

**RESPUESTA REPRODUCTIVA A LA
INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL AGUDA CON
ERGOALCALOIDES EN BOVINOS**

ADRIANA BENGOLEA

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito
parcial para optar al título de

MAGISTER SCIENTIAE en Salud Animal

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Estación Experimental Agropecuaria Balcarce- INTA

Balcarce, Argentina

RESPUESTA REPRODUCTIVA A LA INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL AGUDA CON ERGOALCALOIDES EN BOVINOS

ADRIANA BENGOLEA

Med. Vet. Ernesto R. Odriozola, Ms Phil.

Director de tesis

Med. Vet. Juan F. Aller Atucha, MsC

Co-director de Tesis

RESPUESTA REPRODUCTIVA A LA INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL AGUDA CON ERGOALCALOIDES EN BOVINOS

ADRIANA BENGOLEA

Aprobada por:

Evaluador Externo: Med. Vet. Franklin Riet Correa, Ph.D.

Evaluadora Externo: Med. Vet. Ofelia Tapia, Ph.D.

Evaluador Externo: Med. Vet. Rodolfo Rivero

Agradecimientos

A Juan Aller y Ernesto Odriozola por el tiempo, la dedicación y la paciencia.

A todos los residentes que colaboraron y me acompañaron a la reserva, especialmente a José Bodega que me ayudo en todos los ensayos.

A toda la gente de la Reserva 7, Ricardo, Fernando, Juan y Luis por el trabajo con los animales y la predisposición.

A Lalo por estar siempre durante estos años y sobre todo por la paciencia!!!

A Vero y Ari por haber colaborado desinteresadamente en cualquier cosa que necesitara.

A Germán Cantón y Naty Weber por toda su ayuda y colaboración en distintas actividades.

A Marita por todo lo relativo al trabajo, por la amistad y los momentos compartidos

A todos los compañeros/as de Chinchorro, desde el 2007 en adelante, especialmente a mi queridísima Viyar por tantas aventuras compartidas, a Marcelo y Carlos por los días de estudio en que nos reímos mucho mucho, a Francisco, Demián y Pablo por los momentos compartidos y alguna que otra comidita.

A todos con los que compartí oficina, Demián, Carlos, Ceci, Roxana, Raquel (la tronca), y los a los que me ayudaron con los ensayos, Pato, Roxana, Martín.

A las mujeres de los laboratorios (Dori, Maria, Mónica, Kiki y Tania) que me facilitaron elementos para el trabajo.

A Andrea Verna por ser tan molesta....

A Karina Frigerio de la EEA San Luis, sin su participación, colaboración y tiempo hubiera sido imposible realizar el análisis estadístico, gracias nuevamente.

A Jorge Veneciano quien leyó el primer borrador y me supo convencer que no estaba tan mal.

A Ricardo Sager por darme ánimos y apoyo en los momentos difíciles

Y a todos los compañeros de la EEA San Luis que colaboraron de alguna manera.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Estructura de los ergocalcoides.....	5
2.2. Síntesis, absorción y metabolismo de los ergocalcoides.....	7
2.3. Usos terapéuticos de los ergocalcoides.....	9
2.4. Síndromes en animales asociados a ergocalcoides.....	10
2.5. Ergocalcoides y radiación solar.....	16
2.6. Efectos reproductivos de los ergocalcoides.....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Experimento 1.....	24
3.1.1. Ubicación geográfica	24
3.1.2. Registro de condiciones meteorológicas	24
3.1.3. Animales	24
3.1.4. Tratamientos	25
3.1.5. Frecuencia respiratoria	26
3.1.6. Temperatura rectal	26
3.1.7. Muestras sanguíneas	26
3.1.8. Diagnóstico de gestación	27

3.1.9.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	27
3.2.	Experimento 2.....	28
3.2.1.	Ubicación geográfica y época de realización.....	28
3.2.2.	Animales	28
3.2.3.	Registro de condiciones meteorológicas	28
3.2.4.	Tratamientos	28
3.2.5.	Muestreos sanguíneos	29
3.2.6.	Temperatura rectal	30
3.2.7.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	30
3.3.	Experimento 3	31
3.3.1.	Ubicación geográfica y época de realización.....	31
3.3.2.	Animales	31
3.3.3.	Registro de condiciones meteorológicas	31
3.3.4.	Tratamientos.....	31
3.3.5.	Obtención de líquido folicular	32
3.3.6.	Muestreos sanguíneos	32
3.3.7.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	33
3.4.	Experimento 4	34
3.4.1.	Ubicación geográfica y época de realización	34
3.4.2.	Animales	34
3.4.3.	Tratamientos	34
3.4.4.	Punción folicular	35
3.4.5.	Diseño experimental y análisis estadístico	35
4.	RESULTADOS	36
4.1.	Experimento 1.....	36
4.1.1.	Peso vivo	36
4.1.2.	Frecuencia respiratoria	36

4.1.3.	Temperatura rectal	38
4.1.4.	Prolactina sérica	38
4.1.5.	Progesterona plasmática.....	39
4.1.6.	Diagnóstico de gestación.....	40
4.2.	Experimento 2	40
4.2.1.	Temperatura rectal	40
4.2.2.	Prolactina sérica	41
4.2.3.	Progesterona plasmática.....	42
4.2.4.	Respuesta superovulatoria	42
4.3.	Experimento 3.....	43
4.3.1.	Prolactina sérica.....	43
4.3.2.	Progesterona plasmática	44
4.3.3.	Progesterona en líquido folicular	44
4.3.4.	Estrógeno en líquido folicular	45
4.4.	Experimento 4	45
4.4.1.	Progesterona en líquido folicular.....	45
4.4.2.	Estrógeno en líquido folicular	46
5.	DISCUSIÓN.....	47
5.1.	Frecuencia respiratoria.....	47
5.2.	Temperatura rectal.....	48
5.3.	Prolactina sérica.....	50
5.4.	Progesterona plasmática.....	52
5.5.	Porcentaje de preñez.....	54
5.6.	Progesterona en líquido folicular	55
5.7.	Estrógeno en líquido folicular	56
6.	CONCLUSIONES	57
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	58

8. APÉNDICE..... 65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Peso vivo (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado.....	36
Cuadro 2. Frecuencia respiratoria (FR) (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado para cada día de medición, temperatura ambiente máxima y valor del Índice de temperatura-humedad (ITH).....	37
Cuadro 3. Temperatura rectal (TR) (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado y temperatura ambiente máxima.....	38
Cuadro 4. Concentración de Progesterona plasmática (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado.....	39
Cuadro 5. Concentración de Progesterona Plasmática (promedio \pm de) para los animales preñados de los Grupos Control e Intoxicado.....	40
Cuadro 6. Número (%) de vacas preñadas según Grupo Control e Intoxicado.....	40
Cuadro 7. Temperatura rectal (TR) (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado y temperatura ambiente máxima.....	41
Cuadro 8. Concentración de Progesterona Plasmática (promedio \pm de) para los animales de los Grupos Control e Intoxicado.....	42
Cuadro 9. Número (promedio \pm de) de cuerpos lúteos y folículos producidos por los Grupos Control e Intoxicado.....	43
Cuadro 10. Promedio (\pm de) de progesterona plasmática para los Grupos Control e Intoxicado	44
Cuadro 11. Promedio (\pm de) de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	45
Cuadro 12. Promedio (\pm de) de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	45
Cuadro 13. Promedio (\pm de) de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	46
Cuadro 14. Promedio (\pm de) de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	46

Cuadro I. Concentración de prolactina sérica (promedio \pm de) en los Grupos Control e Intoxicado.....	66
Cuadro II. Concentración de prolactina sérica (promedio \pm de) en los Grupos Control e Intoxicado.....	67
Cuadro III. Concentración de prolactina sérica (promedio \pm de) en los Grupos Control e Intoxicado.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Experimento 1.....	26
Figura 2. Experimento 2.....	29
Figura 3. Experimento 3.....	32
Figura 4. Experimento 4.....	34
Figura 5. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.....	39
Figura 6. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.....	42
Figura 7. Correlación entre número de cuerpos lúteos y concentración de progesterona plasmática.....	43
Figura 8. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.....	44
Figura I. Frecuencia respiratoria (FR) (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado para cada día de medición.....	66
Figura II. Promedio de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.....	68
Figura III. Promedio de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	68
Figura IV. Promedio de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.....	69
Figura V. Promedio de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado	69

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los ergoalcaloides sobre la tasa de preñez y las concentraciones hormonales en los bovinos. Se realizaron 4 experimentos en las instalaciones de la Reserva 7 de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce. El experimento 1 se realizó entre enero y marzo de 2009 y su objetivo fue evaluar la viabilidad embrionaria-fetal hasta los 76 días de gestación. Se utilizaron 20 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruizas con peso vivo de $312 \pm 20,3$ kg (media \pm de). Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos. Al Grupo Control (GC; n=10) se le administró solución fisiológica, al Grupo Intoxicado (GI; n=10) se le aplicaron 10 mg de una mezcla de ergoalcaloides vía endovenosa (EV) ($32 \mu\text{g}/\text{kg}$ PV) en 5 oportunidades; en los dos grupos los celos fueron sincronizados con dispositivos intravaginales de progesterona e inseminados a tiempo fijo. Diariamente se midió la frecuencia respiratoria (FR) y en 5 oportunidades se midió la temperatura rectal (TR) y se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de progesterona y prolactina. El diagnóstico de gestación se realizó mediante ecografía el día 32 posIA. La FR fue superior en el GI en 15 días. La TR promedio del GC fue superior a la del GI, $38,8$ y $38,5^\circ\text{C}$ respectivamente. La concentración de prolactina sérica se comportó de manera similar para ambos grupos sin diferencias significativas. La concentración de progesterona plasmática no difirió entre los grupos. El porcentaje de preñez no difirió significativamente entre los grupos, 70 y 63 % para el GI y GC respectivamente. El experimento 2 se desarrolló en junio de 2009, tuvo una duración de 23 días y su objetivo fue medir la respuesta superovulatoria. Se utilizaron 20 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruizas con peso vivo de $303 \pm 21,5$ kg (media \pm de). Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos de 10 animales. Al GC se le administró solución fisiológica, al GI se le aplicaron 10 mg de tartrato de ergotamina (TE) ($33 \mu\text{g}/\text{kg}$ PV) EV en 9 oportunidades. En los dos grupos los celos fueron sincronizados con dispositivos intravaginales de progesterona y luego se les aplicó un tratamiento superovulatorio. Se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de progesterona y prolactina. El número de cuerpos lúteos (CL) producidos se contó como medida de la respuesta superovulatoria. La concentración de prolactina fue significativamente mayor para el GC durante todo el periodo de ensayo. No se detectaron diferencias significativas para las concentraciones de progesterona. La respuesta superovulatoria no difirió entre los grupos, los promedios fueron 5,5 y 4,8 CL para el GC y el GI respectivamente. El experimento 3 se llevó a cabo en julio de 2009 y duró 14 días, su objetivo fue conocer aspectos endócrinos del folículo dominante. Se utilizaron 19 vaquillonas Aberdeen

Angus, Hereford y sus cruzas con peso vivo de $298 \pm 17,5$ kg (media \pm de). Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos. El GC (n=9) recibió solución fisiológica, al GI (n=10) se le aplicó 10 mg TE ($33 \mu\text{g}/\text{kg PV}$) EV en 5 oportunidades. En ambos grupos se sincronizaron los celos. Se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de progesterona y prolactina y se extrajo líquido folicular, en el cual se midió la concentración de progesterona y estrógeno. La concentración de prolactina fue mayor en el GC durante todo el ensayo, la concentración de progesterona no difirió entre los grupos. En el líquido folicular no se detectaron diferencias para la concentración de estrógeno mientras que la concentración de progesterona fue significativamente mayor en el GI. El experimento 4 se realizó en marzo de 2010 y tuvo una duración de 30 días. Se utilizaron 16 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruzas con peso vivo de $404 \pm 28,4$ kg (media \pm de). Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos. El GC (n=8) recibió solución fisiológica y el GI (n=8) recibió 10 mg de TE ($24 \mu\text{g}/\text{kg PV}$) EV en 12 oportunidades. Se extrajo líquido folicular semanalmente en el cual se midieron las concentraciones de progesterona y estrógeno. No se detectaron diferencias significativas para estos parámetros. La administración de un solo ergocalcoide, o una mezcla de tres, no afectó significativamente la temperatura rectal, el porcentaje de preñez, la respuesta superovulatoria, las concentraciones de progesterona y las concentraciones de progesterona y estrógeno en líquido folicular. Si afectó significativamente la concentración de PRL en uno de los experimentos realizado en invierno.

Palabras claves: ergotamina, preñez, prolactina, frecuencia respiratoria.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the effect of ergo alkaloids on pregnancy rates and hormones concentrations in cattle. It was performed 4 experiments. Respiratory rate (RR), rectal temperature (RT), serum prolactin (PRL), plasmatic progesterone (P4), pregnancy rate (PR), superovulatory response and hormones levels in follicular fluid were measured. The exp.1 was performed during 76 days in summer months of 2009, twenty British-cross heifers, BW 312 ± 20.3 kg, were randomly assigned to either control (CG) or intoxicated group (IG). The IG received 5 bolus i.v. injections of an ergo alkaloids mix (ergotamine, ergocriptine and ergocristine; $32 \mu\text{g}/\text{kg}$ BW), and the CG received .9% sterile saline. Both groups were estrus synchronized with progesterone intravaginal devices and fixed-time inseminated. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography on day 32 pos fixed-time insemination. RR was higher in the IG in 15 days. The average TR was higher in CG than in IG, 38.8 and 38.5 ° C respectively. Serum prolactin concentration behaved similarly for both groups without significant differences. Plasma progesterone concentration did not differ between groups. The pregnancy rate did not differ significantly between groups, 70 and 63% for IG and CG respectively. Exp. 2 was developed in June 2009, lasted 23 days. Twenty British-cross heifers, BW 303 ± 21.5 kg, were randomly allotted into 2 groups of 10 animals. CG was given saline; IG received 10 mg of ergotamine tartrate (ET) ($33 \text{ mg}/\text{kg}$ BW) EV in 9 opportunities. Both groups were estrus synchronized with progesterone intravaginal devices and then applied a superovulatory treatment. Blood samples were taken for determination of progesterone and prolactin. The number of corpora lutea (CL) produced was counted as a measure of the superovulatory response. Prolactin tended to be higher for the GC at baseline (day 2) and half of the experiment (day 11). Non significant differences were detected for progesterone. The superovulatory response did not differ between groups. Exp. 3 was conducted in July 2009 and lasted 14 days. Nineteen British-cross heifers, BW 298 ± 17.5 kg, were randomly allotted into 2 groups; CG (n=9) received saline and IG (n=10) 10 mg ET ($33 \mu\text{g}/\text{kg}$ BW) EV 5 times. Both groups were estrus synchronized. Blood samples were taken for determination of progesterone and prolactin; and follicular fluid was extracted for determination of progesterone and estrogen. The concentration of prolactin was higher in the CG during the test; the concentration of progesterone did not differ between groups. In the follicular fluid were not detected differences for the concentration of estrogen while progesterone concentration was significantly higher in IG. Exp. 4 was conducted in March 2010 and lasted 30 days. Sixteen British-cross

heifers, BW 404 ± 28.4 kg, were randomly allotted into 2 groups; CG (n=8) received saline and IG (n=8) 10 mg ET ($24 \mu\text{g/kg BW}$) EV 12 times. Weekly follicular fluid was extracted for progesterone and estrogen levels. No significant differences were detected for these parameters. The administration of a single ergo alkaloid, or a mixture of three, did not significantly affect rectal temperature, pregnancy rate, superovulatory response, concentrations of progesterone and prolactin and concentrations of progesterone and estrogen in follicular fluid under conditions which were conducted these four experiments.

Key words: ergotamine, pregnancy rate, prolactin, respiration rate.

1.1. INTRODUCCIÓN

Los ergocalcoides (EA) son metabolitos secundarios producidos por algunos hongos que se encuentran distribuidos en todo el mundo. Los más importantes son los géneros *Neotyphodium* y *Claviceps*. El primero es un endófito que infecta a gramíneas como la festuca y el raigrás y le confiere a la planta mayor resistencia a la sequía y a los insectos, por esto tuvo una amplia aceptación y distribución; el segundo infecta a más de 400 gramíneas y cereales. En *Claviceps* los ergocalcoides están contenidos en los esclerotos (forma de resistencia), masa de consistencia dura, color púrpura oscuro y de tamaño similar a las semillas a las cuales reemplaza en la espiga. En el mercado de granos se han establecido niveles de tolerancia a los esclerotos, dependiendo del país. La presencia de éstos disminuye la calidad y el valor de los mismos.

Hasta el momento se han aislado más de 80 EA. En la naturaleza generalmente se encuentran combinaciones de los mismos y en pocos casos por separado. El consumo de estos EA produce, en animales y en humanos, similares signos clínicos. En la antigüedad los casos en humanos fueron más frecuentes debido al consumo de pan de harina de centeno contaminado con esclerotos de *Claviceps purpurea*. En la actualidad los casos en humanos son sólo esporádicos ya que los cereales son sometidos a procesos de limpieza mecanizados y más rigurosos (Urga *et al.*, 2002). Los EA también afectan otros organismos como bacterias, nematodos e insectos. Hasta el momento no se ha esclarecido qué mecanismos utilizan, por lo que la importancia ecológica de los EA sigue siendo una incógnita (Panaccione, 2005).

En los animales los casos de intoxicación pueden ser producidos al consumir festucas infectadas con el hongo endófito productor de EA, este síndrome es conocido como "festucosis" y se han reportado cuatro formas de presentación, gangrena en las extremidades, disminución en la producción láctea, síndrome distérmico y fallas reproductivas. Estos 4 síndromes también pueden ser debidos al consumo de EA contenidos en los esclerotos de *C. purpurea*. La variedad de signos clínicos que pueden producir se debe a que poseen estructura química muy similar a ciertos neurotransmisores con actividades diversas en los seres vivos, como son noradrenalina, serotonina y dopamina. Pequeños cambios en la estructura de los EA resultan en grandes cambios en su actividad biológica.

Los trabajos que se han realizado para caracterizar las pérdidas reproductivas en bovinos que consumen EA han tenido resultados contradictorios, pero se ha podido establecer que las fallas ocurren durante el período embrionario de la gestación. Los efectos están muy relacionados con el tipo de ergocalcicole consumido, la dosis y el tiempo de consumo. La temperatura ambiente superior a los 25°C es muy importante para la presentación de algunos signos clínicos. No se ha podido establecer aún el mecanismo por el cual los EA afectan las concentraciones de hormonas relacionadas con la reproducción y de hormonas relacionadas con el metabolismo en general. En algunos casos se han demostrado alteraciones pero los resultados han sido muy variables y contradictorios. Algunos autores han registrado menor ganancia de peso en novillos que consumieron esclerotos de *Claviceps purpurea* mezclados con la ración (Khalloub *et al.*, 2007).

En el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE)* se han registrado en los últimos diez años 94 casos relacionados con EA (comunicación personal**), ya sea provenientes de *C. purpurea* o de *N. coenophialum*. No todos estos casos estuvieron relacionados con fallas reproductivas, pero es una muestra de la presencia de este problema. Se puede notar estacionalidad en la presentación de los casos, con picos en los meses de verano cuando en las pasturas se pueden ver los esclerotos de *C. purpurea* y las temperaturas son más elevadas, y menos casos durante el resto del año, los cuales en su mayoría corresponden a EA provenientes de *N. coenophialum*.

Las pérdidas económicas que se producen en el sector ganadero por el consumo de EA no están estimadas en nuestro país, pero teniendo en cuenta las pérdidas que producen tanto en la fertilidad como en la ganancia de peso, se puede suponer que son importantes. En Estados Unidos, donde la superficie sembrada con festuca supera los 12 millones de ha (Peters *et al.*, 1992), se calcula que las pérdidas en la producción ganadera debidas al consumo de EA provenientes de la festuca tóxica se acercan a los USD 600 millones por año (Hoveland, 1993), de los cuales la mitad se podrían atribuir al mal desempeño reproductivo (Burke *et al.*, 2001a).

*SDVE (Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado) INTA Balcarce

** Ernesto Odriozola (INTA EEA Balcarce)

1.1 Hipótesis

- La administración de ergocalcoides reduce la tasa de gestación y la viabilidad embrionaria-fetal por cambios en la funcionalidad ovárica en bovinos de carne.
- La administración de ergocalcoides reduce la tasa de preñez en bovinos debido a los efectos que produce en la capacidad de regulación de la temperatura corporal.
- La administración de ergocalcoides reduce la tasa de preñez en bovinos a causa de dificultades en la circulación periférica.

1.2 Objetivo general y objetivos particulares

Objetivo general

- Evaluar los efectos de la administración de ergocalcoides sobre la tasa de preñez y concentraciones hormonales en bovinos.

