



ITSON

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA.

UNIDAD OBREGÓN
CAMPUS NÁINARI

APLICACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA EL CONTROL
DE LA OVULACIÓN EN GANADO
HOLSTEIN – FRIESIAN Y SU EFECTO SOBRE LA
FERTILIDAD.

TEMA DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

EDGAR OMAR YANAJARA GÓMEZ

CD. Obregón, Sonora, México. Julio de 2002.

**APLICACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA EL CONTROL DE LA OVULACIÓN EN
GANADO HOLSTEIN – FRIESIAN Y SU EFECTO SOBRE LA FERTILIDAD.**

TEMA DE TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

EDGAR OMAR YANAJARA GÓMEZ

M.C. PABLO LUNA NEVÁREZ
ASESOR
Vo. Bo.

M.V.Z. GUADALUPE MENDEZ CASTILLO
CO-ASESOR
Vo. Bo.

M.V.Z. M.A. CARLOS M. AGUILAR TREJO
COORDINADOR DE LA CARRERA DE MVZ.

COMITÉ:

PRESIDENTE

SECRETARIO

VOCAL

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por estar siempre conmigo, en todas las etapas de mi vida guiándome en todo momento con su amor hasta culminar con mis estudios profesionales.

A mis Revisores:

M.C. José F. Torres S.

M.V.Z. José María Aceves G.

M.C. Candelario Castillo S.

Por los grandes consejos, los cuales guiaron positivamente este trabajo para que sirva de referencia a futuras generaciones.

A mis Amigos y Compañeros:

Por haberme ayudado de alguna u otra manera, lo cuál fue parte fundamental de la culminación positiva de mi etapa final como estudiante, gracias por todo. Rodolfo M., Camilo, Martín, Fernando, Everardo, Pedro, Siria, Liliana, Saharay, Victoria, Nora V., Elizabeth, Rodolfo G., Nora J., Dalime, Héctor, Antonio, José Ricardo, Jesús Manuel R., Eduardo, José E., José Rolando, Tomás, Sergio, Francisco, Horacio, Fernando, Ulises, Mayra, Antonio Y Roberto. Que dios los bendiga.

A la "Posta" ITSON:

Por haber contribuido para la elaboración de este trabajo de investigación, formando gran parte del trabajo.

DEDICATORIAS

A mi madre:

Sra. Carmen Yolanda Gómez de Yanajara:

Por su amor, entrega, paciencia y sacrificio que de manera incondicional y desinteresada me brindo durante esta etapa de estudiante y juventud, evitándome caer en los momentos difíciles que nos presenta en ocasiones la vida. Gracias por quererme y confiar en mi.

A mi padre:

Lic. Eduardo Yanajara Mora:

Por sus valiosos consejos como padre y amigo, los cuales fueron esenciales para el desarrollo de mis estudios profesionales. Gracias por quererme y confiar en mi.

A mis hermanos:

Eduardo y Carmen Adriana:

Por haberme brindado su apoyo, comprensión y cariño por no estar junto a ustedes gran parte del tiempo. Los quiero mucho.

A la familia Zazueta Gómez:

Por haber contribuido de manera esencial en el desarrollo de mis estudios, al brindarme de manera desinteresada su hogar. Gracias por su cariño, consejos y atenciones.

A mi asesor:

M.C. Pablo Luna Nevárez:

Por su invaluable ayuda como maestro y sobre todo como amigo para contribuir en una parte importante en mi etapa de estudiante. Gracias Pablo.

A mi Co – asesor:

M.V.Z. Guadalupe Méndez Castillo:

Por haber contribuido con las bases en la formación para esta carrera y por ser una gran amiga y maestra.

A mi Maestro:

M.V.Z. José María Aceves Gutiérrez:

Por colaborar como amigo y maestro en la obtención de valiosos conocimientos en la parte final de esta etapa de estudiante.

A mis abuelos:

Héctor (q.e.p.d.) y Paulita, Adrián y Fresia:

Por estar siempre al pendiente de mi y apoyarme en todo momento, por su cariño y comprensión. Los quiero mucho.

