincronización de celo y ovulación, que daría paso en esta última década a la **inseminación a tiempo fijo : IATF**.



Gráfica 2. Distribución de celo afectado por prostaglandina: máximo: día 2, luego día 3. Entre los días 19 y 23, entran en celo vacas cuyos CL estaban en primeros y últimos días del ciclo cuando fue aplicada la droga.

13) INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

La sincronización de celo mediante lisis del CL a base de prostaglandina - PGF2 -, había agilizado notoriamente el trámite de la inseminación, disminuyendo costos - honorarios técnicos, alquiler de termo, nitrógeno, mano de obra etc. permitiendo en pocos días u horas, inseminar un lote de vacas.

Esa metodología vastamente utilizada en el país, - sin embargo - no mejora el índice de preñez, ni soluciona el problema de la detección de celo, considerado el eslabón más débil de la cadena de acontecimientos que estamos analizando.

El conocimiento de la dinámica folicular y la posibilidad de sincronizar celo y ondas foliculares, ofrecía la posibilidad de que óvulo y espermatozoides se pudiesen encontrar en el mejor momento, en el mejor escenario.

Ello dio lugar a la **IATF** que provocó, tanto desde el punto de visto académico como práctico, verdadera expectativa, que tuvo máxima expresión en el Congreso Mundial de Buiatría 2000 llevado a cabo en Punta del Este, donde investigadores y veterinarios de varios países tuvieron oportunidad de presentar sus trabajos.

Un año antes - agosto 1999 - el Prof. australiano K.L. Macmillan, en conferencia ofrecida en Montevideo brindó una relación general de dicha metodología con intervención de solo dos hormonas : GnRH y prostaglandina. Su protocolo consistía en la aplicación de GnRh el día 0, prostaglandina el día 7 y GnRH 48 horas mas tarde, inseminando 16 a 24 horas después sin detección de celo.

Sin embargo, el % de preñez no logró superar el 32/40%; como alternativa, cuando la inseminación se realizaba en el mismo momento de la segunda GnRH, si bien el % de fecundación disminuía, también lo hacía la mortalidad embrionaria, con lo que el % final de preñez resultaba similar.

En el citado Congreso de Buiatría, fueron muchos los protocolos presentados con participación de varias hormonas y con variaciones referidas a días de aplicación, dosis y vías de inoculación y resultados según se tratase de vaquillonas, vacas vacías, con cría y terneros de

distintas edades, así como influencia según CC de las mismas.

La cantidad y diversidad de trabajos presentados hace muy difícil y hasta inútil hacer referencia sobre cada uno de los mismos.

El protocolo más sencillo resultó ser el que nos presentara tiempo atrás Macmillan.

GnRH, PGF2 α y GnRH, respectivamente en los días 0, 7 y 9 con IATF - 16 horas mas tarde.

Los resultados de este protocolo pueden variar según el momento del diestro en que se inicie el tratamiento; en caso de comenzar al final, el CL regresará prematuramente y habrá asimetría entre celo y ovulación con disminución del % de fecundación.

Como forma de mejorar este resultado se ensayó el agregado de progestágenos - progesterona, CIDR, etc -; los que al bloquear el Hipotálamo inhiben la producción de LH y consiguiente ovulación, provocando una descarga masiva de hormonas gonadotróficas que facilita la simetría entre celo y ovulación.

La mayoría de estos protocolos se integran con:

GnRH y progestágeno	día 0
PGF2 α y retiro del progestágeno	día 7
GnRH	día 9
y IATF	16 horas mas tarde

Una experiencia de Cavestany y otros, comparando dos protocolos con y sin progestágenos, arrojó para el primero 47% de celo versus 23%.

En un intento de aumentar el % de celo, varios investigadores complementaron el tratamiento con aplicaciones de estradiol según metodología siguiente:

GnRH y progestágeno	día 0
Extracción progestágeno	más
PGF2 α	día 7
Estradiol	día 8
GnRH	día 9
IATF	16 horas mas tarde

Este protocolo mejoró el % de celo y simetría con ovulación logrando un mayor porcentaje de fecundación.

Cualquiera fuera el protocolo seleccionado, la IATF deberá evaluarse en función de ventajas y desventajas.

Desde el punto de vista económico y práctico, el mayor beneficio parecería ser la posibilidad de inseminar un lote de vacas en un par de horas, lo que supone economía de honorarios técnicos, mano de obra, alquiler de termos, nitrógeno etc. Resulta también muy ventajoso inseminar el 100% de las vacas sin detectar celo, lo que supone un 25 a 30% mas, que sincronizando solo con PGF2 α .

Una de sus desventajas puede ser el costo de las hormonas, las que de acuerdo a colegas de nuestro país se estima podría llegar a 15 USA por vaca; no es menor desventaja el menor % de preñez logrado en comparación con la sincronización tradicional.