Objetivos particulares

- Determinar la tasa de fertilización y viabilidad embrionaria
- Determinar la viabilidad embrionaria fetal hasta los 60 días de gestación
- Evaluar el efecto de los ergocalcoides en la frecuencia respiratoria y temperatura rectal.
- Determinar la concentración de prolactina sérica en diferentes días posintoxicación.
- Determinar la concentración de progesterona plasmática en diferentes días posintoxicación.
- Determinar la concentración de progesterona en líquido folicular en diferentes días posintoxicación.
- Determinar la concentración de estrógeno en líquido folicular en diferentes días posintoxicación.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Numerosas especies de hongos producen ergocalcoides (EA) como metabolitos intermedios. Estas especies de hongos provienen de los órdenes *Hypocreales* y *Eurotiales*. Dentro del primer orden el más importante es la familia *Clavicipitaceae*, con los géneros *Claviceps*, *Epichloë* y *Neotyphodium*. Estos géneros difieren en sus ciclos de vida, en los huéspedes que infectan y en los EA producidos. *Epichloë* y *Neotyphodium* viven como endófitos en simbiosis con los pastos otorgándoles a éstos características deseables como resistencia a la sequía y a los insectos. Cumplen todo su ciclo de vida dentro de las plantas huéspedes y no son visibles externamente. Sólo se diseminan a través de semillas contaminadas. El más conocido es *Neotyphodium coenophialum*, el cual parasita a la festuca (*Festuca arundinacea*). El género *Claviceps* corresponde a parásitos especializados que infectan las inflorescencias de más de 600 monocotiledóneas, *C. purpurea* tiene un amplio rango de huéspedes que incluyen a más de 400 especies (Taber, 1985). Este hongo infecta el ovario, siguiendo casi la misma ruta que el polen durante la fertilización. Normalmente el polen requiere de algunas horas para la fertilización, mientras que al hongo le toma 2 o 3 días para colonizar el ovario. Las flores son susceptibles mientras los estigmas permanecen receptivos y no después que sus ovarios han sido fertilizados. La infección se lleva a cabo al ponerse en contacto una espora o un conidio con los estigmas. Las hifas del hongo crecen a través del estilo y llegan al ovario, donde el hongo establece una interfase que interfiere con las funciones del floema. Detrás de la interfase cesa el crecimiento del hongo. El hongo forma un estroma blanquecino (sphacelia) que a los 7 días postinfección (Tudzynski; Scheffer, 2004) comienza a producir un exudado dulce y pegajoso llamado "miel" que contiene gran cantidad de conidios que, arrastrados por los insectos, viento o lluvia pueden infectar otras flores (forma secundaria de infección). Más tarde, aproximadamente a las 2 semanas, cesa la producción de "miel" y desde el centro del estroma proliferan células redondas con una gruesa pared celular; estas células acumulan lípidos y alcaloides y forman la estructura soporte llamada escleroto. En 5 semanas el desarrollo de los esclerotos está completo y caen al suelo, donde pasan el invierno, y en la primavera o al comienzo de la estación lluviosa germinan dando lugar al estado sexual, coloreado que consiste en un pieza alargada y una punta globosa o cabeza, dentro de la cual el peritecio oval produce ascosporas filamentosas, que son eyectadas y dispersadas por el viento.

Las gramíneas contaminadas pueden ser reconocidas por la presencia de los esclerotos que protruyen de las espigas y se ven como semillas oscuras o negras. De todas maneras, en los estadios tempranos (sphaecelia) el hongo puede pasar desapercibido, el tejido fúngico permanece oculto entre las glumas y el exudado pegajoso y dulce que contiene los conidios es el único signo de la enfermedad (Pazoutova, 2008).

Los EA producidos por estos hongos son bien conocidos por su papel en intoxicaciones en humanos. En animales, los EA afectan el sistema nervioso central y el sistema simpático, y en cierta forma, el sistema inmune y el reproductivo. Esto resulta en síntomas como contracciones musculares, cambios en la presión sanguínea, disminución de la respuesta inmune, menor producción de leche y gangrena en las extremidades. Los diferentes EA ejercen sus efectos actuando en algunos casos como agonistas parciales y en otros casos como antagonistas en receptores de serotonina, dopamina y noradrenalina (Panaccione, 2005).

2.1. Estructura de los ergoalcaloides

Estructuralmente los EA son clasificados como derivados del ácido lisérgico o como derivados de la clavina. Los EA derivados del ácido lisérgico son de tipo aminoacídico y están subdivididos en dos clases: *aminoácidos simples*, entre los cuales se incluye a ergina y ergometrina y derivados peptídicos, éstos a su vez están divididos, de acuerdo a los resultados de la hidrólisis, en el grupo ergotamina, el grupo ergotoxina y el grupo ergoxina (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

En la hidrólisis los EA peptídicos se descomponen en ácido lisérgico, dos aminoácidos (uno de los cuales siempre es prolina y el otro puede ser fenilalanina, leucina, isoleucina o valina), α -cetoácido (ácido pirúvico, ácido dimetilpirúvico o ácido α -cetobutírico) y un equivalente de amonio. El grupo ergotamina produce ácido pirúvico mientras que el ácido dimetilpirúvico es producido por la hidrólisis del grupo ergotoxina. El grupo ergoxina produce por hidrólisis ácido α -cetobutírico (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Los aminoácidos simples son derivados de ácido d-lisérgico y d-isolisérgico. Son epímeros de 8 átomos de carbono. Ambos contienen el grupo indol incluido en un anillo de ergolina. Los ácidos lisérgico e isolisérgico son fácilmente interconvertibles en medio alcalino. Han sido aislados de esclerotos y también pueden ser obtenidos por hidrólisis alcalina de otros EA (aminoácidos simples) (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Los esclerotos de *Claviceps purpurea* y *C. paspali* contienen ácido lisérgico farmacológicamente activo, éstos son levorrotatorios o levemente dextrorrotatorios y sus nombres terminan en *-ina* (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

El ácido isolisérgico es el componente característico de los alcaloides dextrógiros de poca actividad y cuyos nombres terminan en *-inina* (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Ergometrina, el ergoalcaloide uterotónico específico, fue aislado en 1935 en cuatro laboratorios casi simultáneamente y por esto fue descrito con cuatro nombres diferentes. Los nombres de ergometrina y ergobasina se utilizan en Europa, ergonovina fue el nombre adoptado en los Estados Unidos como nombre oficial. Ergometrinina (ergonovinina), el epímero de 8 átomos de carbono, aparece sólo en pequeñas cantidades en los esclerotos junto con su isómero (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Los derivados peptídicos son EA que se caracterizan por el ácido pirúvico liberado en la hidrólisis alcalina. Los principales alcaloides pertenecientes a este grupo son: ergotamina, ergotaminina, ergosina y ergosinina (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

La ergotamina fue el primer alcaloide químicamente homogéneo, con actividad y amplia aplicación médica. Ergotaminina, el isómero de ergotamina, no es fácilmente soluble y cristaliza rápidamente. Ergosina y ergosinina no tienen actividad o aún no se les ha encontrado aplicación médica (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Los cuatro pares de compuestos conocidos en el grupo ergotoxina dan ácido dimetilpirúvico en hidrólisis. Ergocristina es un constituyente de esta mezcla, los otros constituyentes son ergocriptina (el ergoalcaloide más encontrado en pastizales en América del Sur) y ergocornina. Los tres alcaloides del grupo ergotoxina cristalizan 1:1:1 en la mezcla y por muchos años se pensó que eran un solo compuesto llamado ergotoxina, que tiene aplicación médica en sus derivados hidrogenados para el tratamiento de desórdenes cerebrovasculares y periféricos y para tratamiento de hipertensión (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

Los derivados de la clavina están presentes mayormente en esclerotos de *Claviceps* que parasitan especies silvestres. El cultivo saprofito de estas cepas puede producir clavina. Los alcaloides derivados de la clavina no tienen importancia

farmacológica, pero se está progresando en la aplicación terapéutica (Van Rensburg; Altenkirk, 1974).

2.2. Síntesis, absorción y metabolismo de los ergoalcaloides

Los hongos productores de EA no acumulan un único producto final, sino que producen un conjunto de diferentes EA característicos. Son combinaciones de derivados de la clavina, aminoácidos simples derivados del ácido lisérgico y EA peptídicos. En el raigrás (*Lolium sp.*) infectado por *Neotyphodium* se pueden encontrar similares concentraciones de derivados de la clavina y ergovalina, un alcaloide ergopeptídico. *C. purpurea* acumula en sus esclerotos aminoácidos simples derivados de la clavina y diferentes ergopéptidos. La vía metabólica de los EA parece ineficiente ya que no todos los intermediarios se transforman rápidamente en los productos finales, existen puntos definidos de la vía metabólica en los cuales los intermediarios alcanzan concentraciones similares a la de los productos finales. También existen derivaciones de ciertos intermediarios para la generación de productos finales alternativos. La acumulación de intermediarios y los productos finales alternativos, hacen suponer que los EA proveen de algunos beneficios a los hongos productores más allá de los que les confieren los productos finales de la vía metabólica (Panaccione, 2005).

El inicio de la síntesis bioquímica del anillo de ergolina, común a todos los EA, es a través del ensamble de una molécula de triptófano y una molécula de ácido mevalónico. El resultado es un intermediario (4-dimetilaliltriptófano) que sufre sucesivas oxidaciones y descarboxilaciones luego de lo cual se cierra el anillo de ergolina para formar ergoclavina. El grupo 8-metil de ergoclavina luego es oxidado para constituir la forma polar de la elimoclavina. Estos dos alcaloides derivados de la clavina difieren del anillo de ergolina de los EA solamente en la localización de la doble ligadura en el anillo D. Subsecuentes isomerizaciones del anillo cambian la posición del doble enlace y se forma la molécula de lisérgico, común a todos los EA. La molécula de lisérgico debe tener un anillo peptídico tricíclico unido vía carbonil a la posición 8 del anillo D para poder formar los EA peptídicos. Aproximadamente el 50% de los EA producidos por *Neotyphodium* en la planta de festuca son EA peptídicos (Hill, 2005).

La ergovalina es el ergocalcoide peptídico predominante y se diferencia químicamente de los otros EA peptídicos en que tienen un grupo metil y un grupo isopropil (Hill, 2005).

La absorción gastrointestinal de los EA involucra el transporte pasivo o activo facilitado a través del epitelio gastrointestinal. La solubilidad dentro del tracto gastrointestinal y el grado de ionización (que determina la partición de los EA entre las fases acuosa y lipídica), afectan en gran medida la velocidad y el grado de absorción de los EA. La mayoría de los EA son bases débiles, anfipáticas (poseen componentes polares y no polares). El abomaso posee un pH ácido, en ese medio no se absorben los EA, la absorción de estos compuestos está limitada a los preestómagos y el intestino. El rumen tiene un pH cercano a 7 (neutro) y no posee una capa mucosa que proteja el tejido ruminal del contenido, esto permite el transporte de nutrientes a través del epitelio ruminal. Luego de ser absorbidos, los EA son transportados por el sistema linfático a través del ducto torácico y la vena subclavia por el sistema portal y del hígado a la circulación sistémica (Strickland *et al.*, 2011).

El 96% de los EA consumidos por una vaca que pastorea festuca tóxica son eliminados por orina. En las heces de vacas de tambo se han detectado, mediante HPLC, el 24% de los ergopéptidos consumidos. La raza, estado fisiológico y las diferentes dietas que afectan el pH, la velocidad de pasaje y las diferentes clases de EA, contribuyen a las diferencias en los porcentajes de recuperación (Strickland *et al.*, 2011).

La biotransformación de los EA en los bovinos se asume similar a la de los animales de laboratorio y los humanos, debido a que existe poca información al respecto. Los EA son sujetos a oxidación, hidratación y epimerización en el C8 del anillo de ergolina, y otras reacciones más. La flora ruminal detoxifica algunas micotoxinas como la ocratoxina, el deoxinivalenol y la zearalenona, si bien la flora ruminal degrada los EA, el metabolismo de los mismos no se ha demostrado completamente. La fermentación ruminal libera componentes que no son metabolitos primarios, entre ellos los EA (Strickland *et al.*, 2011).

El ácido lisérgico y sus derivados han sido encontrados en plasma, pulmones, hígado, riñones, cerebro, intestinos, corazón y grasa de animales de laboratorio 90 minutos después de la administración EV de EA. La ergotamina se ha encontrado en menor concentración en sangre que en el resto de los tejidos excepto el cerebro, esto

está relacionado a la escasa solubilidad en agua de la ergotamina comparada con los otros EA. En bovinos no se conoce la distribución de los EA en los tejidos, Schumann et al. (2009) no detectaron EA en la leche de vacas que consumieron 4,1-16,3 µg/kg PV de EA. La dificultad en la detección de residuos de EA en los tejidos animales se debe en gran parte, a la baja sensibilidad y selectividad de los métodos de detección empleados, a medida que los métodos mejoren la selectividad y sensibilidad por metabolitos específicos en lugar de detectar compuestos generales se mejorará la detección de los EA en los tejidos animales (Strickland *et al.*, 2011).

2.3. Usos terapéuticos de los ergoalcaloides

Ergotamina es un agonista parcial de varios receptores triptaminérgicos, incluyendo el receptor de serotonina 5-HT₂, y varios receptores α-adrenérgicos en vasos sanguíneos y en músculo liso. La mayor actividad de la ergotamina y los compuestos relacionados es como agonista en los receptores 5-HT_{1/1D}. El uso terapéutico de la ergotamina es en la prevención de dolor de cabeza de origen vascular y en casos de aborto. Actúa contrayendo los vasos sanguíneos intracraneales e inhibiendo el desarrollo de inflamación neurogénica en el sistema vascular trigémino. Tanto la contracción arterial como venosa ocurre a dosis terapéuticas. La administración prolongada o la sobredosificación puede resultar en vasoconstricción periférica severa, ergotismo, gangrena o complicaciones de fibrosis (cardíaca, pulmonar o retroperitoneal) (Settivari, 2007).

La ergonovina es un antagonista selectivo y moderadamente potente en los receptores triptaminérgicos (serotonina) de músculos lisos, pero es sólo agonista o antagonista parcial en los receptores triptaminérgicos del Sistema Nervioso Central. En los vasos sanguíneos es antagonista débil en los receptores dopaminérgicos y agonista parcial en los receptores α-adrenérgicos. El efecto más pronunciado de la ergometrina es la estimulación directa del músculo liso uterino, resultando en un aumento del tono muscular e incremento de la fuerza y frecuencia de las contracciones rítmicas. Este efecto parece estar asociado con la actividad agonista o agonista parcial en los receptores 5-HT₂ de serotonina (Settivari, 2007).

Bromocriptina es un alcaloide semisintético derivado de EA naturales (α-ergocriptina). Aunque la bromocriptina tiene débil actividad antagonista sobre los receptores triptaminérgicos y α-adrenérgicos, la droga es un potente agonista de receptores de dopamina y actúa vía activación de ciertos receptores centrales de

dopamina (D2). Se sabe que la bromocriptina estimula los sitios pre y postsinápticos, promoviendo la liberación de dopamina e inhibiendo el uso de la misma. El efecto neto es una disminución en la tasa de reposición de dopamina sin cambios significativos en la concentración. Está indicada para el tratamiento de hiperprolactinemia y prolactinoma pituitario. La hiperprolactinemia es un estado de elevación persistente de los niveles séricos de prolactina (PRL). La secreción de PRL desde la hipófisis es inhibida por la dopamina. Los receptores de PRL se encuentran en la glándula mamaria, en hígado, riñón, corteza cerebral y vesículas seminales, lo que sugiere que la PRL está involucrada en numerosos procesos fisiológicos. La disminución del nivel de PRL conduce a agalactia, disminución de testosterona, deficiente espermatogénesis e inmunosupresión en grandes animales. La PRL tiene un rol importante en la regulación de la tasa de lipogénesis hepática, en el número de receptores de insulina, en el consumo diario, inmunomodulación, balance electrolítico y regulación de la temperatura. Otros efectos en los mamíferos son acción sinérgica con hormonas esteroideas y en las glándulas accesorias de los machos. La hipoprolactinemia asociada al consumo de EA puede afectar múltiples funciones vitales (Settivari, 2007).

El mecanismo de acción de los EA es ocupando receptores de aminas biológicas. La estimulación de los receptores α_2 -adrenérgicos resulta en aumento de la agregación plaquetaria que está involucrada en las coagulopatías y necrosis de tejido que ocurren en las intoxicaciones severas. La estimulación de los receptores de dopamina (D-2) provoca disminución en la secreción de PRL, que es la causa de la caída en la producción de leche. La ergina y ergovalina actúan en los receptores de serotonina (T-2). La serotonina tiene efectos en los centros hipotalámicos de la termorregulación y la saciedad, por lo que la actividad en esos receptores estaría involucrada en el aumento de la temperatura corporal y el menor consumo (Oliver, 2005).

2.4. Síndromes en animales asociados a ergocalcoides

Los síndromes producidos pueden agruparse en cuatro grandes categorías, síndrome distérmico, disminución en la producción de leche, gangrena en las extremidades y fallas reproductivas. El síndrome nervioso fue descrito hace tiempo, pero no se ha reproducido experimentalmente. En la actualidad no se lo considera un problema para los animales que consumen EA. Las respuestas de los bovinos a los EA son tratadas en el marco de su interacción con la temperatura ambiente (frío o

calor), ya que los signos producidos por el consumo de EA son exacerbados cuando las temperaturas son extremas.

La temperatura corporal de los bovinos está determinada por el clima (temperatura del aire, viento, humedad, radiación), y por la disponibilidad de agua y comida. El intercambio térmico entre el animal y el ambiente es a través de radiación, convección y evaporación. La tasa de intercambio depende de la capacidad del ambiente de aceptar calor o vapor de agua. La resistencia a estos intercambios impide la pérdida de calor por parte del animal aumentando su temperatura y reduciendo su apetito. La ingesta de los animales está directamente relacionada a todos los aspectos del metabolismo energético, con la liberación de calor para mantenimiento y con la producción. Toda interacción que el animal tiene con el ambiente involucra intercambio calórico, la tasa de intercambio determina el grado en el cual el animal permanece en equilibrio térmico con su ambiente. Durante el día la ganancia de calor por la radiación solar y el metabolismo usualmente exceden las pérdidas de calor por radiación, evaporación y convección, este exceso de calor se almacena en el cuerpo y eleva la temperatura. Por la noche el flujo de aire revierte y el exceso de calor es eliminado al ambiente, y la temperatura corporal desciende (Finch, 1986).

Las transformaciones energéticas que ocurren dentro del animal, inevitablemente generan calor. Parte de este calor, aproximadamente 15% en vacas con altas cargas calóricas, es eliminado a través de las vías respiratorias. El resto debe ser transportado a la piel donde es eliminado por convección, conducción o evaporativamente por medio de la transpiración (Finch, 1986).

El metabolismo es aproximadamente un tercio del calor total producido por bovinos para carne en ambientes cálidos, por esto, la habilidad de los animales para disipar el calor de manera eficiente es extremadamente importante para el mantenimiento de la temperatura corporal estable. Si la temperatura del aire excede la temperatura de la piel o si el animal está expuesto a los rayos solares, existe un flujo neto de calor hacia el interior del animal a través de todas las capas de la piel. Por esta razón, la resistencia de la cobertura del animal es de gran importancia para el control de la temperatura corporal. La capa de aire inmediata al pelo es otra barrera de resistencia al flujo de calor. Esta resistencia es determinada por la diferencia de temperatura entre la cubierta del animal y el ambiente, y los flujos de radiación y convección en la superficie de la cubierta (Finch, 1986).

La transpiración y el jadeo son procesos de pérdida de calor controlados por un mecanismo de “feedback” termorregulatorio. El gasto energético del jadeo es muy bajo, proviene de la redistribución del flujo sanguíneo en el cuerpo, hay un aumento de casi 3,5 veces en el flujo sanguíneo a los músculos respiratorios, donde el trabajo aumenta cuando el jadeo es intenso, y a los cornetes nasales donde tiene lugar la evaporación. De todas formas, tanto en ovejas como en vacas, el aumento en la frecuencia respiratoria está asociado con estrés calórico severo, no adaptación al medio y como último recurso para mantener la temperatura corporal estable (Finch, 1986).

El aumento en el contenido de humedad del aire que rodea la capa externa dificulta la evaporación desde la piel. Los altos porcentajes de humedad en el aire son la fuente principal de estrés calórico para el ganado. Éste es un inconveniente difícil de superar debido a que la capacidad de termorregulación está limitada por la facultad del ambiente para absorber humedad y no por la capacidad del animal para transpirar (Finch, 1986).

La disponibilidad de agua y comida tienen gran influencia en la temperatura corporal a través de la interacción fisiológica de energía y metabolismo del agua. Ingestas de buena calidad resultan en aumento de la tasa metabólica y elevación de los requerimientos de agua para el metabolismo intermedio y la termorregulación (Finch, 1986).

Pocos trabajos explican de qué manera el consumo de EA afecta la temperatura corporal en animales sometidos a estrés calórico y qué mecanismos intervienen en el control de la temperatura. Al-Haidary *et al.* (2001) realizaron un trabajo para caracterizar los cambios de temperatura corporal en ambientes termoneutrales (21°C), y en condiciones de estrés calórico (31°C) en bovinos de carne que consumieron festuca tóxica. Encontraron que el aumento de la temperatura corporal no estuvo acompañado de aumento en la temperatura de la piel, esto podría ser debido a que los EA presentes en la festuca disminuyeron el flujo sanguíneo periférico (Rhodes *et al.*, 1991) y de esta manera se redujo la capacidad para eliminar el exceso de calor por piel. En este trabajo los animales expuestos a ambientes termoneutrales mostraron cambios en la temperatura corporal, con valores más altos por la noche y los valores más bajos durante el día; en otros trabajos (Blight; Lampkin, 1965) encontraron que las máximas y mínimas temperaturas se presentaron a la inversa. En condiciones normales los animales utilizan las horas de la noche, cuando la temperatura ambiente

es menor, para eliminar el calor acumulado durante el día, pero si las temperaturas ambientales no descienden lo suficiente durante la noche, los animales están imposibilitados de eliminar el exceso de calor y la temperatura corporal asciende. El ascenso de la temperatura corporal durante la noche también está relacionado con el horario en que se suministra el alimento, ya que los procesos metabólicos generan calor que provoca elevación en la temperatura corporal (Al-Haidary *et al.*, 2001).

Browning Jr. (2004) evaluó los efectos de los EA presentes en la festuca tóxica en indicadores térmicos, utilizando novillos Hereford y Senepol (*Bos taurus*), ésta es una raza desarrollada en las Islas Vírgenes, con tolerancia al estrés calórico. Los indicadores térmicos seleccionados fueron temperatura de la piel, frecuencia respiratoria y uso de sombra, ya que se consideran como parámetros fisiológicos y de comportamiento asociados a la termorregulación. Los bovinos de ambas razas que consumieron festuca tóxica experimentaron aumento de la frecuencia respiratoria a altas temperaturas ambientales; el aumento significativo de la frecuencia respiratoria es indicativo de hipertermia. Se observó jadeo (respiración con la boca abierta) en los novillos Hereford y en algunos Senepol. El aumento en el tiempo de uso de sombra de los animales de las 2 razas es indicativo de estrés térmico de gran magnitud, si se los compara con los animales que no consumían festuca tóxica. Esta conducta se acompaña de disminución en el tiempo destinado a alimentarse; los animales que consumen festuca tóxica dedican menos tiempo al pastoreo (Bond *et al.*, 1984). Los animales de raza Senepol parecen sufrir de igual manera los efectos de los EA contenidos en la festuca tóxica, a pesar de la tolerancia al calor de los mismos. La temperatura de la piel en los animales consumiendo EA se supone debería ser baja debido a la reducción del flujo sanguíneo periférico provocado por la vasoconstricción, aunque se ha descrito aumento de la temperatura de la piel asociada a la disipación del exceso de calor por convección, generado por el consumo de festuca infectada (Browning Jr., 2004).