A mis familiares:

Por brindarme siempre su apoyo incondicional en todo momento. Andrés Gómez, Marcela Gómez, Ricardo Gómez, Genaro Gómez, Martín Gómez, Familia Jiménez Gómez, Familia Covarrubias Gómez, Familia Gómez Hernández, Guadalupe y Adelina Pompa, Familia Gómez Kuavára, Familia Yanajara Palomares, Familia Yanajara Roldán, Familia Narváez Yanajara, Familia Yanajara Parra, José Alfredo y Matilde, Javier Yanajara, Mario y Ana Luisa, Benjamín y Margarita, Rubén y Lucero. Gracias por todo, que dios los bendiga siempre.

CONTENIDO

RESUMEN	vii
LISTA DE CUADROS	viii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. FACTORES QUE AFECTAN EL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO ..	3
1.1. Nutrición	3
1.2. Estrés	6
2. CICLO ESTRAL	8
2.1. Endocrinología	8
2.2. Fisiología del Ovario	12
2.2.1 Dinámica Folicular.....	13
2.2.2 Actividad Luteal	15
2.2.3 Actividad Folicular	16
2.2.4 Morfología Ultrasónica del Ovario	17
3. MÉTODOS PARA LA SINCRONIZACIÓN DE LA OVULACIÓN	18
3.1. Método Select - Synch	19
3.2. Método OvSynch	20
4. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	22
4.1. Técnica Recto – Cervical	22
4.2. Ventajas y Desventajas de la IA	24

5. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN	26
5.1. Palpación Rectal	26
5.2. Ultrasonografía Transrectal	26
MATERIALES Y MÉTODOS	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
LITERATURA CITADA	39

RESUMEN

Yanajara Gómez Edgar Omar. Aplicación de dos métodos para el control de la ovulación en ganado Holstein-Friesian y su efecto sobre la fertilidad. Asesor: M.C. Pablo Luna Nevárez.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de dos tratamientos hormonales para la sincronización de la ovulación, sobre el porcentaje de preñez en ganado bovino productor de leche. Se utilizaron 28 vacas de la raza Holstein-Friesian, de 4 a 6 años de edad, de 2 a 4 partos y buena condición corporal, las cuales fueron divididas en dos grupos experimentales: grupo 1 (T1) formado por 17 vacas que recibieron la aplicación intramuscular (IM) de 100 μ g de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) el día 0 más 25 mg de Prostaglandina F 2α (PGF 2α) el día 7; mientras que el grupo 2 (T2), estuvo formado por 16 vacas que recibieron una inyección IM de 100 μ g de GnRH el día 0 y el día 9, así como la aplicación IM de 25 mg de Prostaglandina F 2α el día 7. Las vacas del grupo T1 fueron inseminadas artificialmente a estro detectado, mientras en el grupo T2 la inseminación artificial se realizó a tiempo fijo. En ambos grupos se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía a los 35 días posteriores a la inseminación. El porcentaje de preñez para el T1 fue de 52.9% y para el T2 de 68.7%, no encontrando diferencia estadística ($P > .05$).

LISTA DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1	PORCENTAJES DE PREÑEZ EN BASE A LOS DOS TRATAMIENTOS HORMONALES.....	33

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de ganado lechero que existen en nuestra región, se basan en la cantidad de litros producidos por vaca en cada lactancia, por lo cual se hace indispensable manejar parámetros reproductivos eficientes tales como: 1) edad al primer parto de 24 a 28 meses, 2) intervalo entre partos de 12 a 15 meses, 3) días parto a la concepción de 60 a 120 días, 4) fertilidad superior al 85%, etc.

Sin embargo, en la actualidad la falta de consistencia en la aplicación de técnicas de manejo reproductivo, ha limitado de manera significativa los parámetros antes mencionados. Aún y cuando se utilizan métodos para la sincronización del ciclo estral, los cuales se basan en la aplicación ya sea de progesterona o de prostaglandinas, en ocasiones no son suficientes para regular la actividad ovárica y por lo tanto la ovulación, lo que impide obtener los resultados deseados en la fertilidad del ganado lechero.