La profesión veterinaria enfrenta la desventaja de confrontar tecnificación versus beneficio económico; una anécdota clarificará lo expresado: años atrás un joven colega recién egresado de la Facultad debió atender una metritis en una lechera perteneciente a un humilde tambero.

El colega inundó al animal con sulfas y penicilinas recién ingresadas al rubro terapéutico y consiguió salvar al animalito. Días después el tambero volvió muy contento para agradecer al colega y requerirle sus honorarios. Nada, le dijo éste, le cobraré solo los medicamentos, lo que determinó mas agradecimiento de su cliente. Es tanto le dijo finalmente y el tambero casi se desmaya; el costo de éstos superaba largamente el valor del animal.

En nuestra profesión, una exitosa tecnología será útil según sean los precios de carne, lecho o lana, de modo que podrá servir un año y no al siguiente.

En relación a este tema, resulta interesante un trabajo del colega Cavestany y col. en el que fue ensayado el siguiente protocolo: cuatro días de detección de celo e inseminación cada día, PGF2 α al día cinco, e inseminación a celo detectado, lo que permitió lograr con este simple protocolo mejor resultado que con algunos de mencionados anteriormente.

La tecnología de la IATF no puede agotarse en tan poco tiempo y es probable que aún pueda mejorarse más.

14) ESTADO ACTUAL DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN URUGUAY

Si bien los datos aportados por el Dr. Leandro Fernandez - Director del Dpto. de Reproducción de DILAVE - pertenecen a 1998, las cifras parecerían no haber variado sustancialmente en las siguientes dos temporadas (Cuadro 1).

En cuanto al semen nacional, no disponemos de cifras referentes a la modalidad pellets y pajuela; en un principio, la primera había desplazado totalmente a la ampolla y/o tubo de vidrio; posteriormente la modalidad pajuela tomó decidido impulso. Mientras el sistema pellets mantiene aún su liderazgo cuando se congela en los propios establecimientos, la pajuela es cada vez más requerida, principalmente en Centros de Toros.

El pellet carece de identificación personalizada y debe manejarse dentro del Banco de Semen en términos de inseminación con mayor precaución; sigue teniendo ventaja en cuanto a la facilidad de conge-

lación y menor volumen de ocupación en los Bancos, pero en momentos de inseminar requiere el agregado de diluyente no siempre en buen estado de conservación, lo cual ha sido motivo de serios fracasos.

La pajuela requiere mayor complicación para congelar, tiene identificación permanente y no necesita diluyente en momentos de la inseminación.

Desde el punto de vista de la fertilidad, no existe diferencia alguna entre ambas modalidades.

15) DIFERENCIAS TECNOLOGICAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL A TRAVES DEL TIEMPO EN URUGUAY

El toro y su producción de semen

Década del 40. Por lo general animales de exposición, excesivamente gordos, sin líbido, proveedores de semen de baja calidad o en todo caso muy irregulares; no

siempre dispuestos a trabajar determinando muchas veces que vacas en celo debieran volver al rodeo sin ser inseminadas. La calidad del semen puede variar cada día, determinando mayor porcentaje de repetición, prolongación del trabajo y superior costo, (Foto 10).

Década del 60 en adelante. Si bien no se llega al estándar de perfeccionamiento alcanzado en los Centros de Toros internacionales en cuanto a condiciones sanitarias, ni tampoco al riguroso régimen nutritivo y sexual que asegure la producción regular de buen semen, se trabaja con toros más livianos, criados en forma más natural y con cierto entrenamiento para la vagina artificial. En todo caso y en circunstancias especiales se usa el electroeyaculador, (Foto 11).

A partir de 1965 comienza a congelarse en pellet y la presencia del toro en los establecimientos en momento de llevarse a cabo la inseminación, pierde vigencia al quedar asegurada iniciación y finalización de los trabajos.

Cuadro 1.

Bancos de semen	42
Centros de toros	4
Vacas aptas para el servicio	3 030 500 razas de carne 486 300 razas de leche TOTAL 3 516 800
Vacas inseminadas	424 000 semen congelado 500 semen fresco TOTAL 424 500
Según razas -primera inseminación-	290 000 razas lecheras 120 000 razas de carne
Semen congelado en el país	14 000 razas varias 150 000 toros de carne 150 000 toros de leche 28 000 razas varias TOTAL 328 000
Semen importado	281 000 toros de leche 45 000 toros de carne 3 000 razas varias TOTAL 329 000



Foto 10. Campeón de un Torneo de 1940; gordo en exceso, bajo, reforzado, línea abdominal casi contra el suelo, patas cortas... dificultad para caminar y mucho más aun para montar.

La vaca

Década del 40. Se conoce poco sobre fisiología de reproducción de la misma, se da menos importancia a la CC. y la influencia negativa del amamantamiento, desconocimiento que conduce a largos y costosos períodos de inseminación. con irregulares porcentajes de preñez.