La frecuencia respiratoria es utilizada como indicador del estrés calórico en los bovinos; sin embargo, el efecto de la temperatura ambiente en la frecuencia respiratoria está influenciado por la edad, genotipo, nivel de producción, nutrición, tiempo de consumo, condición corporal, diseño de los corrales y de otros factores ambientales. Estudios realizados demostraron que el efecto de la temperatura ambiental en la frecuencia respiratoria no es constante y está sujeta a numerosos factores. En ambientes cálidos el aumento de la frecuencia respiratoria varía entre 2,8

a 3,3 mov/min con cada °C de aumento de la temperatura ambiente (Gaughan *et al.*, 2000).

El índice de temperatura-humedad (ITH) es un valor que representa los efectos combinados de la temperatura del aire y de la humedad, asociados con un nivel de estrés térmico. Se utiliza como un índice de seguridad climático, para monitorear y reducir las pérdidas asociadas al estrés calórico en animales en producción (Thom, 1959). Las distintas especies animales tienen diferentes sensibilidades a la temperatura y humedad del aire. Los bovinos pueden tolerar altas temperaturas pero no elevados porcentajes de humedad. Se han desarrollado numerosos índices que consideran diferentes variables meteorológicas y combinaciones de ellas. Los valores de ITH son agrupados en categorías que indican el grado de estrés calórico que sufren los animales. Existen 3 categorías generales, que algunos autores subdividen: los valores entre 70-74 indican alerta o estrés leve, entre 75-79 estrés moderado y peligro; y valores mayores a 79 indican estrés térmico severo y emergencia (Bohmanova *et al.*, 2006). Este índice tiene algunas limitaciones, ya que no tiene en cuenta la radiación solar ni la velocidad del viento. Se han desarrollado otros índices que incluyen más variables aunque son más difíciles de calcular e interpretar.

Ingraham *et al.* (1974) demostraron que la tasa de preñez de vacas de tambo decrece de 55% al 10% cuando el ITH aumenta de 70 a 84. En un trabajo realizado durante un servicio de 60 días, el valor de ITH superior a 73 afectó negativamente la preñez en bovinos (Amundson *et al.*, 2006).

Al-Tamimi *et al.* (2003) intentaron estimar la dosis de EA con la cual los animales comienzan a evidenciar signos de intoxicación. Dispusieron de 10 vacas Holstein en lactancia, a 5 de ellas se les suministró junto con la ración semillas de cebada contaminadas con esclerotos de *C. purpurea* que aportaban 10 µg/kg de peso vivo de EA durante 10 días. En el transcurso de este tiempo los animales presentaron aumento de la temperatura corporal, aunque no se afectaron los niveles de producción láctea. La dosis de EA utilizada no fue suficiente para desencadenar todos los signos de intoxicación, y el tiempo de exposición fue corto.

En épocas de bajas temperaturas, los signos clínicos del consumo de EA son enrojecimiento, entumecimiento de las extremidades y claudicación, la cual, si prosigue su curso, termina en necrosis y gangrena seca, con pérdida de la pezuña o de la punta de las orejas y cola. En zonas de altas temperaturas la ingesta de EA está

asociada al síndrome de hipertermia; este problema se acentúa cuando los animales son expuestos a excesivo estrés térmico o a esfuerzo físico en un ambiente cálido. El resultado es la producción de calor, el aumento de la frecuencia respiratoria y del consumo de agua. La hipertermia disminuye la ingesta de materia seca y se refleja en menor ganancia de peso, menor producción de leche y bajos porcentajes de preñez. La respuesta normal al aumento de la temperatura corporal es la vasodilatación periférica, la cual está dificultada en los animales expuestos a EA ya que éstos producen vasoconstricción periférica (Al-Tamimi *et al.*, 2003).

La intolerancia al calor, como consecuencia de la exposición a EA en ambientes con elevadas temperaturas, también puede ser indicativa de inadecuada función tiroidea. La tasa metabólica y la secreción de hormonas tiroideas en bovinos, disminuyen cuando la temperatura ambiente es alta. La glándula tiroidea es la única fuente de hormona T4 (tiroxina), mientras que sólo una pequeña proporción de la hormona T3 (triyodotironina) circulante proviene de dicha glándula. La T3 es secretada por la tiroidea por un corto período luego de la estimulación de la TSH (tirotrófina). La ergovalina aumenta la tasa metabólica y la temperatura corporal en ratas mantenidas a altas temperaturas ambientales (Spiers *et al.*, 1995). Browning Jr. *et al.* (1998a) evaluaron cómo los EA afectan las concentraciones plasmáticas de las hormonas tiroideas y cortisol en bovinos. Se dosificaron en forma intravenosa novillos y vacas con ET y EM. Se midieron las concentraciones plasmáticas de tiroxina (T4), triyodotironina (T3) y cortisol cada hora durante 5 horas post dosificación. Comprobaron que existe una respuesta comparable a la estimulación de la glándula tiroidea luego de la administración de ergonovina y ergotamina a bovinos, en donde la T3 tuvo un incremento abrupto y transitorio, y la T4 tuvo un incremento sostenido en la concentración. Ocho horas después de la administración de hormona liberadora de TRH (tirotrófina) en novillos, se observan comportamientos similares (Pratt; Wettemann, 1986). Convey *et al.* (1973) notaron un aumento inmediato en las concentraciones de TSH y T3 luego de la administración de TRH, y un aumento gradual y menos marcado de T4.

El tratamiento con EA puede desatar una respuesta suprapituitaria que estimula la producción de TRH y la consecuente liberación de T3 y T4. Los EA también pueden aumentar la concentración de hormonas tiroideas actuando directamente en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroidea (Fuller, 1992) La ergotamina y la ergonovina tienen acciones agonista y antagonista parcial en receptores α -adrenérgicos, dopaminérgicos

y serotoninérgicos. Las influencias que tienen estos EA en dichos receptores son muy variadas y pueden cambiar según la dosis, la especie animal, órgano o tejido en el que actúan, estado fisiológico y condiciones experimentales. La serotonina estimula directamente la actividad del tejido tiroideo y la secreción de hormona en bovinos. Los agonistas α -adrenérgicos y dopaminérgicos también estimulan la actividad del tejido tiroideo. En la hipófisis anterior los agonistas serotoninérgicos y α -adrenérgicos pueden provocar la liberación de TSH. Las hormonas tiroideas estimulan la tasa de actividad metabólica, aumentan el consumo de oxígeno, regulan el crecimiento y maduración de los tejidos y actúan sobre el estado de alerta físico y mental. La función de las dos hormonas es cualitativamente la misma, pero difieren en rapidez e intensidad de acción: la T3 es cuatro veces más potente que la T4, pero se encuentra en cantidades menores y persiste menor tiempo (Browning Jr. *et al.*, 1998a).

El aumento del cortisol plasmático luego de la administración de ergotamina sugiere que este EA es un agente estresante. Luego de la administración de ergonovina el cortisol plasmático no aumentó, lo que indica que carece de potencia comparada con los EA peptídicos como la ergotamina. En los bovinos la liberación de cortisol desde la corteza adrenal es una respuesta muy bien conocida a numerosos agentes estresantes, como puede ser el estrés calórico. Alternativamente a la elevación del cortisol inducida por el estrés, la ergotamina podría actuar directamente en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. En particular, interacciones entre la ergotamina y receptores serotoninérgicos (agonista parcial) pueden estar involucradas. Algunas investigaciones (Fuller, 1992) han demostrado consistentemente que la estimulación de los receptores serotoninérgicos inducen funciones secretorias a cada nivel del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. La liberación del factor liberador de corticotrofina, la corticotrofina y el cortisol son estimulados por agonistas α -adrenérgicos. La ergotamina es también agonista parcial en estos receptores. El aumento en las concentraciones plasmáticas de cortisol y hormonas tiroideas en bovinos como resultado de la administración de ergotamina o ergonovina sugiere que estos EA afectan la función secretoria de la tiroides y de la corteza adrenal (Browning Jr. *et al.*, 1997).

2.5. Ergocalcoides y radiación solar

Algunos autores sugieren que es necesario que los animales estén expuestos a la radiación solar para desarrollar todos los signos de la intoxicación con EA. La luz del sol por sí misma causa un significativo incremento en la temperatura corporal de los

animales que no han consumido EA comparados con otros mantenidos a la sombra. En un experimento realizado por Bourke (2003) sólo la combinación de EA y sol produjo hipertermia en los animales. Existen muchos factores que pueden influenciar el aumento de temperatura corporal; la ingestión de EA impide la normal eliminación del calor por parte del animal debido a la vasoconstricción que provoca. Si este impedimento tuviera una relación lineal con la temperatura corporal, se hubiera esperado que la diferencia en temperatura rectal entre los animales control en la sombra y los animales control al sol, fuera la misma que entre los animales intoxicados mantenidos a la sombra y los intoxicados mantenidos al sol, pero no fue así. Esto significa que el impedimento para eliminar el calor no tiene una relación lineal o que los EA tienen otros efectos además de la vasoconstricción que dificulta la disipación del calor y produce aumento de la temperatura rectal. El autor sugiere que el aumento de la temperatura de los animales intoxicados se debió tanto a la exposición a la radiación solar como al calor radiante. Para que exista efecto de la radiación solar deben existir sustancias fotodinámicas circulando en los animales, con propiedades termorregulatorias. Los potenciales candidatos a cumplir estas funciones incluyen pigmentos de ergocromo (ácido secalónico) que son producidos por los esclerotos de *C. purpurea*. Estos pigmentos no son producidos por el endófito de la festuca (Bourke, 2003). No se han realizado trabajos donde se estudien específicamente los efectos de la radiación solar, pero en un trabajo realizado por Ross *et al.* (1989) en que inadvertidamente se privó a los animales intoxicados de la luz del sol, los animales no manifestaron hipertermia maligna de la magnitud esperada, a pesar de recibir una dosis de EA superior a las usadas en otros trabajos. Estos resultados ayudan a sustentar la hipótesis que la exposición a la radiación solar incrementa la susceptibilidad de los animales a la hipertermia inducida por los EA.

2.6. Efectos reproductivos de los ergocaloides

Vacas en lactancia que pastorearon festuca tóxica tuvieron menor ganancia de peso y menor tasa de preñez que vacas que pastorearon festuca libre de endófito (Al-Tamimi *et al.*, 2003). La pérdida de estado corporal en el postparto afecta los índices reproductivos, entre ellos, aumenta el intervalo parto-concepción. En un estudio de 3 años, Gay *et al.* (1988) informaron porcentajes de parición de 95% y 55% para animales en festuca libre y tóxica respectivamente. Boling (1985) registró 86% y 67% de parición para vacas en festuca con bajo porcentaje de contaminación comparado con vacas en festuca con alto porcentaje de contaminación. Schmidt *et al.* (1986)

informaron tasas de concepción de 96 % y 55 % para festuca libre y festuca tóxica respectivamente. En vaquillonas que consumieron EA se observó retraso en el inicio de los celos y una menor tasa de concepción al primer servicio (Washburn *et al.*, 1989).

La reducción en la tasa de preñez en vacas que pastorean festuca infectada con el hongo endófito *Neotyphodium coenophialum*, puede ser debida a la alteración en la secreción de LH (hormona luteinizante) y/o $\text{PGF}_{2\alpha}$ (prostaglandina) (Porter; Thompson, 1992). La LH es fundamental en la regulación del desarrollo y función del cuerpo lúteo, y la secreción luteal de progesterona es necesaria para el mantenimiento de la preñez. La actividad esteroideogénica y la morfología del cuerpo lúteo pueden estar afectadas en vaquillonas ciclando que pastorean festuca tóxica. La supresión de LH en varios estadios del desarrollo luteal tiene influencias negativas en la función luteal, especialmente en fases tempranas del ciclo. Los EA y particularmente la ergotamina, tienen la habilidad de reducir los pulsos de liberación de LH y la concentración plasmática de LH en novillos. Dos conocidos inhibidores de la secreción de LH son los opioides endógenos y los antagonistas α -adrenérgicos. Estos neuroreguladores se postulan como mediadores en la respuesta de la LH a los EA, similar a lo que sucede con la GH (hormona del crecimiento). Los opioides endógenos aumentan su concentración en respuesta al estrés. La ergotamina tiene gran habilidad para bloquear los receptores α -adrenérgicos mientras que la ergonovina tiene poca habilidad para bloquear estos receptores, lo cual explica la diferencia en respuesta de LH a ergotamina y ergonovina (Browning Jr. *et al.*, 1997).

La festuca tóxica reduce la concentración de LH en terneros machos de 3 meses de edad y en vaquillonas de 1 año de edad después de una inyección de GnRH. El nivel de infección de la festuca no afecta las concentraciones plasmáticas de LH en vaquillonas ovariectomizadas, pero altos niveles de contaminación de la pastura podrían afectar negativamente la población de células de la hipófisis anterior, productoras de LH (Browning Jr. *et al.*, 1998b). Los niveles de infección de la pastura no afectaron la concentración de LH en vacas posparto o hembras cíclicas, excepto en el posparto temprano, cuando semillas con altos niveles de infección redujeron la liberación de GnRH, que estimula la liberación de LH (Mizinga *et al.*, 1992). La diferencia en las condiciones en que se llevaron a cabo las investigaciones (tipo de animal, estado fisiológico, sexo, condiciones climáticas, dosis de EA y/o procedimientos experimentales) pueden afectar la respuesta de las hormonas

gonadotróficas a los EA y pueden afectar también los métodos para detectar las posibles cambios (Burke *et al.*, 2001a).

La liberación de PGF_{2α} del útero durante la fase luteal del ciclo estral provoca la luteólisis y el retorno al estro, a menos que un embrión presente en el útero bloquee la liberación de PGF_{2α} para preservar las funciones del cuerpo lúteo y la preñez. El aumento de la concentración de PGF_{2α} como consecuencia de la actividad oxitócica de los EA a nivel uterino, puede disminuir las tasas reproductivas en vacas que consumen festuca tóxica al interferir en la función luteal y el mantenimiento de la preñez. No es bien conocida la relación entre la secreción y síntesis de prostaglandinas y los EA (Browning Jr. *et al.*, 1998b).

La administración parenteral de ergotamina a bovinos para simular el consumo de festuca infectada con *N. coenophialum*, disminuye la calidad y desarrollo del embrión, y aumenta la temperatura rectal en vacas y vaquillonas. Este aumento en la temperatura corporal puede reducir la supervivencia y el desarrollo embrionario (Schuenemann *et al.*, 2005a).

Los oocitos en el folículo creciendo u oocitos en estadios tardíos de la meiosis son más sensibles a los tóxicos que los oocitos de folículos primarios. No existieron diferencias en la tasa de preñez entre vacas receptoras que recibieron una dosis de ergotamina para simular la toxicosis y vacas que no la recibieron, a las cuales se les implantaron dos embriones de buena calidad provenientes de animales sin exposición a EA, esto indica que las pérdidas se producen antes del día 7 (día la transferencia) y que la exposición a EA no afectó la capacidad del útero para llevar adelante la gestación (Schuenemann *et al.*, 2005a). Si la gestación sigue adelante es indicativo que el cuerpo lúteo es capaz de mantener los niveles adecuados de progesterona (Paterson *et al.*, 1995).

La mortalidad embrionaria contribuye a los efectos negativos de los EA en los índices reproductivos. Cuando se transfirieron embriones provenientes de donantes que no consumieron EA a vacas que si consumieron festuca tóxica, tuvieron una menor supervivencia que los embriones transferidos a vacas que pastorearon festuca libre (Rahe *et al.*, 1991).

El aumento de la concentración plasmática de hormona de crecimiento (GH) o somatotrofina (STH) luego de la administración de EA es transitorio, aunque significativo. Los agonistas de los receptores dopaminérgicos, incluidos los EA y sus

derivados, aumentan las concentraciones de GH en humanos. Las conclusiones a las que se han llegado en animales que pastorean festuca altamente contaminada y festuca con bajos niveles de contaminación son contradictorias. Thompson *et al.* (1987) encontraron que los niveles de GH aumentaron en novillos pastoreando festuca tóxica comparado con novillos pastoreando festuca no tóxica, mientras que Lipham *et al.* (1989) informaron lo contrario. Christopher *et al.* (1990) encontraron que la festuca tóxica tuvo un efecto supresor en la secreción de GH en vaquillonas ovariectomizadas. Sabiendo que el consumo de festuca tóxica resulta en bajas tasas de crecimiento y lactancia, sería razonable asumir una reducción en la secreción de GH como resultado del consumo de EA. De todas maneras esta presunción puede no ser válida en base a la evidencia disponible en vacas. Thompson *et al.* (1987) asociaron el incremento en la concentración de GH con la reducción de la ingesta calórica en vacas que pastoreaban festuca altamente infectada con el endófito. Otros estimuladores de la secreción de GH son los agonistas α -adrenérgicos, y el estrés induce actividad adrenérgica. Las vacas tratadas con ergonovina y ergotamina experimentaron estrés calórico, como lo indica el aumento en la frecuencia respiratoria; estos EA son agonistas parciales en los receptores α -adrenérgicos. Estas vías, sumadas a la de la baja ingesta calórica de vacas en pastoreo, pueden ayudar a explicar el aumento en la secreción de GH en novillos bajo la influencia de EA (Browning Jr. *et al.*, 1997).

No está bien estudiado en qué etapa del ciclo reproductivo el consumo de EA lleva a disminución de las tasas de preñez. La dinámica folicular podría estar afectada, como lo demuestra la reducción en el número y tamaño de los folículos y la reducción de la producción de estradiol en vaquillonas expuestas a festuca tóxica (Burke *et al.*, 2001b). La función luteal también puede estar dificultada en vaquillonas ciclando que pastorean festuca tóxica (Mahmood *et al.*, 1994). En ovejas la disminución de las tasas de preñez ha sido atribuida a un retraso en la concepción, o más específicamente a un aumento de las pérdidas embrionarias y por lo tanto retraso en el retorno al estro (Bond *et al.*, 1988). Sin embargo, en vacas consumiendo semillas de festuca tóxica no se observaron diferencias en la tasa de fertilización o en el desarrollo embrionario hasta la segunda semana de gestación (Rorie *et al.*, 1998). La mayor sensibilidad a la festuca tóxica durante la preñez tal vez ocurra después de la placentación y en mayor medida durante períodos de estrés térmico.

Las variaciones en las temperaturas ambientales pueden contribuir a la variabilidad en los resultados de las tasas de preñez en animales consumiendo festuca tóxica. Las

respuestas individuales al estrés calórico son variadas; la temperatura rectal en vaquillonas sometidas a estrés calórico y consumiendo endófito puede diferir en 1,2 °C. El desarrollo embrionario está reducido en vacas lecheras sometidas a estrés calórico y cuya temperatura rectal alcanza los 41,1°C. Un animal más sensible al estrés, tiene mayor probabilidad de sufrir una pérdida embrionaria en estas condiciones. Además, la respuesta de los bovinos al estrés crónico o agudo, severo o leve, puede influenciar la severidad de las pérdidas embrionarias en el rodeo y contribuir a las diferencias en las tasas de preñez en los estudios (Burke *et al.*, 2001b).

El colesterol en sangre es el sustrato para la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo. La concentración de colesterol estuvo reducida en vacas pastoreando festuca tóxica comparadas con otras pastoreando festuca libre de endófito, aunque no hubo diferencias en la concentración de progesterona (Burke *et al.*, 2001b). Por otro lado, algunos autores (Estienne *et al.*, 1990 y Mahmood *et al.*, 1994) observaron disminución en la concentración de progesterona en vaquillonas pastoreando festuca tóxica. Burke *et al.* (2001b) no encontraron cambios en la progesterona sérica en animales alimentados con semillas de festuca tóxica comparados con animales alimentados con semillas de festuca libre, ambos grupos en ambientes termoneutrales. Sin embargo, durante el estrés térmico se observó disminución de la progesterona circulante en animales consumiendo endófito; esto sugiere que los diferentes resultados encontrados en cuanto a la progesterona circulante se deberían a las diferentes temperaturas ambientales registradas durante los experimentos (Burke *et al.*, 2001b).

La reducción en la concentración de PRL debida a la acción de los EA en la vía dopaminérgica es un signo bien documentado de la festucosis. Los EA también actúan en receptores serotoninérgicos para inhibir la secreción de PRL. McCollough *et al.* (1994) observaron reducción en la concentración de PRL después de la administración endovenosa de ergovalina, ergotamina y ergina.

Browning Jr. *et al.* (1997) llevaron a cabo un estudio para evaluar los efectos de la ergotamina y ergonovina en las concentraciones plasmáticas de PRL en novillos. La administración de ergonovina no alteró los niveles de PRL en novillos. Sin embargo, los perfiles observados luego de la administración de ergonovina indican un efecto biológico de corta duración para este compuesto. Existen importantes consecuencias ocasionadas por la reducción de PRL en vacas, la más obvia está relacionada con la

lactancia, pero la PRL está potencialmente involucrada en numerosos procesos fisiológicos como crecimiento, respuesta inmune y osmorregulación.

Los patrones en la frecuencia respiratoria y en las concentraciones plasmáticas de PRL sugieren que la ergotamina tiene un período de actividad biológica mayor al de la ergonovina; aunque las respuestas fueron consecuencia de una intoxicación aguda, la frecuencia respiratoria y reducción en PRL fueron similares a las observadas en vacas expuestas en forma crónica a EA en la dieta. Los resultados endócrinos demuestran el potencial de la festuca infectada con el hongo endófito *Neotyphodium coenophialum* al ser consumida por animales para cambiar las concentraciones plasmáticas de hormonas gonadotróficas liberadas por la hipófisis anterior (Browning Jr. *et al.*, 1997).

Aldrich *et al.* (1993) informaron una disminución en el nivel de PRL en bovinos consumiendo festuca infectada con el endófito y expuestos a calor (32°C) y/o ambientes termoneutrales (22°C).

Los EA son potentes agonistas en los receptores dopaminérgicos y la secreción de PRL desde la hipófisis es inhibida por la dopamina. La serotonina estimula la secreción, como la temperatura ambiental elevada y el aumento del fotoperíodo (Porter *et al.*, 1990).

El sistema nervioso central posee gran cantidad de receptores de dopamina, y la disminución de la PRL sérica en animales que consumen EA indica un impacto a nivel de la hipófisis (Thompson *et al.*, 2001). Lipham *et al.* (1989) administraron metaclopramida (antagonista de dopamina) a novillos que se alimentaban con festuca tóxica y observaron un incremento en los niveles de PRL sérica, una mejora en la calidad del pelaje y un aumento de la ganancia de peso.

La PRL es una hormona producida en la hipófisis anterior. El incremento de los niveles séricos de PRL está asociado a tumores benignos de la glándula o al uso de antagonistas de dopamina a nivel central. La bromocriptina inhibe la liberación de PRL por estimulación directa de los receptores de dopamina postsinápticos del hipotálamo (Schiff Jr., 2006).

Los EA disminuyen la concentración de PRL a nivel de la hipófisis en los bovinos. Esta observación junto con la disminución en la liberación de la hormona liberadora de tirotrina, sugiere que los EA disminuyen el pool de PRL de los lactótrofos disponible

para ser liberada y tal vez también afecten la síntesis de PRL, ya que la ergocriptina reduce la transcripción de los genes de PRL en cultivos de prolactótrofos de rata (Schillo *et al.*, 1988).

La PRL está involucrada en el mantenimiento de la inmunocompetencia humoral, por lo que la hipoprolactinemia disminuye la respuesta inmune humoral, la mediada por células y la no específica (Settivari, 2007).

Los animales que presentan hipoprolactinemia debido al consumo de festuca tóxica, se espera tengan una menor respuesta humoral luego de la vacunación que aquellos que presentan niveles normales de PRL, basados en estudios realizados en roedores, los cuales presentaron menor respuesta humoral cuando fueron alimentados con semillas de festuca tóxica (Spangelo *et al.*, 1987). Sin embargo, en el trabajo realizado por Rice *et al.* (1997) los bovinos alimentados con festuca tóxica y con menor concentración de PRL en suero tuvieron una respuesta inmune similar a los animales que fueron alimentados con la festuca libre, y en algunos casos de mayor magnitud.

En un trabajo realizado por Filipov *et al.* (1999), se desafiaron con LPS (lipopolisacárido) novillos alimentados con festuca tóxica por ocho meses, y observaron una mayor respuesta inmune-inflamatoria en los animales que consumen EA, lo que se reflejó en valores más elevados de cortisol y factor de necrosis tumoral α . Esto es indicativo de que el sistema inmune y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal han sido sensibilizados. Vacas que consumen festuca tóxica presentan supresión de la actividad fagocítica, debido a reducción en los monocitos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (CMH-II) (Saker *et al.*, 1998).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se llevaron a cabo cuatro experimentos. El primero tuvo lugar durante el verano con vaquillonas, el segundo, tercero y cuarto se realizaron durante el invierno.

3.1. Experimento 1

3.1.1. Ubicación geográfica y época de realización

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Reserva 7 perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce (37° 45' latitud sur, 58° 18' longitud oeste; temperatura media anual 13,3°C), provincia de Buenos Aires, desde el 16 de enero hasta el 1 de abril de 2009 (76 días de duración).

3.1.2. Registro de condiciones meteorológicas

Durante el desarrollo del experimento se registraron las temperaturas máxima y mínima, la humedad relativa, las precipitaciones y la radiación. Estos datos fueron suministrados por el centro de información meteorológica de la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, ubicado a 3 km del lugar donde se llevó a cabo el ensayo.

Se calculó el índice de temperatura humedad (ITH) que relaciona la temperatura ambiente y la humedad relativa y se obtiene un valor. La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$ITH = (0,8 \times T^\circ) + \{[(H^\circ\%) \times (T^\circ - 14,4)] + 46,4\} \text{ (Thom, 1959).}$$

Donde T° es la temperatura ambiente media (que se calculó como el promedio de las temperaturas máximas y mínimas), y H° es la humedad relativa ambiente.

Este valor sirve como herramienta para establecer una zona de confort térmico para bovinos en producción. Cuando el valor de ITH es superior a 71, la producción y/o salud de los animales puede estar comprometida (Bohmanova *et al.*, 2006).

3.1.3. Animales

Se utilizaron 20 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruces con un peso vivo de $312 \pm 20,3$ kg (media \pm de), libres de enfermedades infecciosas de la

reproducción. Los animales se mantuvieron en corrales de 10 animales cada uno, alimentados con rollo de pastura durante todo el período experimental, y fueron pesados en 3 oportunidades a lo largo del ensayo.

3.1.4. Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos, para lo cual se asignaron aleatoriamente 10 animales a cada grupo. Los animales en el Grupo Intoxicado (GI) recibieron una mezcla homogeneizada de EA compuesta por maleato de ergonovina (EN; 57%), tartrato de ergotamina (ET; 38%), y ergocriptina (EC; 5%) (Sigma-Aldrich), en 5 dosis de 10 mg cada una (32 µg/kg PV), (días 0, 4, 8, 12 y 17). Para la administración endovenosa los EA fueron suspendidos en 2 ml de solución fisiológica estéril. Día 0 se considera al día de inicio de las dosificaciones de EA. Las intoxicaciones se realizaron cada 4 días. La cantidad total de EA recibidos por animal fue de 50 mg. Por su parte, los animales en el Grupo Control (GC) recibieron 2 ml de solución fisiológica estéril por vía endovenosa por punción yugular (Figura I).

La dosis fue similar a la utilizada en otros trabajos en los que se intenta simular la intoxicación por el consumo de festuca infectada con el hongo endófito *Neotyphodium coenophialum*, teniendo en cuenta el consumo en pastoreo de un bovino promedio y las concentraciones de EA en la festuca (Browning Jr. *et al.*, 1997; Al-Tamimi *et al.*, 2003).

La sincronización de celos se inició con la aplicación (i.m.) de una solución inyectable de 2 mg de benzoato de estradiol (Syntex®) y la colocación de un dispositivo intravaginal de silicona impregnado con 0.5 g de progesterona natural de liberación controlada (DIB Syntex®) (día 3). Al retirar los dispositivos (día 11) se inyectaron 500 µg (i.m.) de cloprostenol sódico (Ciclase DL Sintex®), el día 12 se aplicó 1 mg (i.m.) de benzoato de estradiol (Syntex®). El día 13 (56-60 horas posretiro de los dispositivos) se realizó la inseminación artificial (IA) con semen congelado de muy buena calidad proveniente de un centro de inseminación artificial (CIAVT) (Figura I).

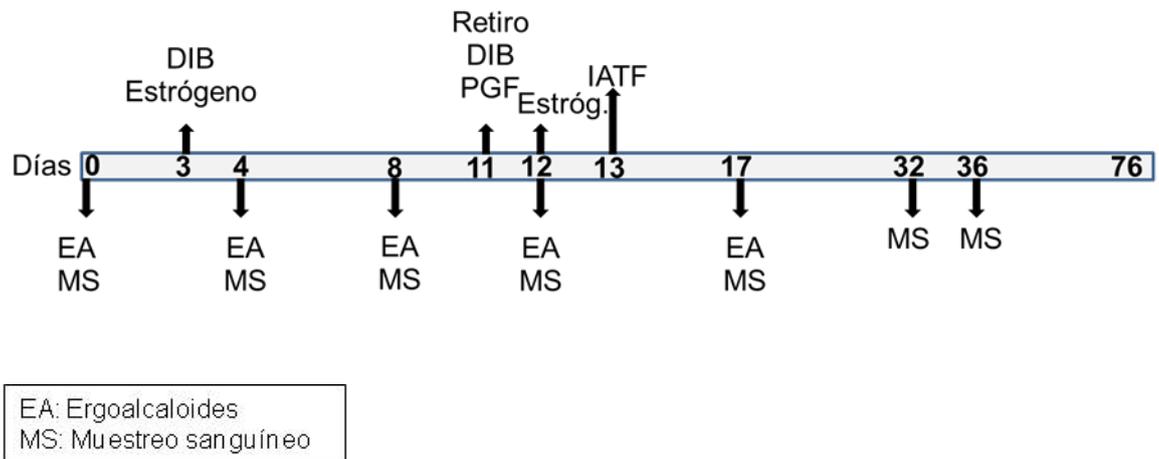


Figura 1. Secuencia de acciones correspondientes al experimento 1

3.1.5. Frecuencia respiratoria (FR)

La frecuencia respiratoria fue medida diariamente durante los primeros 35 días de ensayo, aproximadamente a la misma hora (13:00 hs) y se realizó observando los movimientos respiratorios o movimientos del flanco realizados durante 15 segundos en cada animal. Con este valor se calculó luego la frecuencia respiratoria expresada en movimientos por minuto (mov/min).

3.1.6. Temperatura rectal (TR)

La temperatura rectal fue registrada mediante termómetro digital manteniéndolo en contacto con la mucosa rectal durante 1 minuto. Este procedimiento se realizó en 5 oportunidades coincidiendo con los días en que los animales recibieron el tratamiento de EA o solución fisiológica.

3.1.7. Muestras sanguíneas

Durante los primeros 40 días de ensayo se tomaron muestras de sangre por punción yugular en 7 oportunidades (días 0, 4, 8, 12, 17, 32 y 36). Éstas fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 20 minutos y así se obtuvo el suero, que se conservó a -20°C hasta el momento de su procesamiento para la determinación de prolactina sérica.

La determinación de la concentración de prolactina sérica se realizó mediante Radioinmunoensayo (RIA), en el laboratorio del Instituto de Biología y Medicina

Experimental (IBYME) del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Los días 17, 32 y 36 del ensayo (días 4, 19 y 23 posIA) se obtuvieron muestras de sangre en tubos heparinizados que fueron posteriormente centrifugados (2500 rpm) durante 20 minutos; el plasma obtenido se conservó a -20°C hasta el momento de su procesamiento para la determinación de progesterona plasmática. El objetivo de la determinación del día 23 fue la confirmación de gestación (> 1 ng/ml).

La concentración plasmática de esta hormona fue determinada mediante la técnica de radioinmunoensayo (RIA), en el laboratorio del área de Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires. El coeficiente de variación inter-ensayo fue 3,5% y el coeficiente de variación intra-ensayo fue < 7%, para concentraciones comprendidas entre 0,1 y 40,0 ng/ml.

3.1.8. Diagnóstico de gestación

Los días 32, 41 y 62 posIA se realizaron ecografías a fin de evaluar la viabilidad embrionaria y el mantenimiento de la preñez. Estos estudios fueron realizados con un equipo de tiempo real ALOKA 500 (Japón) equipado con un transductor transrectal lineal de 7,5 MHz.

3.1.9. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) para evaluar los resultados de temperatura rectal, prolactina sérica y progesterona plasmática. Los tratamientos quedaron definidos por grupo intoxicado y grupo control. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ik} = \mu + e_i + \varepsilon_{ik} \quad i=1, 2 \quad k= 1, 2, \dots, n$$

Y_{ik} : ik-ésima observación de la variable respuesta y

μ : media general

e_i : efecto del i-ésimo tratamiento (intoxicado o control)

ε_{ik} : error experimental

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza empleando InfoStat (2010). Las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey (valor de significancia $\alpha=0,05$).

Para el análisis de los resultados de frecuencia respiratoria se utilizó el test de Wilcoxon (Valor de significancia $\alpha=0,05$).

Para el análisis de los resultados de preñez se utilizó el test de Chi cuadrado (valor de significancia $\alpha=0,05$).

3.2. Experimento 2

3.2.1. Ubicación geográfica y época de realización

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Reserva 7 perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce ($37^{\circ} 45'$ latitud sur, $58^{\circ} 18'$ longitud oeste; temperatura media anual $13,3^{\circ}\text{C}$), provincia de Buenos Aires, desde el 3 de junio hasta el 26 de junio de 2009 (23 días de duración).

3.2.2. Animales

Se utilizaron 20 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruza con peso vivo de $303,3 \pm 21,5$ kg (media \pm de), libres de enfermedades infecciosas de la reproducción. Los animales se mantuvieron en 2 corrales de 10 animales cada uno, alimentados con rollo de pastura durante todo el período experimental.

3.2.3. Registro de condiciones meteorológicas

Durante el desarrollo del experimento se registraron las temperaturas máxima y mínima, humedad relativa, precipitaciones y radiación. Estos datos fueron suministrados por el centro información meteorológica de la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, ubicado a 3 km del lugar donde se llevó a cabo el ensayo.

3.2.4. Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos, para lo cual se asignaron aleatoriamente 10 animales a cada grupo. Los animales del Grupo Intoxicado (GI) recibieron tartrato de ergotamina (ET), la cual se administró en forma endovenosa por punción yugular, disuelta en 2 ml de solución fisiológica estéril. La dosis utilizada fue de $33 \mu\text{g}/\text{kg}$ de peso vivo, y se aplicó 9 veces, los días 0, 2, 5, 7, 9, 11, 14, 16 y 19, no superando una dosis total de 90 mg por animal. Los animales del Grupo Control (GC) recibieron por vía endovenosa 2 ml de solución fisiológica estéril los mismos días que los animales del GI (Figura II).

La sincronización de celos se inició con la aplicación (i.m.) de benzoato de estradiol (2 mg, Syntex®), la colocación de un dispositivo intravaginal de silicona impregnado con 0,5 g de progesterona natural de liberación controlada (DIB Syntex®) y la aplicación (i.m.) de progesterona (50 mg Progeron, Burnet) (día 7). El día 11 se aplicaron (i.m.) 2500 UI de Gonadotrofina Coriónica Equina (Novormon, Syntex®). El día 13 se inyectó 1mg (i.m.) de Cloprostenol sódico (Ciclase, DL Syntex®). El día 14 se retiraron los dispositivos de progesterona A las 24 horas (día 15) se aplicaron 2 ml de GnRH (Buserelina Receptal, Intervet), para inducción de la ovulación.

Al día 22 se evaluó la respuesta ovárica, contando el número de cuerpos lúteos y el número de folículos anovulatorios en cada ovario, mediante ecografía transrectal. Se consideró como respuesta al tratamiento superovulatorio la presencia de 3 o más cuerpos lúteos por animal (Figura 2).

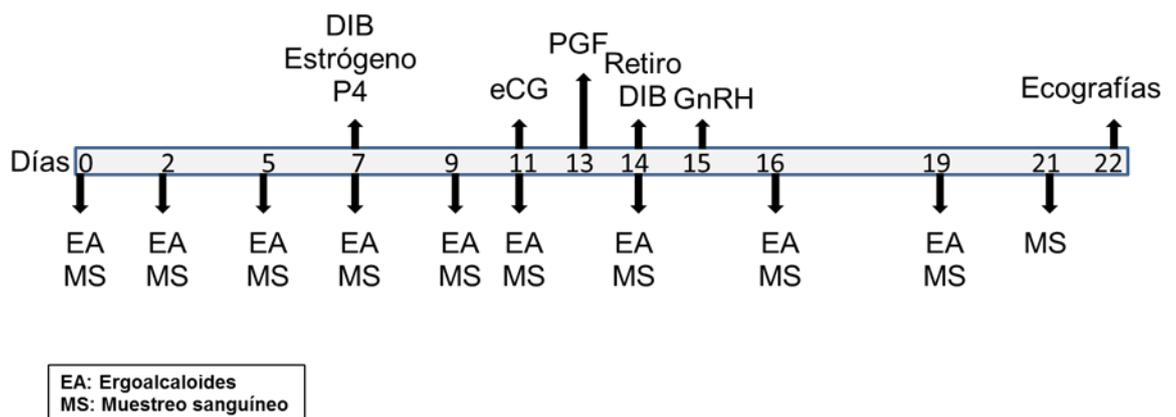


Figura 2. Secuencia de acciones correspondientes al experimento 2

3.2.5. Muestréos sanguíneos

Se tomaron muestras sanguíneas por punción yugular los días 0, 2, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 19 y 21, se centrifugaron a 2500 rpm durante 20 minutos para extraer suero, en el cual se midió la concentración de prolactina sérica mediante radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio del IBYME .

También se obtuvieron muestras en tubos heparinizados, las cuales fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 20 minutos, se extrajo el plasma y se congeló (-20°C) hasta su procesamiento para la determinación de la concentración de progesterona plasmática. Esta determinación se realizó con las muestras extraídas los días 16, 19 y 22 mediante radioinmunoensayo (RIA), en el laboratorio del área de

Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires. Coeficiente de variación inter-ensayo: 3,5%, coeficiente de variación intra-ensayo: < 7% para concentraciones comprendidas entre 0,1 y 40,0 ng/ml.

3.2.6. Temperatura rectal

La temperatura rectal fue registrada mediante termómetro digital manteniéndolo en contacto con la mucosa rectal durante 1 minuto. Este procedimiento se realizó en 9 oportunidades, coincidiendo con los días en que los animales recibieron su tratamiento de EA o solución fisiológica (días 0, 2, 5, 7, 9, 11, 14, 16 y 19).

3.2.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) para evaluar los resultados de temperatura rectal, prolactina sérica y progesterona plasmática. Los tratamientos quedaron definidos por grupo intoxicado y grupo control. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ik} = \mu + \theta_i + \varepsilon_{ik} \quad i=1, 2 \quad k= 1, 2, \dots, n$$

Y_{ik} : ik-ésima observación de la variable respuesta y

μ : media general

θ_i : efecto del i-ésimo tratamiento (intoxicado o control)

ε_{ik} : error experimental

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza empleando InfoStat (2010). Las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey (Valor de significancia $\alpha=0,05$).

Los resultados de prolactina fueron analizados también mediante análisis de la varianza para medidas repetidas en el tiempo utilizando Proc-Mixed de SAS (2003).

3.3. Experimento 3

3.3.1. Ubicación geográfica y época de realización

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Reserva 7 perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce (37° 45' latitud sur, 58° 18' longitud oeste; temperatura media anual 13,3°C), provincia de Buenos Aires desde el 17 de julio hasta el 31 de julio de 2009 (14 días de duración).

3.3.2. Animales

Se utilizaron 19 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruces con peso vivo de $298 \pm 17,5$ kg (media \pm de), libres de enfermedades infecciosas de la reproducción. Los animales se mantuvieron en corrales de 10 animales cada uno, alimentados con rollo de pastura durante todo el período experimental.

3.3.3. Registro de las condiciones meteorológicas

Durante el desarrollo del experimento se registraron las temperaturas máxima y mínima, humedad, precipitaciones y radiación. Estos datos fueron suministrados por el centro información meteorológica de la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, ubicada a 3 km del lugar donde se llevó a cabo el ensayo.

3.3.4. Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos, para lo cual se asignaron aleatoriamente 10 animales a cada grupo. Los animales en el Grupo Intoxicados (GI) recibieron tartrato de ergotamina (ET), la cual se administró en forma endovenosa por punción yugular, disuelta en 2 ml de solución fisiológica estéril. La dosis utilizada fue de 33 μ g/kg de peso vivo, se aplicó 5 veces (días 0, 3, 5, 7 y 11). Se considera día 0 el día de inicio de las dosificaciones. La cantidad total de EA recibido por animal fue de 50 mg. Los animales del Grupo Control (GC), recibieron por vía endovenosa 2 ml de solución fisiológica estéril (Figura 3).

La sincronización de celos se inició con la colocación de dispositivos intravaginales de silicona impregnados con 0.5 g de progesterona natural de liberación controlada (DIB Syntex®) (día 3). El día 11 se retiraron los dispositivos y se inyectaron (i.m.) 500 μ g de cloprostenol sódico (Ciclase DL Sintex®), el día 12 se aplicó (i.m.) 1 mg de benzoato de estradiol (Syntex®) (Figura 3).

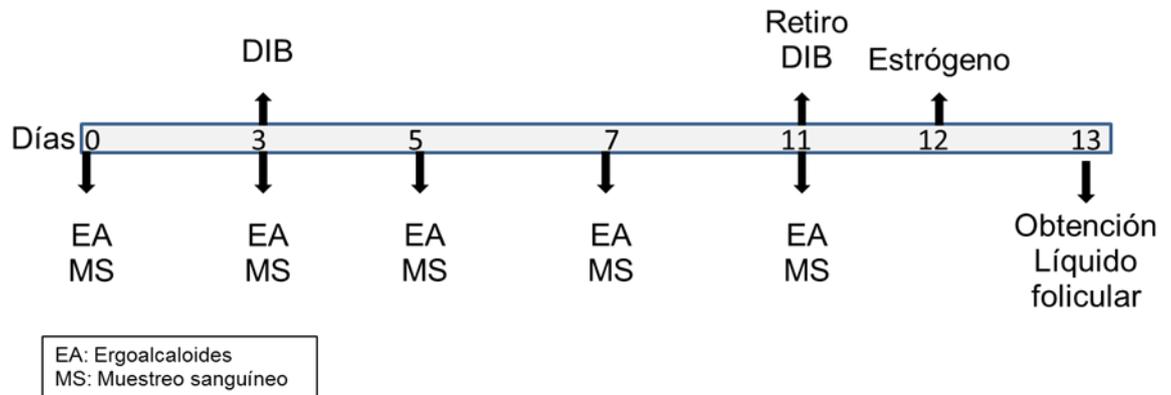


Figura 3. Secuencia de acciones correspondientes al experimento 3

3.3.5. Obtención de líquido folicular

El día 13 se procedió a la punción del folículo preovulatorio para la obtención del líquido folicular. En este procedimiento los folículos se localizan y se punzan con la guía de un ecógrafo transvaginal que contiene una aguja descartable en el extremo, la cual está acoplada a una bomba de vacío. En el otro extremo se coloca un tubo de recolección donde cae el líquido aspirado, el cual fue centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos y congelado a -4°C hasta su procesamiento.

En el líquido folicular se determinaron las concentraciones de progesterona y estradiol, estas determinaciones se realizaron por radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio del área de Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires. Coeficiente de variación intra-ensayo $<12\%$ y $<7\%$ para estrógeno y progesterona respectivamente.

3.3.6. Muestras sanguíneas

Se tomaron muestras sanguíneas por punción yugular los días en que se dosificaron los animales (días 0, 3, 5, 7 y 11). Estas muestras se dejaron reposar y se centrifugaron a 2500 rpm durante 20 minutos para extraer suero, en el cual se midió la concentración de prolactina sérica, mediante radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio del IBYME (CONICET).

También se obtuvieron muestras con heparina, las cuales fueron inmediatamente centrifugadas a 2500 rpm durante 20 minutos y de las cuales se extrajo el plasma que fue congelado (-20°C) hasta la determinación de la concentración de progesterona. Esta determinación se realizó en las muestras del día 11, por radioinmunoensayo

(RIA), en el laboratorio del área de Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires. Coeficiente de variación inter-ensayo: 3,5%, coeficiente de variación intra-ensayo: < 7% para concentraciones comprendidas entre 0,1 y 40,0 ng/ml.