Década del 60 en adelante. Aumentan considerablemente los conocimientos sobre fisiología de la reproducción y

comienza a manejarse en forma adecuada el problema de la nutrición y la influencia del ternero en la vaca de cría. A partir de 1965 empieza a sincronizarse celo, primero a base de enucleación manual del CL y prostaglandina mas tarde, lo que facilita el manejo del rodeo y disminución del período de inseminación.

El conocimiento pormenorizado de la dinámica folicular conduce a la IATF, haciendo posible que trabajos que años

atrás necesitaban 60 o más días, puedan ejecutarse hoy en un par de horas.

Por otra parte - independientemente del factor toro-vaca, no puede soslayarse la enorme simplificación del trabajo de los técnicos, antes dedicados al manejo del toro, extracción de semen, evaluación del mismo, esterilización de instrumental etc. actualmente solo dedicados a introducir el semen en el cervix o útero.

16) INSEMINACION ARTIFICIAL EN EL FUTURO

Pocas - si alguna - han sido las disciplinas veterinarias que hayan logrado un progreso tan destacado como la inseminación artificial en estos 60 años y que simultáneamente, hayan impactado tanto en aspectos técnicos, económicos y comerciales a veces trascendentes - como haber sustituido la importación-exportación de reproductores, por la mas simple, eficiente y económica importación de semen.

Al hacer esta valoración, no olvidamos el progreso también notorio en otros importantes rubros de la reproducción, como el trasplante y congelación de embriones, la fertilización in vitro, la clonación y otros, algunas de cuyas técnicas se desarrollan ya en nuestro país.

Se nos ocurre sin embargo, que quedan aún dos problemas importantes sin resolver y que han sido motivo de investigación desde hace muchos años: nos referimos a : **sexo a voluntad** y **liofilización** del semen.

La obtención de **sexo a voluntad**, tendría gran repercusión fundamentalmente en razas lecheras, conocida la aspiración de los tamberos de obtener hembras mas que futuros novillos.

La idea ha sido, poder separar los espermatozoides X que dan origen a hembra, de los Y que originan machos, para lo cual han sido ensayadas múltiples investigaciones: centrifugación del semen a altísimas revoluciones, reacciones químicas, físicas o eléctricas, las que no han alcanzado aún un porcentaje de éxito que habilite el método para ser utilizado comercialmente. En un reciente Congreso en Buenos Aires, fue presentado un trabajo por el que se lograba un muy aceptable porcentaje de éxito, pero a un cos-

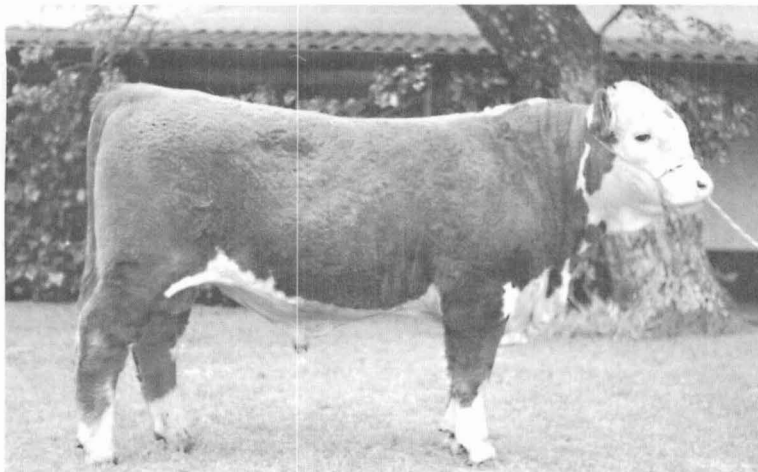


Foto 11. Toro moderno de 1990: liviano sin manto excesivo de grasa sobre las costillas, línea abdominal despegada del suelo, patas largas que facilitan la movilidad y la monta.

to tan elevado que impediría - por ahora - la comercialización del mismo.

La **liofilización** del semen, parecería ser un problema bastante mas complejo y solo se conoce la presentación en un Congreso en USA. de un investigador que habría logrado que una vaca tuviera su ternero mediante inseminación con semen liofilizado. La repercusión de ese logro, provocaría una verdadera revolución, e incluso podría producir un caos en la enorme industria fabril de termos y nitrógeno, mientras por otro lado, des-

aparecería la conservación de semen, guardándose polvo de éste en cualquier tipo de envases en cajones o estantes.

Siempre hemos sostenido que el progreso no es siempre progreso en el mas amplio sentido de la palabra y este parecería ser un caso mas.