3.3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) para evaluar los resultados de prolactina sérica y progesterona plasmática. Los tratamientos quedaron definidos por grupo intoxicado y grupo control. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ik} = \mu + e_i + \varepsilon_{ik} \quad i=1, 2 \quad k= 1, 2, \dots, n$$

Y_{ik} : ik-ésima observación de la variable respuesta y

μ : media general

e_i : efecto del i-ésimo tratamiento (intoxicado o control)

ε_{ik} : error experimental

Los resultados se analizaron mediante análisis de la varianza empleando InfoStat (2010).

Las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey (valor de significancia $\alpha=0,05$).

3.4. Experimento 4

3.4.1. Ubicación geográfica y época de realización

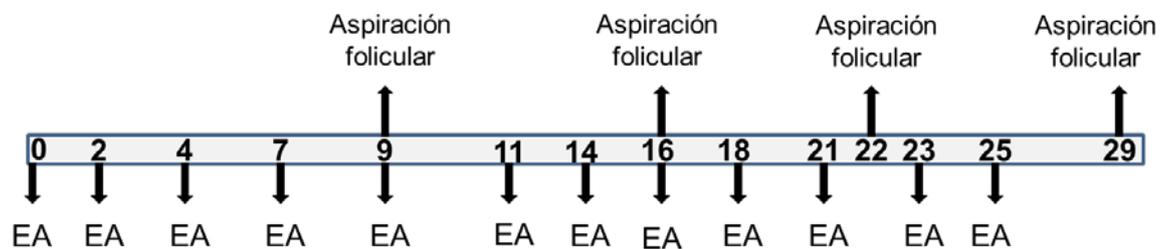
El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Reserva 7 perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce (37° 45' latitud sur, 58° 18' longitud oeste; temperatura media anual 13,3°C), provincia de Buenos Aires, durante el mes de marzo de 2010 (duración de 30 días).

3.4.2. Animales

Se utilizaron 16 vaquillonas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruza con peso vivo promedio de 404 ± 28,4 kg (media ± de), libres de enfermedades infecciosas de la reproducción. Los animales se mantuvieron en corrales de 8 animales cada uno, alimentados con rollo de pastura durante todo el período experimental.

3.4.3. Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos, para lo cual se asignaron aleatoriamente 8 animales a cada grupo. Los animales en el Grupo Intoxicado (GI) recibieron tartrato de ergotamina, la cual se administró en forma endovenosa por punción yugular, disuelta en 2 ml solución fisiológica estéril. La dosis utilizada fue de 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso vivo, la aplicación se repitió 12 veces (días 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23 y 25). La cantidad total de ergocalcoides recibidos por animal fue de 156 mg. Los animales en el Grupo Control (GC) recibieron por vía endovenosa 2 ml de solución fisiológica estéril (Figura 4).



EA: ergocalcoides

Figura 4. Secuencia de acciones correspondientes al experimento 4

3.4.4. Punción folicular

Una vez por semana durante el período experimental se procedió a la punción del folículo dominante para la obtención del líquido folicular. En este procedimiento el folículo se localiza y se punza con la guía de un ecógrafo transvaginal que contiene una aguja descartable en un extremo, la cual está acoplada a una bomba de vacío, en el otro extremo se coloca un tubo de recolección donde cae el líquido aspirado, el mismo fue centrifugado a 2500 rpm durante 10 minutos y congelado a -4°C hasta su procesamiento.

En el líquido folicular se determinaron las concentraciones de progesterona y estradiol, estas determinaciones se realizaron por radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio del área de Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires.

3.4.5. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) para evaluar las concentraciones de progesterona y estradiol. Los tratamientos quedaron definidos por grupo intoxicado y grupo control. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ik} = \mu + e_i + \varepsilon_{ik} \quad i=1, 2 \quad k= 1, 2, \dots, n$$

Y_{ik} : ik-ésima observación de la variable respuesta y

μ : media general

e_i : efecto del i-ésimo tratamiento (intoxicado o control)

ε_{ik} : error experimental

Los resultados se analizaron mediante análisis de la varianza empleando InfoStat (2010).

Las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey (valor de significancia $\alpha=0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1

4.1.1. Peso vivo

Los animales fueron pesados en 3 oportunidades. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Peso vivo (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado.

Días de ensayo	Control (n=10) (kg)	Intoxicado (n=10) (kg)	Valor P
Día 0	310,2 \pm 13,3	313,3 \pm 26,5	0,7576
Día 24	313,7 \pm 17,4	311,1 \pm 24,5	0,7996
Día 39	319,3 \pm 20,4	316,5 \pm 25,4	0,7933

4.1.2. Frecuencia Respiratoria

Este parámetro fue medido en 27 días. Los valores normales de FR para bovinos se encuentran entre 35 y 65 mov/min. Los promedios (\pm de) fueron 46 \pm 12 mov/min y 61 \pm 24 mov/min para el Grupo Control (GC) e Intoxicado (GI) respectivamente, ambos promedios se encuentran dentro los valores normales para bovinos. La temperatura ambiente durante los días de recolección de datos fue 22,1°C \pm 2,8 (media \pm de). Se encontraron diferencias significativas en la FR ($P < 0,05$) en 13 días. Los días de temperatura elevada la FR aumentó en ambos grupos, como una respuesta fisiológica para disipar el exceso de calor. En los animales del GI este aumento fue más marcado, excediendo los valores normales. El GC sólo superó los valores normales de FR en uno de los días que la temperatura ambiental sobrepasó los 34°C. En el cuadro 2 se presentan los valores para todos los días de medición.

Cuadro 2. Frecuencia respiratoria (FR) (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado para cada día de medición, temperatura ambiente máxima y valor del Índice de temperatura-humedad (ITH).

Días de ensayo	Control (mov/min)	Intoxicado (mov/min)	Valor P	T amb máx (°C)	ITH
1	36,8 \pm 18,5	68,2 \pm 13,8	0,0008	30,0	69,5
3	41,0 \pm 7,8	60,2 \pm 13,3	0,0024	30,7	64,3
4	48,3 \pm 4,0	128,2 \pm 25,4	<0,0001	36,0	69,8
5	55,2 \pm 5,0	85,8 \pm 18,5	0,0004	37,5	70,6
6	53,1 \pm 7,1	74,1 \pm 21,7	0,0190	35,7	72,5
7	57,8 \pm 11,1	68 \pm 13,9	0,1137	35,5	74,0
9	50,7 \pm 11,5	60,9 \pm 11,8	0,0863	27,8	68,8
10	51,0 \pm 8,5	53,3 \pm 8,6	0,5799	25,5	62,2
12	53,8 \pm 9,8	101,6 \pm 14,2	<0,0001	29,2	68,6
14	50,8 \pm 7,2	60,8 \pm 23,0	0,2602	29,0	72,2
15	38,2 \pm 2,0	38,1 \pm 4,4	0,9313	22,4	64,4
16	29,5 \pm 3,2	35,6 \pm 4,7	0,0066	26,7	63,9
17	43,7 \pm 4,2	81,2 \pm 17,6	<0,0001	31,9	68,5
18	45,3 \pm 13,4	63,3 \pm 22,7	0,0070	28,7	70,3
19	34,2 \pm 6,11	36,9 \pm 15,4	0,4230	24,6	66,8
20	34,6 \pm 4,2	34,6 \pm 8,3	0,9918	22,9	68,5
21	36,1 \pm 5,3	34,4 \pm 4,7	0,4002	24,5	62,8
22	40,3 \pm 4,8	52,1 \pm 3,7	0,0412	24,5	64,4
23	47,1 \pm 6,1	53,6 \pm 13,8	0,2694	29,5	64,6
24	34,5 \pm 4,5	41,6 \pm 15,4	0,0628	23,3	71,0
25	45,2 \pm 4,1	56,4 \pm 9,3	0,0381	30,4	64,4
26	46,3 \pm 5,9	47,2 \pm 12,8	0,8350	32,9	65,0
27	42,0 \pm 3,6	48,6 \pm 10,5	0,0713	35,3	70,7
28	58,8 \pm 5,7	76,8 \pm 8,2	0,0251	35,5	72,8
29	72,2 \pm 12,6	89,4 \pm 17,1	0,0813	34,0	71,7
30	41,3 \pm 9,2	52,8 \pm 24,6	0,0453	27,7	73,0
31	33,7 \pm 5,4	38,2 \pm 14,0	0,0780	23,6	69,5

4.1.3 Temperatura rectal

La temperatura rectal fue medida en 5 oportunidades. Los promedios (\pm de) para el GC y GI fueron $38,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ y $38,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ respectivamente. La temperatura ambiente máxima varió entre 29,2 y $36,0^{\circ}\text{C}$. Se detectaron diferencias significativas ($P < 0,05$) para los días 0, 4, 8 y 12 del ensayo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Temperatura rectal (TR) (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado y temperatura ambiente máxima.

Días de ensayo	Control (n=10) ($^{\circ}\text{C}$)	Intoxicado (n=10) ($^{\circ}\text{C}$)	Valor P	T. amb.máx. ($^{\circ}\text{C}$)
0	$39,1 \pm 0,3$	$38,6 \pm 0,2$	0,0022	35,0
4	$38,7 \pm 0,1$	$38,3 \pm 0,3$	0,0409	36,0
8	$38,9 \pm 0,3$	$38,4 \pm 0,5$	0,0201	35,9
12	$38,8 \pm 0,5$	$38,5 \pm 0,1$	0,0409	29,2
17	$38,5 \pm 0,3$	$38,5 \pm 0,3$	0,9472	31,9

4.1.4. Prolactina sérica

Las concentraciones de prolactina sérica fueron medidas en 7 oportunidades. Durante el periodo del experimento el promedio (\pm de) para el GC fue $156,1 \pm 88,1$ ng/ml y para el GI fue $152,0 \pm 118,3$ ng/ml. Los dos grupos tuvieron un comportamiento similar, aumentando el nivel de prolactina el día 4 del ensayo y llegando a la menor concentración el día 35. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos en cada día de muestreo (Figura 5).

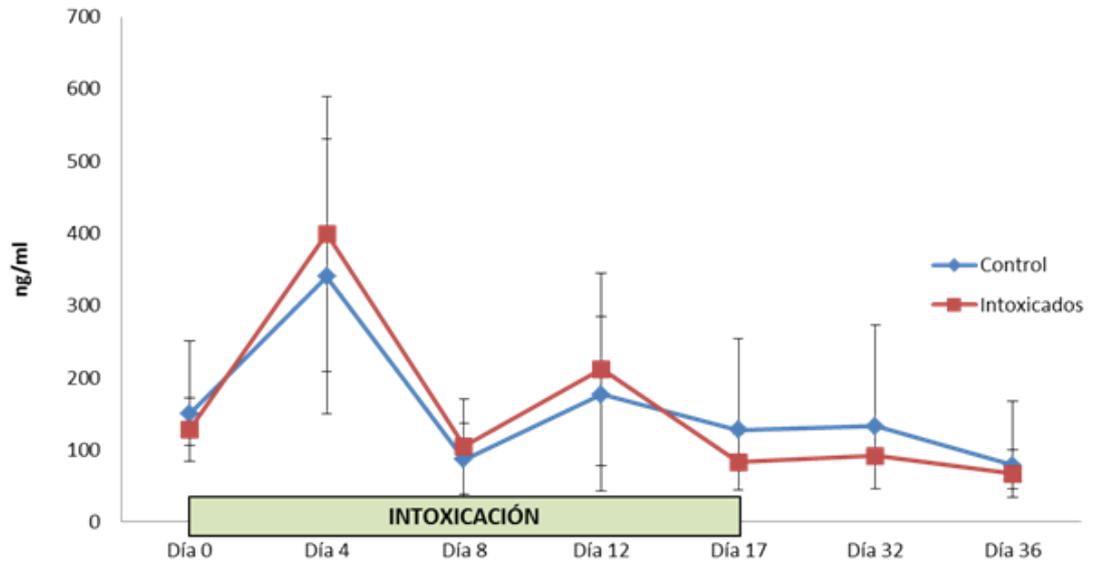


Figura 5. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.

4.1.5. Progesterona plasmática

Las concentraciones de progesterona plasmática fueron medidas en 3 oportunidades. Los promedios (\pm de) para todo el periodo de ensayo fueron $2,8 \pm 2,1$ y $2,7 \pm 1,4$ ng/ml para los GC y GI respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos, sólo el aumento normal y fisiológico para animales preñados (Cuadros 4 y 5).

Cuadro 4. Concentración de Progesterona plasmática (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado.

Días de ensayo	Control (n=10) (ng/ml)	Intoxicado (n=10) (ng/ml)	Valor P
17	$0,7 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,8$	0,0738
32	$2,8 \pm 1,9$	$2,6 \pm 1,5$	0,7384
36	$5,0 \pm 3,1$	$4,2 \pm 2,0$	0,5213

Cuadro 5. Concentración de Progesterona Plasmática (promedio \pm de) para los animales preñados de los Grupos Control e Intoxicado.

Vacas preñadas			
Días posIA	Control (n=5) (ng/ml)	Intoxicado (n=9) (ng/ml)	Valor P
4	0,7 \pm 0,2	1,2 \pm 0,8	0,2323
19	4,0 \pm 1,3	2,6 \pm 1,3	0,1180
23	6,3 \pm 2,4	4,4 \pm 1,3	0,1013

4.1.6. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó en tres oportunidades (días 32, 41 y 62 posIA), mediante ecografía transrectal (Cuadro 6).

Cuadro 6. Número (%) de vaquillonas preñadas según Grupo Control e Intoxicado.

PREÑADAS			
Días posIA	Control (n=8)	Intoxicado (n=10)	Valor P
32	5 (62,5%)	9 (90%)	0,1632
41	5 (62,5%)	7 (70%)	0,7373
61	5 (62,5%)	7 (70%)	0,7373

El porcentaje de preñez a los 61 días no se vio afectado significativamente por la administración de ergocalcoides. Los porcentajes alcanzados (62,5 y 70% para el GC y el GI respectivamente), son los esperados para bovinos sincronizados e inseminados a tiempo fijo.

4.2. Experimento 2

4.2.1. Temperatura rectal

La temperatura rectal fue medida en nueve oportunidades. Los promedios (\pm de) fueron 38,8 \pm 0,5°C y 38,7 \pm 0,5°C para el GC y GI respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos intoxicados y control (Cuadro 7).

Cuadro 7. Temperatura rectal (TR) (promedio \pm de) para los Grupos Control e Intoxicado y temperatura ambiente máxima.

Días de ensayo	Control (n=10) (C°)	Intoxicado (n=10) (C°)	Temp. amb. máx.(C°)	Valor P
0	37,8 \pm 0,6	37,4 \pm 0,5	7,9	0,0894
2	39,5 \pm 0,4	39,2 \pm 0,5	9,2	0,1158
5	38,2 \pm 0,8	38,5 \pm 0,9	8,1	0,4629
7	38,9 \pm 0,4	38,6 \pm 0,5	8,0	0,1682
9	39,1 \pm 0,5	39,2 \pm 0,7	7,9	0,7541
11	38,9 \pm 0,4	38,9 \pm 0,5	10,5	0,8203
14	38,9 \pm 0,3	38,8 \pm 0,3	9,1	0,5560
16	38,6 \pm 0,4	38,5 \pm 0,4	11,7	0,8639
19	38,9 \pm 0,4	38,8 \pm 0,6	6,1	0,6372

4.2.2. Prolactina sérica

La concentración de prolactina fue determinada en 10 oportunidades. El promedio (\pm de) para el GC durante todo el ensayo fue 59,3 \pm 36,0 ng/ml, mientras que para el GI fue 33,6 \pm 18,6 ng/ml. Se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,0037$) para todo el período de ensayo. No se detectaron diferencias significativas para cada uno de los días, aunque hubo tendencia en dos días (2 y 11). Si se compara la concentración del día 0 del ensayo, (preintoxicación) (GC=48,9 ng/ml y GI= 26,6 ng/ml) con el promedio de las concentraciones durante la intoxicación (GC=101,7 ng/ml y GI=34,4 ng/ml), se pueden observar diferencias entre los grupos (Figura 6).

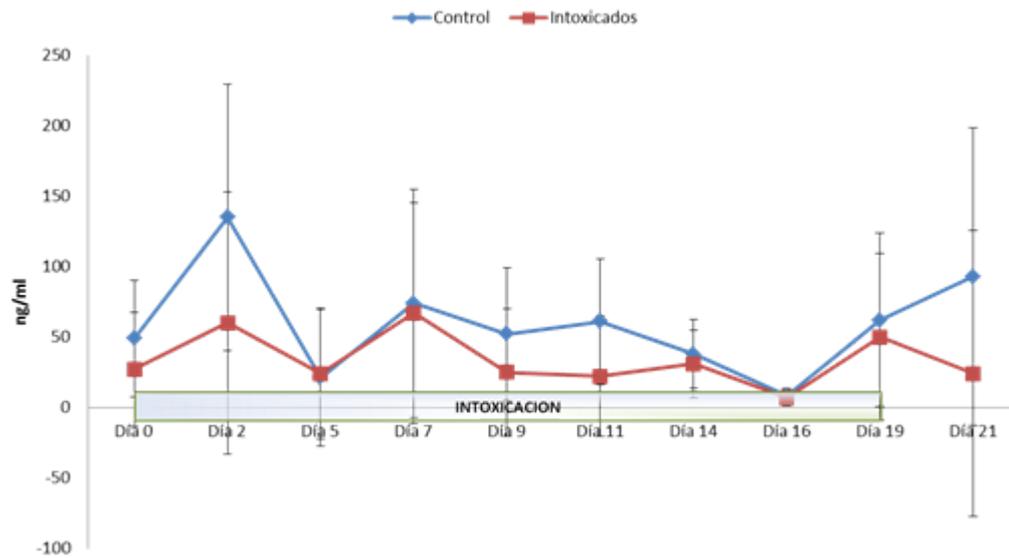


Figura 6. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.

4.2.3. Progesterona plasmática

Las concentraciones de progesterona plasmática fueron medidas en 3 oportunidades. Los promedios (\pm de) fueron $17,8 \pm 24,5$ ng/ml y $12,6 \pm 16,8$ ng/ml para los GC y GI respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre grupos (Cuadro 8).

Cuadro 8. Concentración de Progesterona Plasmática (promedio \pm de) para los animales de los Grupos Control e Intoxicado.

Días de ensayo	Control (n=10) (ng/ml)	Intoxicado (n=10) (ng/ml)	Valor P
16	$0,5 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$	0,3754
19	$7,3 \pm 4,5$	$5,5 \pm 3,1$	0,3277
22	$45,9 \pm 26,8$	$31,9 \pm 15,9$	0,1715

4.2.4. Respuesta superovulatoria

Luego del tratamiento superovulatorio se evaluó la respuesta ovárica a dicho tratamiento mediante el recuento del número de cuerpos lúteos y folículos formados en cada animal, considerándose como respuesta al tratamiento un número igual o mayor a tres cuerpos lúteos. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos

($p=0,5585$) (Cuadro 9). En la figura 7 se presenta la correlación entre el número de cuerpos lúteos presentes y la concentración de progesterona plasmática ($R^2=0,59$).

Cuadro 9. Número (promedio \pm de) de cuerpos lúteos y folículos producidos por los Grupos Control e Intoxicado.

Grupo	Cuerpos lúteos	Folículos	Valor P
Control (n=10)	5,5 \pm 2,5	2,3 \pm 1,6	0,5585
Intoxicado (n=10)	4,8 \pm 2,8	2,7 \pm 1,9	0,6249

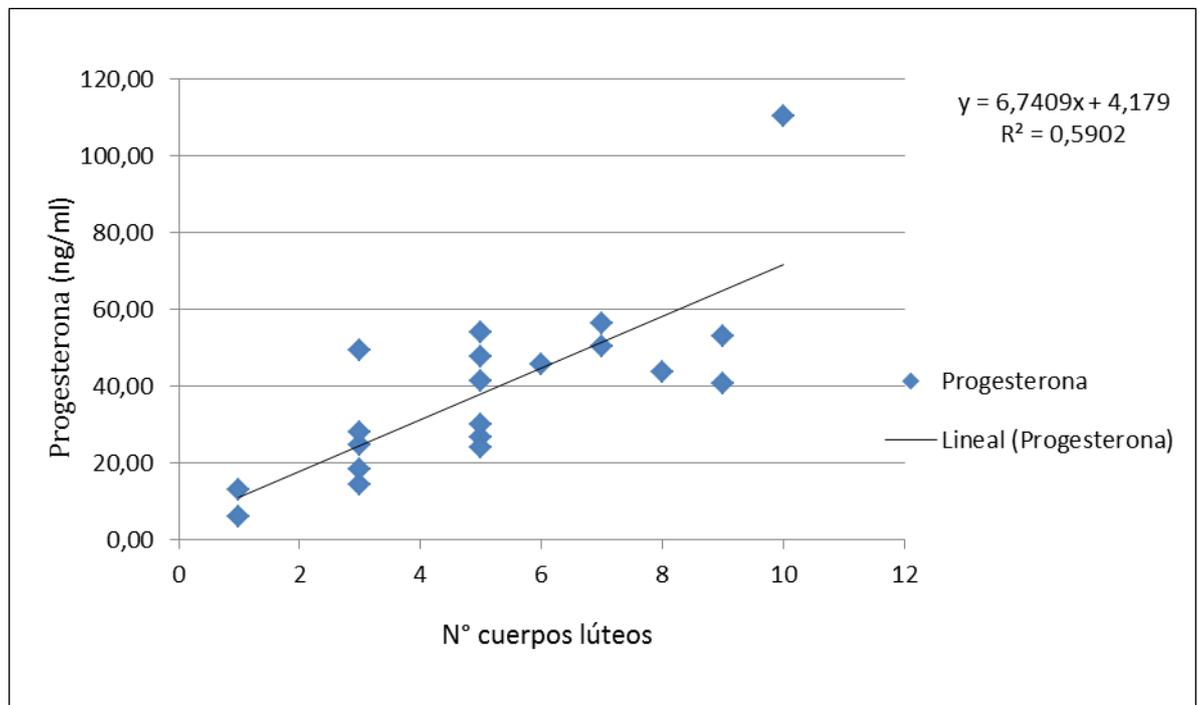


Figura 7. Correlación entre número de cuerpos lúteos y concentración de progesterona plasmática.

4.3. Experimento 3

4.3.1. Prolactina sérica

Las concentraciones de prolactina sérica fueron medidas en 5 oportunidades. Los promedios (\pm de) fueron 130,2 \pm 73,4 ng/ml y 84,8 \pm 44,7 ng/ml para los GC y GI respectivamente. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos para cada uno de los días y tampoco en todo el periodo de ensayo (Figura 8).

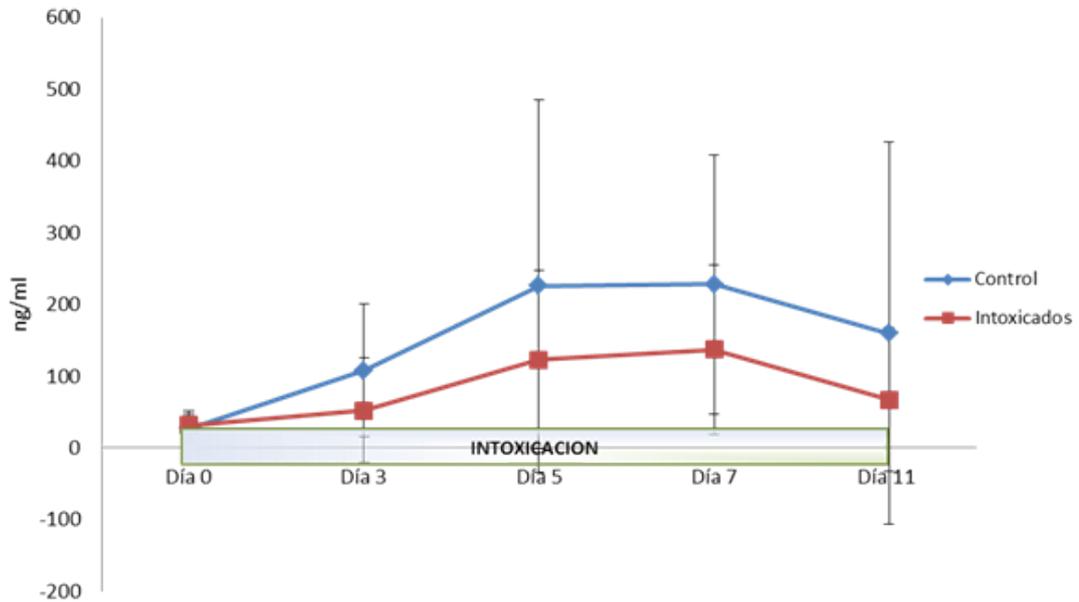


Figura 8. Concentración promedio de prolactina sérica en los Grupos Control e Intoxicado.

4.3.2. Progesterona plasmática

La concentración de progesterona plasmática fue medida en una oportunidad. No se detectaron diferencias significativas entre los GC y GI (Cuadro 10).

Cuadro 10. Promedio (\pm de) de progesterona plasmática para los Grupos Control e Intoxicado.

Día	Control (n=9) (ng/ml)	Intoxicado (n=10) (ng/ml)	Valor P
11	4,2 \pm 12,9	6,8 \pm 14,1	0,662

4.3.3. Progesterona en líquido folicular

La concentración de progesterona en líquido folicular fue medida en una oportunidad. Se detectaron diferencias significativas ($p= 0,016$) entre los GC y GI (Cuadro 11).

Cuadro 11. Promedio (\pm de) de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado

Día	Control (n=6) (ng/ml)	Intoxicado (n=5) (ng/ml)	Valor P
13	56,9 ± 43,9	118 ± 58,2	0,0161

4.3.4. Estrógeno en líquido folicular

El estrógeno fue medido en el líquido folicular en una oportunidad. No se detectaron diferencias significativas entre los grupos (Cuadro 12).

Cuadro 12. Promedio (± de) de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado

Día	Control (n=6) (ng/ml)	Intoxicado (n=5) (ng/ml)	Valor P
13	134,9 ± 47,7	124,7 ± 44,7	0,7679

4.4. Experimento 4

4.4.1. Progesterona en líquido folicular

La concentración de progesterona en líquido folicular fue medida en cuatro oportunidades. No se detectaron diferencias significativas entre los GC y GI en ninguno de los días (Cuadro 13). Los promedios (± de) de las 4 mediciones para el GC y GI fueron 87,1 ± 65,2 y 96,4 ± 81,4 respectivamente.

Cuadro 13. Promedio (± de) de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.

Día	Control (n=8) (ng/ml)	Intoxicado (n=8) (ng/ml)	Valor P
9	1,8 ± 1,0	8,1 ± 5,7	0,0720
16	80,4 ± 61,3	62,7 ± 23,6	0,6585
22	109,1 ± 68,2	199,2 ± 92,1	0,1488
29	157,4 ± 65,9	115,6 ± 65,8	0,3988

4.4.2. Estrógeno en líquido folicular

La concentración de estrógeno fue medida en cuatro oportunidades. Los promedios (\pm de) de las cuatro mediciones fueron $277,1 \pm 30,2$ y $284,4 \pm 125,0$ para el GC y el GI respectivamente (Cuadro 14). No se detectaron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los días de las mediciones.

Cuadro 14. Promedio (\pm de) de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado

Día	Control (n=8) (ng/ml)	Intoxicado (n=8) (ng/ml)	Valor P
9	244,3 ± 285,9	169,1 ± 74,2	0,6284
16	280,6 ± 192,0	460,9 ± 127,2	0,2037
22	316,9 ± 263,1	272,9 ± 308,1	0,8142
29	269,0 ± 201,2	236,5 ± 231,9	0,8333

5. DISCUSIÓN

5.1. Frecuencia respiratoria

Durante el desarrollo del Experimento 1, la temperatura ambiente promedio (\pm de) fue $22 \pm 2,8^{\circ}\text{C}$. La FR promedio del GI fue superior a la del GC durante todo el período de ensayo. El aumento de la FR, en ambos grupos, coincide con el aumento de la temperatura ambiente, aunque los días que la FR fue más elevada no coinciden con los días de mayor temperatura ambiente. En 27 días de los 31 en que se midió la FR la temperatura ambiente máxima fue superior a 24°C ; y la humedad relativa fue superior al 50% en 26 de los 31 días de registro. Estas condiciones ambientales condicionan la eliminación del calor por parte de los animales, que necesitan horas en que la temperatura y la humedad descendan para poder realizar el intercambio calórico con el medio y así disminuir su temperatura corporal. El ITH sólo en 7 días fue superior a 71, lo cual indica estrés térmico para los animales, aunque no coincidió con los días de temperaturas más altas. Es de destacar que los días con ITH superior a 71 tampoco fueron los días en que se registraron las FR más elevadas para ninguno de los grupos. Esto demuestra que hay más de un factor involucrado en la termorregulación y por esto la FR, como medida del estrés calórico, no varía sólo con condiciones ambientales.

Browning Jr. y Leite-Browning (1997) encontraron que la FR aumentó significativamente luego de 90 minutos de la administración endovenosa de tartrato de ergotamina (TE) o de maleato de ergonovina (ME), notando que la respuesta a ME fue superior a la de TE pero de menor duración; sin embargo Browning Jr. *et al.* (1998b) determinaron que ME no modificó la FR, la cual sólo aumentó a las 4 horas de administrado el TE. En el presente trabajo, el aumento de la FR debido a los EA es similar al observado en bovinos consumiendo festuca tóxica en ambientes de temperaturas superiores a 25°C (Hemken *et al.*, 1981; Osborn *et al.*, 1992), aunque en este trabajo la FR no se midió inmediatamente después de la intoxicación. En base a los signos clínicos observados posintoxicación se puede concluir que la FR tuvo un comportamiento similar al descrito por Browning Jr. y Leite-Browning (1997), es decir, aumentó a las pocas horas de la intoxicación para luego descender a valores cercanos a los normales. Por otra parte, la administración subcutánea de ME a bovinos en un ambiente termoneutral no produjo aumento de la FR (Oliver *et al.*, 1994).

Browning Jr. (2000) no detectó diferencias significativas en la FR en novillos luego de la administración endovenosa de TE. A estos animales se les administró EA y se los sometió a ambientes termoneutrales o ambientes donde la temperatura aumentó hasta los 31°C durante 7 días. La FR aumentó en los animales tratados con EA y altas

temperaturas, aunque en los animales no tratados con EA y expuestos a altas temperaturas la FR también aumentó pero en menor medida. Cabe destacar que las FR de todos los grupos fueron similares luego de 20 días. Este autor demuestra que los bovinos expuestos a EA experimentan aumento de la FR sólo cuando las condiciones ambientales (temperatura y humedad) son elevadas. Por otro lado Boling *et al.* (1989) no encontraron diferencias en la FR en vaquillonas ubicadas en cámaras con control de temperatura (21 ó 34°C) y que consumieron festuca con alto porcentaje de infección.

En el presente trabajo se registró la radiación solar junto con las variables meteorológicas. Aunque no se midió su efecto directo en los animales se pudo observar que los días de radiación solar más elevada ($> 25 \text{ MJ/m}^2 \text{ día}$) los animales manifestaron FR más alta, lo que evidencia la importancia de la exposición directa al sol para que se manifiesten todos los signos del síndrome distérmico.

5.2. Temperatura rectal

La temperatura rectal normal en bovinos oscila entre 38,0 y 39,0°C. Bourke (2003) sugiere que cuando la temperatura rectal supera los 39,5°C se puede considerar que los animales están en hipertermia.

Durante el experimento 1 el promedio de la temperatura rectal de ambos grupos nunca fue superior a 39,5°C a pesar que la temperatura ambiente llegó a 36°C.

La TR aumenta en los animales expuestos a EA, debido a la imposibilidad de disipar el exceso de calor en las extremidades y debido a la alteración de la función tiroidea (Oliver, 1997). En condiciones fisiológicas normales los mamíferos intentan eliminar el calor con vasodilatación de los lechos capilares, y por lo tanto incrementando el flujo sanguíneo de las extremidades. En consecuencia, la temperatura interna desciende, reduciendo la temperatura corporal. La vasodilatación, aunque leve, es la respuesta normal al aumento de la temperatura (Schuenemann *et al.*, 2005a).

La información en cuanto a la variación de la TR en bovinos consumiendo festuca tóxica o EA adicionados en la dieta es contradictoria. Jacobson *et al.* (1970) y Osborn *et al.* (1992) informaron que la TR de novillos consumiendo festuca libre con ergotamina agregada aumentó. En otro trabajo realizado en toros, en el cual se añadió

TE a la dieta, se encontró que la TR fue mayor (39,4 vs 39,0°C) para el grupo que consumió EA (Schuenemann *et al.*, 2005b).

Por otro lado, Boling *et al.* (1989) encontraron diferencias en la TR de vaquillonas consumiendo festuca con alto porcentaje de infección sólo cuando los animales fueron sometidos a 34°C por 7 días en cámara con control térmico. Similares resultados fueron observados en novillos que recibieron raciones con alto contenido de EA y mantenidos en ambientes con alta temperatura (33°C) comparados con novillos que no consumieron EA (Rhodes *et al.*, 1991; Osborn *et al.*, 1992).

Los resultados del experimento 1 demostraron que la TR de las vaquillonas que recibieron EA fue menor que las que no lo recibieron. Estos resultados son similares a los observados por Aldrich *et al.* (1993), en donde la TR de vaquillonas que consumieron semillas de festuca tóxica fue menor que la TR de las vaquillonas que consumieron semillas de festuca libre de endófito. En cambio, otros autores no detectaron cambios en la TR luego del consumo de festuca tóxica (Stamm *et al.*, 1994; Jackson *et al.*, 1997; Matthews *et al.*, 2005) ni por la administración endovenosa o subcutánea de EA a vaquillonas (McCollough *et al.*, 1994; Oliver *et al.*, 1994; Browning; Leite-Browning, 1997). Por otro lado, Drewnoski *et al.* (2009) encontraron diferencias significativas en TR en animales pastoreando festuca tóxica sólo en primavera.

Bourke (2003) utilizó otros parámetros para analizar los cambios en la TR en animales que consumieron esclerotos de *C. purpurea*. Evaluó el aumento de la TR desde la mañana hasta la tarde, la mayor TR alcanzada por la tarde, la diferencia entre la TR máxima de un animal al sol y a la sombra, y finalmente la cantidad de animales que consumieron EA y que superaron los 40°C de TR. De esta manera encontró diferencias significativas entre los grupos tratados y control. La exposición al sol causó aumento de la TR en los animales del GC comparados con los mismos animales a la sombra, pero sólo la combinación de la exposición al sol y el consumo de EA es lo que produjo hipertermia (Bourke, 2003).

Emile *et al.* (2000) no encontraron diferencias en la TR en los animales que pastorearon festuca tóxica por 90 días, la TR fue medida el día 41 de ensayo. Tampoco se detectaron modificaciones en el comportamiento de los animales (tiempo de pastoreo, descanso, uso de sombra y jadeo).

En el experimento 2, la TR del GI no difirió significativamente del GC. Éste es un resultado esperable, ya que el experimento se desarrolló durante el mes de Junio y la temperatura ambiente promedio fue 8,7°C. En estas condiciones ambientales no se espera que los animales presenten hipertermia ni aumento de la frecuencia respiratoria. Se observaron cojeras en 4 animales durante el tiempo que duró el ensayo; estas cojeras evolucionaron a gangrena y pérdida de la pezuña. En otro animal, al cabo de 1 mes de finalizado el ensayo se observó gangrena de la punta de la cola. Éstas son las lesiones esperadas luego del consumo de EA en ambientes de bajas temperaturas.

La TR y la FR de animales consumiendo EA en ambientes termoneutrales (21°C) son similares a las de animales que no consumen EA (Osborn *et al.*, 1992).

5.3. Prolactina sérica

En el experimento 1 realizado durante el verano, la temperatura promedio (\pm de) fue 22 °C \pm 2,8. Aunque esta temperatura no fue tan elevada como para producir estrés en los animales, es necesario tener en cuenta también la humedad relativa, el viento, la radiación solar y las temperaturas máximas alcanzadas en el día. Las concentraciones de PRL no se vieron modificadas por la administración de EA. Tampoco las altas temperaturas produjeron un aumento de la concentración de PRL sérica en el GC, que fue variable y no tuvo relación con la temperatura ambiente. Sin embargo, en el GI se produjo una disminución en la concentración de PRL a lo largo del ensayo y a medida que se les administraba EA, por lo que se puede inferir que en este caso, los EA sólo produjeron el efecto esperado en las concentraciones de PRL sérica.

El experimento 2 se llevó a cabo en junio, la temperatura promedio (\pm de) fue 8,7°C \pm 1,9. En estas condiciones en que las concentraciones de PRL deberían descender con la administración de EA, se encontraron diferencias significativas entre los grupos para todo el período de ensayo, siendo la concentración de PRL superior para el GC. Para ambos grupos las concentraciones fueron muy variables. Una de las posibles explicaciones para este comportamiento de la PRL es que el efecto de los EA administrados en forma endovenosa es rápido y de corta duración (Browning Jr., 2003).

El experimento 3 se llevó a cabo en el mes de julio, la temperatura promedio (\pm de) fue 6,8 \pm 2,6°C. Si bien no existieron diferencias significativas en la concentración de

PRL entre los GC y GI existieron diferencias numéricas. Si se toman en cuenta los valores durante el periodo de intoxicación, existen diferencias numéricas para todos los días, siendo siempre la concentración del GC mayor que la del GI. Estos datos corroboran lo observado por Bourke (2003) en cuanto a la variabilidad de los valores de PRL en los bovinos.

Varios autores coinciden en utilizar el descenso de la concentración de PRL sérica en bovinos como indicativo o diagnóstico de intoxicación con EA porque han detectado diferencias significativas en este parámetro (Oliver *et al.*, 2000; Paterson *et al.*, 1995; Lipham *et al.*, 1989; Aiken *et al.*, 1998). Sin embargo, Bourke (2003) afirma que aunque la concentración de PRL sérica desciende en los animales que consumen EA, no debería ser utilizada como diagnóstico debido a la gran variabilidad en el rango normal que tiene este parámetro (10-500 ng/ml). Emile *et al.* (2000) encontraron que la concentración de PRL sérica descendió significativamente en vacas que pastorearon festuca tóxica durante 14 semanas, pero los animales no presentaron ningún otro signo de festucosis, y volvieron a la concentración pretratamiento luego de 7 semanas en una pastura libre de endófito. En un trabajo realizado en cámaras donde se controló la temperatura ambiente, en los animales mantenidos por 12 días a 21°C y luego 7 días a 34°C, y que consumieron festuca con alto contenido de endófito (100%) o sin endófito (0 %), las concentraciones de PRL fueron significativamente superiores en los animales que consumieron la dieta libre de endófito, tanto en el ambiente termoneutral (21°C) como en el de 34°C (Boling *et al.*, 1989).

Schuenemann *et al.* (2005b) no encontraron diferencias en la concentración de PRL sérica (medida cada 14 días) en toros a los que se les adicionó TE en la dieta durante 8 meses. En cambio, estos mismos autores encontraron diferencias en la concentración de PRL en vacas a las que se les adicionó a la dieta la misma cantidad de TE durante cuarenta días (Schuenemann *et al.*, 2005a).

La concentración de PRL está relacionada positivamente con la temperatura ambiente. El aumento de la temperatura ambiente desde 10°C hasta 35°C provocó que la concentración de PRL aumentara aún en vacas que consumieron festuca con bajo porcentaje de endófito (Wettermann *et al.*, 1982). Por otro lado, animales que consumieron festuca con alto porcentaje de endófito, aún con un gran incremento en la temperatura ambiente las concentraciones de PRL no aumentaron (Hurley *et al.*, 1980; Thompson *et al.*, 1987).

5.4. Progesterona plasmática

En el experimento 1 la concentración de progesterona plasmática no se modificó por la administración de EA. Las concentraciones de los 3 muestreos realizados fueron similares. Que no haya alteraciones significativas en los valores de progesterona podría explicar por qué tampoco hubo diferencias en los porcentajes de preñez entre los GC y GI, lo que está indicando también un normal funcionamiento del cuerpo lúteo. Cabe destacar que existieron diferencias numéricas en las concentraciones de progesterona entre los GC y GI, pero debido a la gran variabilidad de los datos no se pudieron detectar estadísticamente. Esta gran variabilidad se evidenció incluso entre los animales preñados.

En el experimento 2 tampoco se detectaron diferencias en las concentraciones de progesterona a lo largo del ensayo. En este trabajo se midió la respuesta superovulatoria de los animales luego de la aplicación de un análogo de FSH; para esto se contó el número de cuerpos lúteos y folículos anovulatorios formados en cada animal y en cada ovario mediante ecografías por vía rectal. No se detectaron diferencias en el número de cuerpos lúteos entre los animales del GC y del GI, aunque sí diferencias numéricas; este resultado concuerda con las concentraciones de progesterona. De haberse encontrado diferencias en el número de cuerpos lúteos se deberían encontrar diferencias en los niveles de progesterona, ya que el cuerpo lúteo es el principal productor de esta hormona. En este experimento también se evidenció una gran variabilidad en las concentraciones de progesterona, haciéndose más evidentes luego del retiro de los dispositivos de progesterona.

En el experimento 3 la concentración de progesterona fue determinada en una oportunidad, el día del retiro de los dispositivos de progesterona. No se detectaron diferencias significativas.

La concentración de progesterona plasmática es baja en animales que no están gestando; se espera el mismo comportamiento de la progesterona en animales que consumen EA si se los compara con animales no expuestos a EA (Mizinga *et al.*, 1992). Estos autores informaron una menor concentración de progesterona en vaquillonas que pastorearon festuca tóxica 48 hs después de la aplicación de PGF2 α para sincronizar el estro y no en los otros días en que se realizó la medición. Esto podría indicar aumento de la sensibilidad a la PGF2 α , lo cual lleva a luteólisis prematura, y finalmente se produciría el descenso en la supervivencia embrionaria. En

otro estudio realizado en vaquillonas que consumieron festuca tóxica, el cuerpo lúteo aumentó la celularidad y se alteró la morfología celular (aumento en número de mitocondrias, gotas de lípidos y gránulos secretores), sin embargo no se afectaron ni la concentración de progesterona plasmática ni el peso del cuerpo lúteo. La alteración en la morfología del cuerpo lúteo podría colaborar con el aparente aumento de la sensibilidad a la acción luteolítica de la PGF₂ α (Ahmed *et al.*, 1990).

Schuenemann *et al.* (2005a) no encontraron diferencias en la concentración de progesterona, en vacas que consumían 40 μ g/kg PV de TE adicionado en la dieta. La determinación fue realizada el día de la recolección de embriones, luego de un tratamiento de sincronización del estro e IA. En un experimento similar Seals *et al.* (2005) no detectaron disminución en la concentración de progesterona y tampoco en el número de folículos > de 5 mm en los animales que consumieron TE. En ese experimento pudieron demostrar que la dinámica de los ovarios no se afectó en las vaquillonas que consumieron TE, lo que sugiere que la maduración del oocito y el ambiente en el oviducto o en el útero pueden estar involucrados en la reducción del desarrollo embrionario asociada al consumo de EA.

Mahmood *et al.* (1994) sugiere que la edad de los animales puede exacerbar el efecto de los EA en la progesterona, esto surge de un experimento en el cual vaquillonas destetadas tuvieron una reducción en la concentración de progesterona mientras consumieron festuca tóxica, en tanto vaquillonas de más de un año de edad no fueron tan sensibles a los efectos de los EA. Otros autores, (Jones *et al.*, 2003) reportaron que la concentración de progesterona de tejidos luteales fue similar para vaquillonas que consumieron EA y aquellas que no consumieron, teniendo en cuenta que los EA causan vasoconstricción, sugieren que la vasoconstricción a nivel del cuerpo lúteo o de los ovarios es responsable de la disminución de la concentración de progesterona a nivel sistémico.

El consumo de EA redujo el colesterol sérico, la reducción puede ser debida al aumento del uso por parte de los tejidos o a una menor secreción hepática. La reducción del colesterol total conduce a una menor esteroideogénesis, lo que se traduce en menores valores de estrógeno y progesterona en las hembras bovinas. El descenso de las concentraciones de estas hormonas puede llevar a diferentes problemas reproductivos, observados en los animales que consumen EA (Settivari, 2007). Por otro lado, Browning Jr., (2003) registró aumento del colesterol sérico después de 3 horas de la administración endovenosa de TE y manteniéndose elevado

hasta 7 horas luego del tratamiento, lo que sugiere un tiempo de acción limitado de los EA en ciertos metabolitos.