Hemos realizado una larga cabalgata de 60 años en el desarrollo de la inseminación en Uruguay; habremos olvidado acontecimientos, omitido otros y equivocado conceptos, pero esta historia está dedicada espe-

cialmente a los jóvenes colegas para recordarles las enormes dificultades que hubieron de vencerse antes de alcanzar el actual desarrollo de esta disciplina.

Agradecimientos

Al Dr. Daniel Cavestany por revisión de los cap. referidos a la reproducción e IATF.

Al bachiller Andrés Capurro por su invaluable ayuda en cuanto a armado y compaginación en la computadora.

Referencias Bibliográficas

- Blanc J, Ferraris A, Cavestany D.S.C. e IATF en vaq Hol. en Litoral Urg. CMB.** 2000 Bonsma Estudios sobre selección del ganado. Hemisferio Sur.
- Carbonero Bravo D.** 1994. Recientes avances en Veterinaria.
- Castrillejo A., Pérez R. y López A.** 1992. Estacionalidad reproductiva en carneros en Urg. 1992, 5to. Cong. Nac. de Vet.
- Cavestany D., Negrín N., Negrín R. y Groth J.** 2000. Respuesta vacas de carne con cría al pie y vaq. a diferentes esquemas de SC. C.M.B.
- Cavestany D., de Nava G. y Galina C.** 2000 SC con IATF como alternativa para incrementar la eficacia reproductiva en un programa de IA en lecheras en pastoreo. C.M.B.
- Cavestany D., Meikle A., Kindahl H., Forsberg M., Thatcher W., Moreira F., Van Lier E.** 2000. Addition of MAP to a timed insemination protocol in dairy cows. C.M.B.
- De Nava G., Cavestany D.** 2000 Respuesta a administración de Progestágenos vacas Hol. de primera lactancia en APP. CMB.
- De Nava G., Romero D., Rodriguez M., Gil A.** 2000. Performance reproductiva de vaq. Hol. Sometidas a dos programas de IATF con o si resincronización de retornos CMB.
- Dick A. y col.** 2000. Uso estretégico del estradiol y su efecto en la fertilidad en programas de inducción y control de celo en bovinos de carne CMB.
- Durán del Campo A.** 1968. Algunos aspectos poco difundidos sobre producción de carne. Cong. Fed. Rural.
- Durán del Campo A.** 1959. Sincronización inducida de celo y su aplicación a la IA en ovinos. Rev. Med. Vet. N°57
- Durán del Campo A., Cash R.** 1982. SC en ovinos mediante uso de PGF2 α Cong. Nac. de Vet.
- Durán del Campo A. Durán G.** 1990. Resultados logrados con PGF2 α : CS en ovejas « Actualidades y Técnicas Vet. N° 77.
- Durán del Campo A. Echavarren A.** 1966. Congelación de semen en forma de pellet. Primeos ensayos en Urg. La propaganda Rural N° 1159.
- Durán del Campo A., Durán G.** 1992. Resultados logrados utilizando semen congelado hace mas de 25 años. Rev. ARU.
- Fernández Goyechea A.** 1942. Sobre IA. La Propaganda Rural N° 872 y 873 .
- Gutiérrez Fabre J.C.** 1943. Trabajos de fecundación artificial realizados en Uruguay. Anales Fac.Vet.
- Fernández A.** 1998. Ondas foliculares: importancia en los métodos de SC en bovinos. Practica Vet. N°6.
- García A.** 2000. Requerimientos alimenticios de la vaca de cría. Sem.vaca de cría, Salto.
- Macmillan K.L.** 1999. Nuevas herramientas de manejo reproductivo. Rev. Inst. Plan Agropecuario
- Moreira F., Cavestany D., Thatcher W.** 2000. Different strategies for MAP used within a timed AI protocol CMB.
- Nagase H., Niwa** 1964. Deep freezing bull semen in concentrated pellet form V^a Int. of AI, Trento Cong.
- Orcasberro R.** 2000. Manejo nutricional del rodeo de cría bajo condiciones pastoriles del país Sem. Vacas de cría, Salto.
- Paramidani E., Pendola C.** 2000. IA en vacas con cría al pie: resultados obtenidos con CIDR CMB.
- Pereira I.** 1998. El anestro postparto en ganado de cría Practicas Vet. N°7.
- Quintans G.** 2000. Dinámica folicular posparto en vacas de cría del Urg. Sem. vacas de cría, Salto.
- Riet J. Echenique L. Jaunsolo.** 1938. La IA y posibilidades en Urg.» Bol.D. de G. 1938.
- Thatcher W.W. y col.** 1997. Sincronización del estro en rodeos lecheros: manejo del desarrollo folicular con GnRH, IATF . Fac.Vet. Urg. - Atlántida.
- Viñolis C.** Some aspects on the effects of oestrus synchronization treatment on ovarian dynamics in the cyclic ewe. Tesis Fac.VET Montevideo y Fac. of Med. Vet. Uppsala/Sweden.