5.5. Porcentaje de preñez

Debido a la gran disparidad de resultados obtenidos en los trabajos en los que se midió el porcentaje de preñez en bovinos que consumen EA, es obvio que existen interacciones entre numerosas factores (temperatura ambiente, genética, edad, dosis y tiempo de exposición y manejo nutricional) con el consumo de EA y las fallas reproductivas. Efectos directos de los EA en los tejidos reproductivos, incluyendo los ovarios, cuerpo lúteo y a nivel molecular en el embrión, y también efectos indirectos en el sistema reproductivo como la disminución en el consumo, con la consecuente pérdida de tejido adiposo de reserva (Strickland *et al.*, 2011).

En el experimento 1 los porcentajes de preñez no se vieron afectados por la administración de EA. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores en condiciones similares a las utilizadas en el presente ensayo y también con otros autores que utilizaron condiciones diferentes para sus experimentos (Fanning *et al.*, 1992; Burke *et al.*, 2001a; Burke; Rorie, 2002; Watson *et al.*, 2004). En cambio, otros autores (Schmidt *et al.*, 1986; Beers; Piper, 1987; Gay *et al.*, 1988; Essig *et al.*, 1989; Tucker *et al.*, 1989 y McDonald *et al.*, 1989) observaron menores porcentajes de preñez en animales intoxicados (50-60 %) que en animales control (> 90 %). En este experimento los animales de GI no tuvieron diferencias significativas en el peso vivo con los animales del GC, este es un factor importante relacionado con el porcentaje de preñez, que fue similar para ambos grupos.

Por otro lado, el porcentaje de recuperación de embriones en animales que recibieron EA tendió a ser menor que el porcentaje recuperado de animales que no recibieron EA (48% y 68% respectivamente). Más aún, el porcentaje de embriones que desarrollaron hasta mórula compacta o estadios más avanzados fue mayor en los animales que no consumieron EA, de esta manera el porcentaje de embriones transferibles tendió a ser menor en los animales expuestos a EA (Schuenemann *et al.*, 2005a). Estos autores, además, observaron que en animales que consumen festuca tóxica, los EA producidos por el endófito pueden afectar directamente la calidad del oocito, produciendo un menor porcentaje de fertilización y/o comprometiendo el desarrollo del embrión.

En el experimento 2 se determinó la respuesta mediante el recuento de cuerpos lúteos y folículos anovulatorios luego de un tratamiento superovulatorio. Aunque no se detectaron diferencias en el número de cuerpos lúteos formados, existieron diferencias numéricas entre los grupos para este parámetro.

5.6. Progesterona en líquido folicular

En los experimentos 3 y 4 se midieron las concentraciones de progesterona en el líquido folicular. El líquido folicular se compone de exudado del suero y de sustancias producidas en el folículo que están relacionadas con la actividad metabólica de las células foliculares. La actividad metabólica y las propiedades de la barrera sangre-folículo cambian durante la fase de crecimiento folicular y por lo tanto, la composición bioquímica y la concentración de hormonas del líquido dependen del tamaño del folículo y de la composición bioquímica del suero. No se encontraron antecedentes en la bibliografía disponible de la concentración hormonal en líquido folicular en vacas expuestas a EA (Tabatabaei *et al.*, 2010).

En el experimento 3 la concentración de progesterona en el líquido folicular fue significativamente mayor en el GI que en el GC. En este experimento los folículos tuvieron un diámetro promedio de 10,6 mm, esto significa que eran folículos grandes. A medida que los folículos van creciendo la concentración de progesterona disminuye notablemente debido, en parte, a un efecto de dilución (Tabatabaei *et al.*, 2010). Este resultado no es el esperado, pero al relacionarlo con el de progesterona plasmática no resulta tan extraño, ya que aunque no existieron diferencias significativas se pudo observar que la concentración de progesterona plasmática fue numéricamente mayor en el GI.

Si se comparan las concentraciones en líquido folicular de los animales de ambos grupos con las concentraciones de animales no expuestos a EA (se observa que la concentración de progesterona del GC es menor a la esperada para folículos grandes, mientras que la concentración en los animales del GI es mayor a la observada en animales no expuestos ($58,2 \pm 43,4$ ng/ml) (Tabatabaei *et al.*, 2010).

En el experimento 4 la concentración de progesterona se midió en 4 oportunidades, el comportamiento de las concentraciones fue similar entre el GC y el GI en los 2 primeros muestreos, no detectándose diferencias significativas. En el tercer muestreo la concentración de progesterona en el GI fue numéricamente mayor, aunque no se detectaron diferencias significativas. En el cuarto muestreo la concentración de

progesterona del GI descendió abruptamente mientras que la concentración de progesterona del GC continuó ascendiendo. En este experimento no se midió el diámetro de los folículos. Los animales no se encontraban sincronizados, por lo que los folículos se encontraban en distintos momentos de su desarrollo, lo que significa que la composición bioquímica del líquido folicular era variable. En este caso no es viable la comparación de la concentración con los valores de animales no expuestos, ya que los diámetros de los folículos eran muy variables dentro de los grupos.

5.7. Estrógeno en líquido folicular

A diferencia de la progesterona, la concentración de estrógeno en los folículos aumenta a medida que el diámetro del folículo es mayor, dentro del folículo las células de la granulosa son el principal sitio de aromatización de los andrógenos y la FSH estimula la aromatasa encargada de esta función, resultando en el aumento de la concentración de estrógeno (Tabatabaei *et al.*, 2010).

En el experimento 3 la concentración de estrógeno fue medida en una oportunidad, no se encontraron diferencias entre Grupos.

En el experimento 4 la concentración de estrógenos se midió en 4 oportunidades, no se detectaron diferencias para ninguno de los días. La concentración de estrógeno para el GI tuvo un incremento marcado en el segundo muestreo para luego descender hasta niveles inferiores a los del GC. Al comparar estos resultados con los valores normales de bovinos no expuestos a EA es notable que ambos grupos tuvieron concentraciones superiores al valor normal para cualquier tamaño de folículo.

Con la medición de la concentración de hormonas en líquido folicular se intentó buscar una relación entre los niveles hormonales plasmáticos o séricos y el ambiente hormonal en el folículo mismo, porque tal vez las alteraciones hormonales producidas por los EA se podrían detectar a este nivel y no a nivel sistémico, aunque esto no ocurrió.

6. CONCLUSIONES

La intoxicación experimental con ergocalcoides no afectó la respuesta reproductiva en bovinos. En las condiciones en que se realizaron los experimentos la administración de un ergocalcoide o la mezcla de 3 de ellos no afectó

significativamente el peso vivo, la temperatura rectal, el porcentaje de preñez, la respuesta superovulatoria, las concentraciones de prolactina sérica y progesterona plasmática, ni la concentración de progesterona y estrógeno en el líquido folicular. Esto demuestra que en la presentación de los síndromes descritos en animales que consumen ergocalcoides, ya sea provenientes de festuca infectada con *N. coenophialum* o de gramíneas o raciones contaminadas con *C. purpurea*, intervienen más factores que los ergocalcoides por sí solos, tal vez interactuando entre ellos o con otras sustancias aún no investigadas. También se puede considerar que el efecto y el tiempo de acción de los ergocalcoides administrados por vía EV es rápido y de corta duración (aprox. 8 horas) y por este motivo no se detectaron diferencias significativas en los parámetros medidos, sobre todo en las concentraciones de prolactina y en la temperatura rectal. Al no encontrarse afectado el porcentaje de preñez es de esperar que no estuvieran alterados tampoco los niveles hormonales, sobre todo de progesterona plasmática y la concentración de hormonas a nivel folicular. La dosis utilizada fue mayor a la utilizada en estudios similares y se puede considerar que fue suficiente ya que afectó de manera significativa la frecuencia respiratoria y produjo lesiones de isquemia en las extremidades (gangrena) en algunos de los animales, esto resalta la respuesta individual o factores inherentes al animal en la respuesta a los EA.

En futuras investigaciones será necesario tener en cuenta el efecto del ambiente y la interacción con los EA, y también la vía de administración, ya que existe bibliografía que confirma el efecto negativo de los EA cuando son consumidos por los animales.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AHMED, N.M.; SCHMIDT, S.P.; ARBONA, J.R.; MAPLE, D.N.; BRANSBY, D.I.; CARSON, R.L.; COLEMAN, D.A.; RAHE, C.H. 1990. Corpus luteum function in heifers grazing endophyte-infected Kentucky-31 tall fescue. *Journal of Animal Science*. 68 (1):468-473.

- AIKEN, G.E.; BALL, D.M.; PIPER, E.L.; WEST, C.P. 1998. Performance of steers fed a broiler litter-corn mixture on endophyte-infested and non-infested tall fescue. *Professional Animal Scientist*. 14:51-55.
- ALDRICH, C.; PATERSON, J.; TATE, J.; Kerley, M. 1993. The effects of Endophyte-Infected Tall Fescue Consumption on Diet Utilization and Thermal Regulation in Cattle. *Journal of Animal Science*. 71:164-170.
- AL-HAIDARY, A.; SPIERS, D.; ROTTINGHAUS, G.; GARNER, G.; ELLERSIECK, M. 2001. Thermoregulatory ability of beef heifers following intake of endophyte-infected tall fescue during controlled heat challenge. *Journal of Animal Science*. 79:1780-1788.
- AL-TAMIMI, H.; ROTTINGHAUS, G.; SPIERS, D.; SPAIN, J.; CHATMAN, D.; EICHEN, P. 2003. Thermoregulatory response of dairy cows fed ergotized barley during summer heat stress. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. 15:355-360.
- AMUNDSON, J.L.; MADER, T.L.; RASBY, R.J.; HU, Q.S. 2006. Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 84:3415-3420.
- BEERS, K.W.; PIPER, E.L. 1987. Effect of grazing endophyte-infected fescue on heifer growth, calving rate and calf birth weight of first calf heifers. *Arkansas Farm Research* 37:7.
- BLIGHT, J.; LAMPKIN, G.H. 1965. A comparison of the deep-body temperature of Hereford and Zebu cows recorded continuously by radiotelemetry under similar field conditions. *Journal Agricultural Science*. 64:221-227.
- BOHMANOVA, J.; MISZTAL, I.; COLE, J. 2006. Temperature-Humidity Indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *Journal of Dairy Science*. 90:1947-1956.
- BOLING, J.A. 1985. Endophytic fungus and tall fescue utilization by ruminants. *Professional Animal Scientist*. 1:19-25.
- BOLING, J.A.; BUNTING, L.D.; DAVENPORT, G.M.; VAN der VEEN, J.L.; MEEKINS, K.M.; BRADLEY, N.W.; KOHLS, R.E. 1989. Physiological responses of cattle consuming tall fescue to environmental temperature and supplemental phenothiazine. *Journal of Animal Science*. 67:2377-2385.
- BOND, J.; POWELL, J.B.; UNDERSANDER, D.J.; MOE, P.W.; TYRRELL, H.F.; OLTJEN, R.R. 1984. Forage composition and growth and physiological characteristics of cattle grazing several varieties of tall fescue during summer conditions. *Journal of Animal Science*. 59:584-591.
- BOND, J.; LYNCH, G.P.; BOLT, D.J.; HAWK, H.W.; JACKSON, C.Jr.; WALL, R.J. 1988. Reproductive performance and lamb weight gains for ewes grazing fungus-infected tall fescue. *Nutr. Rep. Int.* 37:1099-1115.
- BOURKE, C.A. 2003. Evidence that enforced sunlight exposure can cause hyperthermia in cattle ingesting low levels of ergot of rye (*Claviceps purpurea*), when air temperature and humidity conditions are only moderate. *Australian Veterinary Journal*. 81:553-558.
- BROWNING Jr, R.; LEITE-BROWNING, M. 1997. Effect of ergotamine and ergonovine on thermal regulation and cardiovascular function in cattle. *Journal of Animal Science*. 75: 176-181.

- BROWNING Jr, R.; THOMPSON, F.; SARTIN, J.; LEITE-BROWNING, M. 1997. Plasma concentrations of prolactin, growth hormone, and luteinizing hormone in steers administered ergotamine or ergonovine. *Journal of Animal Science*. 75:796-802.
- BROWNING Jr, R.; LEITE-BROWNING, M.; SMITH, H.; WAKEFIELD Jr, T. 1998a. Effect of ergotamine and ergonovine on plasma concentrations of thyroid hormones and cortisol in cattle. *Journal of Animal Science*. 76:1644-1650.
- BROWNING Jr, R.; SCHRICK, F.; THOMPSON, F.; WAKEFIELD Jr, T. 1998b. Reproductive hormonal responses to ergotamine and ergonovine in cows during the luteal phase of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*. 76:1448-1454.
- BROWNING Jr, R. 2000. Physiological responses of Brahman and Hereford steers to an acute ergotamine challenge. *Journal of Animal Science*. 78:124-130.
- BROWNING Jr., R. 2003. Effect of ergotamine on plasma metabolite and insulin-like growth factor-1 concentration in cows. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part C 135. 1-9.
- BROWNING Jr, R. 2004. Effects of endophyte-infected tall fescue on indicators of thermal status and growth in Hereford and Senepol steers. *Journal of Animal Science*. 82:634-643.
- BURKE, J.M.; RORIE, R.W. 2002. Changes in ovarian function in mature beef cows grazing endophyte infected tall fescue. *Theriogenology*. 57:1733-1742.
- BURKE, J.M.; RORIE, R.W.; PIPER, E.L.; JACKSON, W.G. 2001a. Reproductive response to grazing endophyte-infected tall fescue. *Theriogenology*. 56:357-369.
- BURKE, J.M.; SPIERS, D.E.; KOJIMA, F.N.; PERRY, F.A.; SALFEN, B.E.; WOOD, S.L.; PATTERSON, D.J.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C.; JACKSON, W.G.; PIPER, E.L. 2001b. Interaction on endophyte-infected fescue and heat stress on ovarian function in the beef heifer. *Biology reproduction*. 65:260-268.
- CHRISTOPHER, G.K.; SALFEN, B.E.; SCHMIDT, S.P.; ARBONA, J.R.; MARPLE, D.N.; SARTIN, J.L.; BRANSBY, D.I.; CARSON, R.L.; RAHE, C.H. 1990. Effect of grazing Kentucky-31 tall fescue infected with *Acremonium Coenophialium* on endocrine function in ovariectomized beef heifers. *Journal of Animal Science*. 68:468-477.
- CONVEY, E.; TUCKER, H.; SMITH, V.; ZOLMAN, J. 1973. Bovine prolactin, growth hormone, thyroxine and corticoid response to thyrotropin-releasing hormone. *Endocrinology*. 92:471-476.
- DREWNOSKY, M.E.; OLIPHANT, E.J.; POORE, M.H.; GREEN, J.T.; HOCKETT, M.E. 2009. Growth and reproductive performance of beef heifers grazing endophyte-free, endophyte-infected and novel endophyte-infected tall fescue. *Livestock Science*. 125:254-260-
- EMILE, J.; BONY, S.; GHESQUIERE, M. 2000. Influence of consumption of endophyte-infested tall fescue hay on performance of heifers and lambs. *Journal of Animal Science*. 78:358-364.
- ESSIG, H.W.; CANTRELL, C.E.; WHITERS Jr., F.T.; LANG, D.J.; LAUGHLIN, D.H.; BOYD, M.E. 1989. Performance and profitability of cow-calf systems grazing on EF and El Ky-31 fescue. *Proceedings Tall Fescue Toxicosis Workshop*. Atlanta, Estados Unidos.

- ESTIENNE, M.J.; SCHILLO, K.K.; FITZGERALD, B.P.; HIELMAN, S.M.; BRADLEY, N.W.; BOLING, J.A.. 1990. Effects of endophyte-infected fescue on puberty onset and luteal activity in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 68 (suppl1):468-474.
- FANNING, M.D.; SPITZER, J.C.; CROSS, D.L.; THOMPSON, F.N.1992. A preliminary study of growth, serum prolactin and reproductive performance of beef heifers grazing *Acremonium coenophialum* infected tall fescue. *Theriogenology*. 38:275-284.
- FILIPOV, N. M.; THOMPSON, F. N.; STUEDEMANN, J.; ELSASSER, T. H.; KAHL, S.; SHARMA, R.; 1999. Increased responsiveness to intravenous lipopolysaccharide challenge in steers grazing endophyte-infected tall fescue compared with steers grazing endophyte-free tall fescue. *The Journal of Endocrinology*. 163 :213-220.
- FINCH, V. 1986. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. *Journal of Animal Science*. 62:531-542.
- FULLER, R. 1992. The involvement of serotonin in regulation of pituitary-adrenocortical function. *Neuroendocrinology*. 13:250-270.
- GAUGHAN, J.B.; HOLT, M.S.; HAHN, G.L.; MADER, T.L.; EIGENBERG, R. 2000. Respiration rate-Is it a good measure of heat stress in cattle?. *Asian-Australasia Journal of Animal Science*. 13:329-332.
- GAY, N.; BOLING, J.A.; MIKSCH, D.E.; DEW, R. 1988. Long-term effects of endophyte-infected fescue on beef animals. *Journal of Animal Science*. 66 (Suppl1):129-135.
- HEMKEN, R.W.; BOLING, J.A.; BULL, L.S.; HATTON, R.H.; BUCKNER, R.C.; BUSH, L.P. 1981. Interaction of environmental temperature and anti-quality factors on the severity of summer fescue toxicosis. *Journal of Animal Science*. 52:710-714.
- HILL, N. 2005. Absorption of ergot alkaloids in the ruminant. En C. Roberts, C. West, & D. Spiers, *Neotyphodium in cool-season grasses* . Blackwell Publishing. Estados Unidos. pp 271-290.
- HOVELAND, C. 1993. Importance and economic significance of the *Acremonium* endophytes to performance of animals and grass plant. *Agric. Ecosyst. & Environ*. 44: 3-12.
- HURLEY, W.L.; CONVEY, E.M.; LEUNG, K.; EDGERTON, L.A.; HEMKEN, R.W. 1980. Bovine prolactin, TSH, T4 and T3 concentrations as affected by tall fescue summer toxicosis and temperature. *Journal of Animal Science*. 51:374-379.
- INFOSTAT (2010). DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. GRUPO INFOSTAT, FCA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA.
- INGRAHAM, R.H.; GILLETE, D.D.; WAGNER, W.D. 1974. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in subtropical climate. *Journal of Dairy Science*. 57:476-481.
- JACKSON, J.A.; HARMON, R.J.; TABEIDI, Z. 1997. Effect of dietary supplementation with vitamin E for lactating cows fed tall fescue hay infected with endophyte. *Journal of Dairy Science*. 80:569-572.
- JACOBSON, D.R.; CARR, S.B.; HATTON, R.H.; BUCKNER, R.C.; GRADEN, A.P.; DOWDEN, D.R.; MILLER, W.M. 1970. Growth, physiological responses and evidence of toxicity in yearling dairy cattle grazing grasses. *Journal of Dairy Science*. 53:575-582.

- JONES, K.L.; KING, S.S.; GRISWOLD, K.E.; CAZAC, D.; CROSS, D.L. 2003. Domperidone can ameliorate deleterious reproductive effects and reduced weight gain associated with fescue toxicosis in heifers. *Journal of Animal Science*. 81: 2568-2574.
- KHALLOUB, P.A.; DIAB, S.S.; LICOFF, N.; BENGOLEA, A.; LÁZARO, L.; CANTÓN, G.J.; ODRIÓZOLA, E.R. 2007. Efecto del consumo de *Claviceps purpurea* en bovinos en engorde. *Revista de Medicina Veterinaria*. 88:68-72.
- LIPHAM, L.B.; THOMPSON, F.N.; STUEDEMANN, J.A.; SARTIN, J.N. 1989. Effects of metoclopramide on steers grazing endophyte-infected fescue. *Journal of Animal Science*. 67:1090-1097.
- MAHMOOD, T.; OTT, R.S.; FOLEY, G.L.; ZINN, G.M.; SCHAEFFER, D.J.; KELSER, D.J. 1994. Growth and ovarian function of weanling and yearling beef heifers grazing endophyte-infected tall fescue pastures. *Theriogenology*. 42:1149-1158.
- MATTHEWS, A.K.; POORE, M.H.; HUNTINGTON, G.B.; GREEN, J.T. 2005. Intake, digestion, and N metabolism in steers fed endophyte-free, ergot alkaloid-producing endophyte-infected, or nonergot alkaloid-producing endophyte-infected fescue hay. *Journal of Animal Science*. 83:1179-1185.
- McCOLLOUGH, S.; PIPER, E.; MOUBARAK, A.; JOHNSON, Z.; FLIEGER, M. 1994. Effects of fescue alkaloids on peripheral blood flow and prolactin secretion in calves. . *Proceedings Tall fescue toxicosis workshop*. Atlanta, Estados Unidos. pp. 9.
- McDONALD, W.T. 1989. Performance of cows and calves grazing endophyte infested pastures. M.S. Thesis. University of Tennessee, Knoxville, United States.
- MIZINGA, K.; THOMPSON, F.;STUEDEMANN, J.; KISER, T. 1992. Effects of feeding diets containing endophyte-infected fescue seed on luteinizing hormone secretion postpartum beef cows and in cyclic heifers and cows. *Journal of Animal Science*. 70:3483-3489.
- OLIVER, J.W.; LINNABARY, R.D.; ABNEY, L.K.; VAN MANEN, K.R.; KNOOP, R.; ADAIR III, H.S. 1994. Evaluation of a dosing method for studying ergonovina effects in cattle. *American Journal of Veterinary Research* 55:173-176.
- OLIVER, J. W.1997. Physiological manifestations of endophyte toxicosis in ruminant and laboratory species. En Bacon, C.W.; Hill, N. S. eds. *Neothypodium/Grass Interactions*. Plenum Publishing, New York, Estados Unidos. pp 311-346.
- OLIVER, J.W.; SCHULTZE, A.E.; ROHRBACH, B.W.; FRIBOURG; H.A.;INGLE, T.; WALLER, J.C. 2000. Alterations in hemograms and serum biochemical analytes of steers after prolonged consumption of endophyte-infected tall fescue. *Journal of Animal Science*. 78:1029-1035.
- OLIVER, J.W. 2005. Pathophysiologic response to endophyte toxins. En Roberts, C.A.; West, C.P.; Spiers ,D.E.eds. *Neotyphodium in cool-season grasses*. Blackwell Publishing. pp 291-304.
- OSBORN, T.; SCHMIDT, S.; MARPLE, D.; RAHE, C.; STEENSTRA, J. 1992. Effect of consuming fungus-infected and fungus-free tall fescue and ergotamine tartrate on slected physiological variables of cattle in environmentally controlled conditions. *Journal of Animal Science*. 70:2501-2509.

- PANACCIONE, D. 2005. Origins and significance of ergot alkaloids diversity in fungi. FEMS Microbiology Letters. 251:9-17.
- PATERSON, J.; FORCHERIO, C.; LARSON, B.; SAMFORD, M.; KERLEY, M. 1995. The effects of fescue toxicosis on beef cattle productivity. Journal of Animal Science. 73:889-898.
- PAZOUTOVA, S. [en línea] < <http://www2.biomed.cas.cz/pazouto-htm> > Intraspecific variability of *C. purpurea*. [consulta 10 marzo 2008]
- PETERS, C.; GRIGSBY, C.; ALDRICH, J.; PATERSON, J.; LIPSEY, R.; KERLEY, M.; GARNER, G.B. 1992. Performance, forage utilization, and ergovaline consumption by beef grazing endophyte fungus-infected tall fescue, endophyte fungus-free tall fescue, or Orchardgrass pastures. Journal of Animal Science. 70 :1550-1561.
- PORTER, J.K.; STUEDEMANN, J.A.; THOMPSON, F.N.; LIPHAM, L.B. 1990. Neuroendocrine measurements in steers grazed on endophyte-infected fescue. Journal of Animal Science. 68:3285-3292.
- PORTER, J.; THOMPSON Jr, F. 1992. Effects of fescue toxicosis on reproduction in livestock. Journal of Animal Science. 70:1594-1603.
- PRATT, B.; WETTEMANN, R. 1986. The effect of environmental temperature on concentrations of thyroxine and triiodothyronine after thyrotropin releasing hormone in steers. Journal of Animal Science. 62:1346-1352.
- RAHE, C.H.; SCHMIDT, S.P.; MANESS, C.A.; BRANSBY, D.I.; COLEMAN, D.A.; CARSON, R.L.; STRINGFELLOW, D.A. 1991. Embryo survival is reduced in heifers grazing Kentucky-31 tall fescue infected with *Acremonium coenophialum*. Journal of Animal Science. 69:407-411.
- RHODES, M.T.; PATERSON, J.A.; KERLEY, M.S.; GARNER, H.E.; LAUGHLIN, M.H. 1991. Reduce blood flow to peripheral and core body tissues in sheep and cattle induced by endophyte-infected tall fescue. Journal of Animal Science. 69:2033-2043.
- RICE, R.; BLODGETT, D.; SCHURIG, G.; SWECKER, W.; FONTENOT, J.; ALLEN, V.; 1997. Evaluation of humoral immune responses in cattle grazing endophyte-infected or endophyte-free fescue. Veterinary Immunology and Immunopathology. 59:285-291.
- RORIE, R.W.; HAZLETT, W.D.; KREIDER, D.L.; PIPER, E.L. 1998. Effect of feeding endophyte-infected seed on conception rate and early embryonic development in beef heifers. Journal of Animal Science. 76:229-238.
- ROSS, A.D.; BRYDEN, W.L.; BAKAU, W.; BURGESS, L.W. 1989. Induction of heat stress in beef cattle by feeding the ergots of *Claviceps purpurea*. Australian Veterinary Journal. 66:247-249.
- SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT Versión 9.1, Cary, NC, USA .
- SAKER, K.; ALLEN, V.; KALNITSKY, J.; THATCHER, C. 1998. Monocyte Immune Cell Response and Copper Status in Beef Steers that grazed endophyte-infected tall fescue. Journal of Animal Science. 76:2694-2700.
- SCHIFFT Jr, P. 2006. Ergot and its Alkaloids. American Journal of Pharmaceutical Education. 70:1-10.

- SCHILLO, K.K.; LESHIN, L.S.; BOLING, J.A.; GAY, N. 1988 Effects of endophyte-infected fescue on concentrations of prolactin in blood sera and the anterior pituitary and concentrations of dopamine metabolites in brains of steers. *Journal of Animal Science*. 66:713-718.
- SCHMIDT, S.P.; DANILSON, D.A.; HOLLIMAN, J.A.; GRIMES, H.W.; WEBSTER, W.B. 1986. Fescue fungus suppresses growth and reproduction in replacement beef heifers. *Highlights of Agric. Res.* 33 (4).
- SCHUENEMANN, G.; HOCKETT, M.; EDWARDS, J.; ROHRBACH, N.; BREUEL, K.; SCHRICK, F. 2005a. Embryo development and survival in beef cattle administered ergotamine tartrate to simulate fescue toxicosis. *Reproductive Biology*. 5:137-150.
- SCHUENEMANN, G.M.; EDWARDS, J.L.; DAVIS, D.M.; BLACKMON, H.E.; SCENNA, F.N.; ROHRBACH, N.R.; SAXTON, A.M.; ADAIR, H.S.; HOPKINS, F.M.; WALLER, J.C.; SCHRICK, F.N. 2005b. Effects of administration of ergotamine tartrate on fertility of yearling beef bulls. *Theriogenology*. 63:1407-1418.
- SCHUMANN, B; LEBZIEN, P.; UEBERSCHAR, K.H.; DÄNICKE, S. 2009. Effects of the level of feed intake and ergot contaminated concentrate on ergot alkaloid metabolism and carry over into milk. *Molecular nutrition and Food Research*. 53: 931-938.
- SEALS, R.C.; SCHUENEMANN, G.M.; LEMASTER, J.W.; SAXTON, A.M.; WALLER, J.C.; SCHRICK, F.N. 2005. Follicular dynamics in beef heifers consuming ergotamine tartrate as a model of endophyte-infected tall fescue consumption. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 4 (1):97-102.
- SETTIVARI, R. 2007. Temporal effects of fescue toxicosis and heat stress on rat physiology and hepatic gene expression. Thesis Doctor of Philosophy. Faculty of the Graduate School University of Missouri-Columbia. Missouri, Estados Unidos. 349 p.
- SPANGELO, B.; HALL, N.; ROSS, P.; GOLDSTEIN, A. 1987. Stimulation of in vivo antibody production and concanavalin A-induced mouse spleen cell mitogenesis by prolactin. *Immunopharmacology*. 14:11-20.
- SPIERS, D.; ZHANG, Q.; EICHEN, P.; ROTTINGHAUS, G.; GARNER, G.; ELLERSIECK, M. 1995. Temperature-dependent responses of rats to ergovaline derived from endophyte-infected tall fescue. *Journal of Animal Science* 73:1954-1961.
- SPIERS, D.E.; WILLIAMS, J.E.; SNYDER, B.L.; SCHOLLJEGERDES, J.E.; ROTTINGHAUS, G.E. 1997. Determination of sensitivity to endophyte infected tall fescue for beef heifers in a summer field environment. *Proceedings Third International Symposium on Neotyphodium/Grass Interactions*, Georgia, Estados Unidos, pp 441-442.
- STAMM, M.M.; DELCURTO, T.; HORNEY, M.R.; BRANDYBERRY, S.D.; BARTON, R.K. 1994. Influence of alkaloid concentration of tall fescue straw on the nutrition, physiology, and subsequent performance of beef steers. *Journal of Animal Science*. 72:1068-1075.
- STRICKLAND, J.R.; LOOPER, M.L.; MATTHEWS, J.C.; ROSENKRANS Jr., C.F.; FLYTHE, M.D.; BROWN, K.R. 2011. Board-invited review: St. Anthony's Fire in livestock: causes, mechanisms, and potential solutions. *Journal of Animal Science* 89: 1603-1626.

- TABATABAEI, S.; MAMOEI, M.; AGHAEI, A. 2010. Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle. *Comparative Clinical Pathology*. 1-5.
- TABER, W.A. 1985. Biology of *Claviceps*. En Demasi, A.L. y Nadine, A.S. Biology of industrial microorganism. The Benjamin Cummings Publishing Company. Estados Unidos. p 449-486.
- THOM, E.C. 1959. The discomfort index. *Weatherwise*.12:57-59.
- THOMPSON, F.N.; STUEDEMANN, J.A.; SARTIN, J.L.; BELESKY, D.P.; DEVINE, O.J.1987. Selected hormonal changes with summer fescue toxicosis. *Journal of Animal Science*. 65:727-733.
- THOMPSON, F.N.; STUEDEMANN, J.; HILL, N. 2001. Anti-quality factors associated with alkaloids in eastern temperate pasture. *Journal of Range Management*. 54:474-489.
- TUCKER, C.A.; MORROW, R.E.; GERRISH, J.R.; NELSON, C.J.; GARNER, G.B.; JACOBS, V.E.; HIRES, W.G.; SHINKLE, J.J.; FORWOOD, J.R. 1989. Forage systems for beef cattle:effect of winter supplementation and forage system on reproductive performance of cows. *J. Prod. Agr.* 2:217-221.
- TUCKER, H.A.; CHAPIN, L.T.; LOOKINGLAND, K.J.; MOORE, K.E.; DAHL, G.E.; EVERS, J.M. 1991. Temperature effects on serum prolactin concentrations and activity of dopaminergic neurons in the infundibulum/pituitary stalk in calves. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, Michigan, Estados Unidos*. pp 74-76.
- TUDZYNSKI, P.; SCHEFFER, J. 2004. *Claviceps purpurea*: molecular aspects of a unique pathogenic lifestyle. *Molecular Plant Pathology*. 5:377-388.
- URGA, K.; DEBELLA, A.; W/MEDIHN, Y.; N, A.; BAYU, A.; ZEWDIE, W. 2002. Laboratories studies on the outbreak of gangrenous ergotism associated with consumption of contaminated barley in Arsi. Ethiopia. *Ethiop. J.Health Dev.* 16:317-323.
- VAN RENSBURG, S.; ALTENKIRK, B. 1974. *Claviceps purpurea*- Ergotism. En I. Purchase (Ed.). ELSEVIER Scientific Publishing Company. Amsterdam, Holanda. Pp 69-96.
- WASHBURN, S.P.; GREEN, J.T.; JOHNSON, B.H.1989. Effects of endophyte presence in tall fescue on growth, puberty and conception in Angus heifers. *Proceedings Tall fescue toxicosis workshop*. Atlanta, Estados Unidos. pp. 80.
- WATSON, R.H.; McCANN, M.A.; PARISH, J.A.; HOVELAND, C.S.; THOMPSON, F.N.; BOUTON, J.H. 2004. Productivity of cow-calf pairs grazing tall fescue pastures infected with either the wild type endophyte or nonergot alkaloid-producing endophyte strain, AR542. *Journal of Animal Science*. 88:3388-3392.
- WETTERMANN, R.P.; TUCKER, H.A.; BECK, T.W.; MEYERHOEFFER, D.C. 1982. Influence of ambient temperature on prolactin concentrations in serum of Holstein and Brahman x Hereford heifers. *Journal of Animal Science*. 55:391-394.

8. APÉNDICE

Experimento 1

Frecuencia Respiratoria

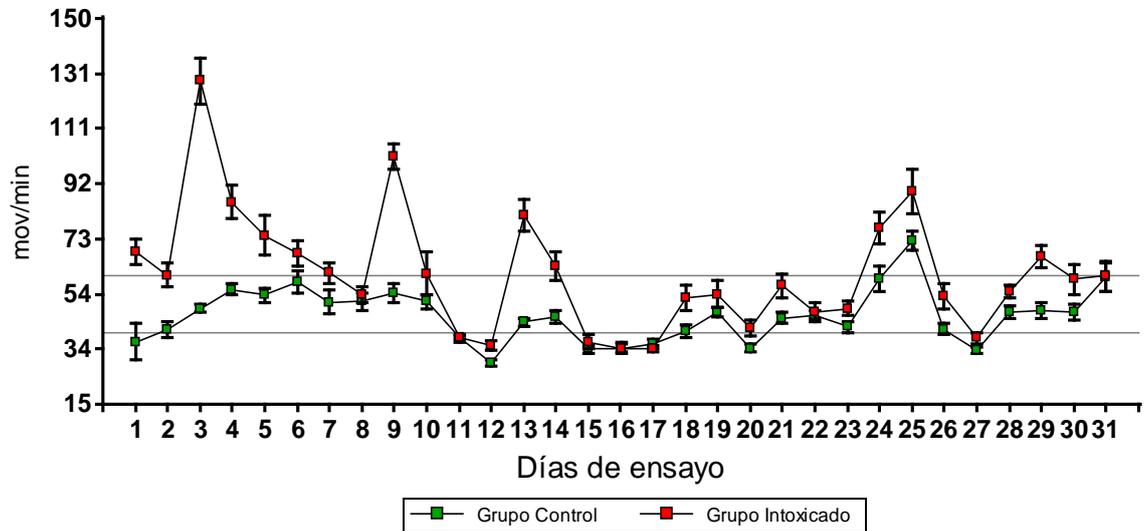


Figura I. Frecuencia respiratoria (FR) (promedio \pm de) de los Grupos Control e Intoxicado para cada día de medición.

Cuadro I. Concentración de prolactina sérica (PRL) (promedio \pm de) en los Grupos Control e Intoxicado.

Días de ensayo	Control (ng/ml)	Intoxicado (ng/ml)	Valor P
0	149,9 \pm 100,9	112,7 \pm 43,7	0,2921
4	340,4 \pm 190,6	399,2 \pm 190,4	0,4991
8	86,6 \pm 49,8	105,0 \pm 66,1	0,4914
12	176,6 \pm 108,5	211,8 \pm 133,6	0,5255
17	127,5 \pm 127,0	83,0 \pm 38,6	0,3034
32	132,7 \pm 140,6	91,8 \pm 45,5	0,5040
36	78,8 \pm 88,5	67,0 \pm 33,4	0,6980

Experimento 2

Cuadro II. Concentración de prolactina sérica (promedio \pm de) en los Grupos Control e Intoxicado.

Día	Control (ng/ml)	Intox (ng/ml)	Valor P
0	48,9 ± 41,7	27,0 ± 40,3	0,2257
2	135,0 ± 94,5	60,0 ± 93,0	0,0677
5	21,0 ± 48,7	24,0 ± 46,4	0,8895
7	74,0 ± 80,9	67,0 ± 78,7	0,8444
9	52,0 ± 47,2	25,0 ± 45,3	0,1932
11	61,1 ± 44,7	22,0 ± 42,8	0,0644
14	38,0 ± 24,3	31,0 ± 24,0	0,5366
16	8,0 ± 6,0	7,0 ± 5,7	0,5570
19	60,0 ± 61,7	50,0 ± 59,3	0,6605
21	93,0 ± 105,8	24,0 ± 101,8	0,1368

Experimento 3

Cuadro III. Concentración de prolactina sérica (promedio ± de) en los Grupos Control e Intoxicado.

Día de ensayo	Control (ng/ml)	Intoxicado (ng/ml)	Valor P
0	27,4 ± 20,1	32,0 ± 19,5	0,4145
3	108,0 ± 92,9	52,0 ± 72,9	0,2826
5	226,0 ± 259,6	123,0 ± 123,9	0,9525
7	228,0 ± 180,8	137,0 ± 117,6	0,3172
11	160,4 ± 266,0	67,0 ± 100,1	0,2575

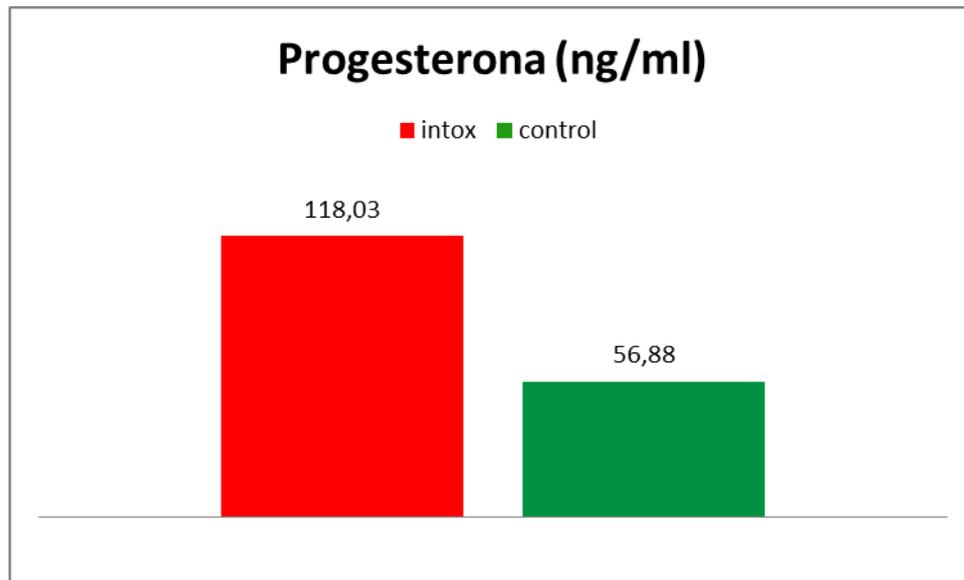


Figura II. Promedio de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.

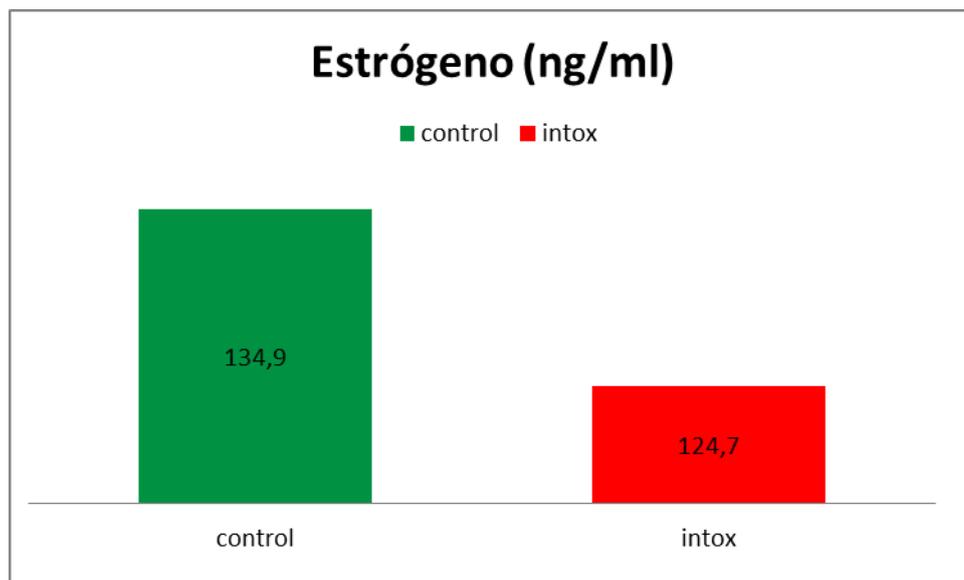


Figura III. Promedio de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.

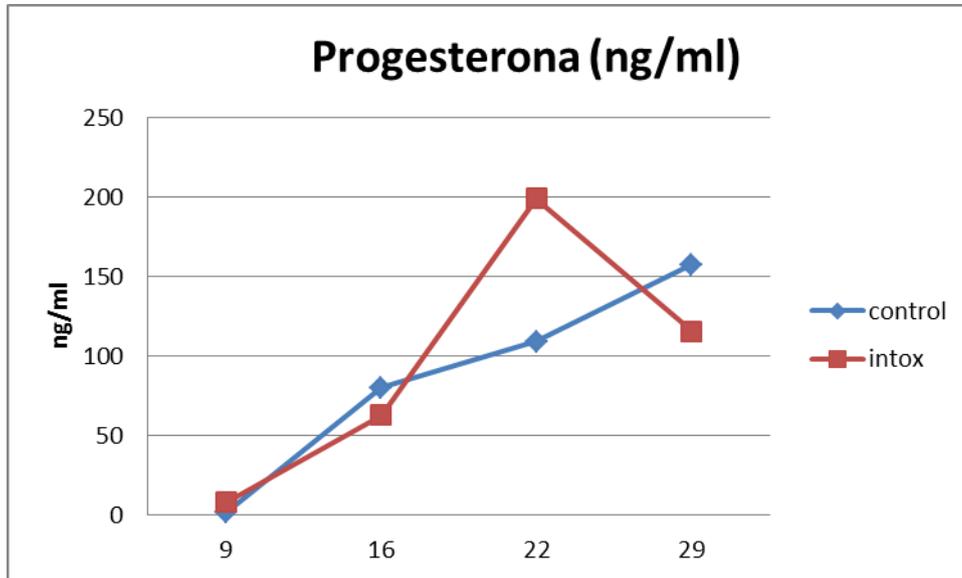
Experimento 4

Figura IV. Promedio de progesterona en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.

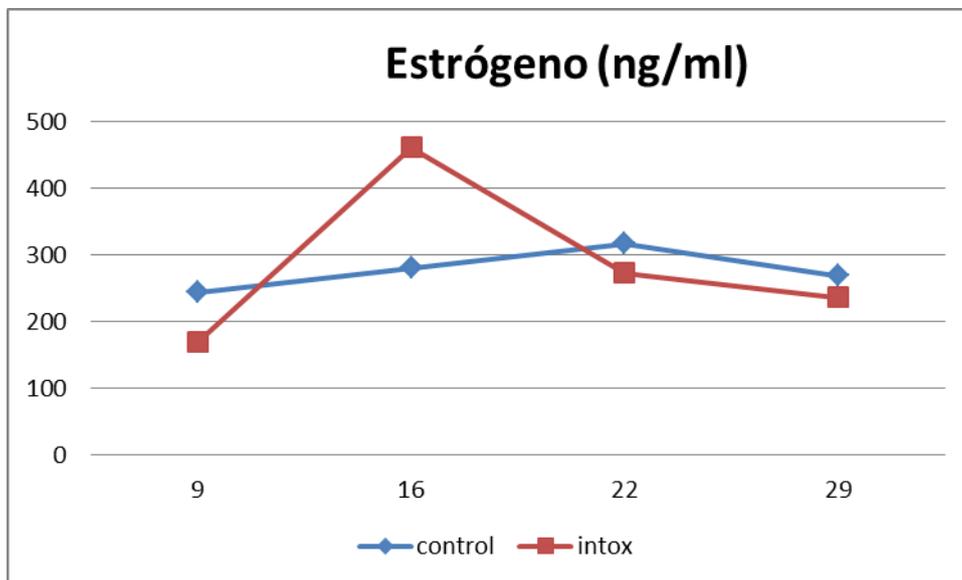


Figura V. Promedio de estrógeno en líquido folicular para los Grupos Control e Intoxicado.