Los métodos iniciales para la regulación del ciclo estral, se basaron en el uso de la progesterona, sola o en combinación con estrógenos; posteriormente, se utilizaron las prostaglandinas como potentes agentes luteolíticos; sin embargo, los métodos actuales requieren de la manipulación tanto de las ondas foliculares, como de la vida del cuerpo lúteo, para lograr un preciso control del ciclo estral. Esto último, es debido a que la dinámica folicular juega un papel de suma importancia en la respuesta a la ovulación posterior a la aplicación de tratamientos hormonales.

La sincronización de estros a base de prostaglandinas aunado a la utilización de hormonas que estimulan la ovulación, tal como el GnRH, permiten controlar no sólo el

estro, sino también la ovulación, que realmente es lo que más importa porque estamos asegurando la liberación de un óvulo viable en el momento preciso para que coincida con la inseminación artificial, lo cual se traduce en un incremento en la fertilidad.

Por lo tanto, la sincronización de la ovulación utilizando prostaglandinas en combinación con GnRH, nos asegura el éxito en la fertilidad del ganado lechero que se está trabajando, ya que se mejoran en forma significativa los porcentajes de preñez, con lo cual los productores de este tipo de ganado conseguirán mayores ingresos y esto repercutirá en un mejor y más abastecido mercado ganadero, por lo que se obtiene mayor rentabilidad de la explotación lechera.

En base a lo anterior, se considera de suma importancia la comparación de diferentes métodos para la sincronización de la ovulación en el ganado lechero, mediante la aplicación de prostaglandinas más GnRH, ya que el método original (OvSynch) implica una dosis de prostaglandina más una doble aplicación de GnRH, mientras que otros métodos que se han derivado del original requieren una sola dosis de GnRH pero es necesario un mayor manejo para la detección precisa del inicio del estro.

Sin embargo, tanto el incremento en la dosis hormonal con el método original, así como el incremento en el manejo en los otros métodos, no se consideran relevantes cuando el incremento en la fertilidad es significativo.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue comparar el porcentaje de hembras gestantes a los 35 días posteriores a la inseminación artificial; dicho objetivo fue evaluado con respecto a los dos diferentes tratamientos hormonales usados en el presente estudio (GnRH - PGF 2α y GnRH - PGF 2α - GnRH).

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Factores que afectan el Comportamiento Reproductivo.

1.1. Nutrición.

En los bovinos, al igual que en otras especies de mamíferos, se ha demostrado que el desarrollo del folículo ovárico se controla principalmente por un sistema integral de retroalimentación que incluye la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) proveniente del hipotálamo, a la hormona folículo estimulante (FSH) y a la hormona luteinizante (LH) secretadas por la hipófisis, y a las hormonas esteroides (estrógenos, andrógenos y progesterona) y a algunas proteínas (inhibina, activina y folistatina) secretadas por el ovario.

El desarrollo folicular se controla principalmente por la acción coordinada de las gonadotropinas (Campbell et al., 1995). Los requerimientos de gonadotropinas para el crecimiento folicular en ganado fueron determinados recientemente por Gong et al. (1996) quienes suprimieron la liberación de LH o de LH y FSH por la pituitaria, por medio de un tratamiento prolongado con un agonista de la GnRH. Ellos demostraron que sin la liberación pulsátil de LH el desarrollo folicular podía llevarse a cabo pero se detenía cuando el folículo dominante alcanzaba los 7 – 9 mm de diámetro. Más tarde al suprimirse los niveles de FSH, el crecimiento de los folículos se detuvo a los 4 mm de diámetro. Por lo tanto, si el desarrollo folicular depende del estímulo constante de las gonadotropinas; por lo tanto, los cambios en la secreción de las mismas, provocados por la nutrición podrían afectar al desarrollo folicular.

Después de la ovulación, ocurre la fertilización, cuando la vaca es inseminada en el momento apropiado. Los niveles óptimos de progesterona provenientes del cuerpo lúteo recién formado son esenciales para proveer de un ambiente adecuado para el desarrollo y crecimiento del embrión en el oviducto y útero. Así , los posibles sitios donde una nutrición inadecuada puede ejercer sus efectos determinantes en la función reproductiva incluyen:

1. En el hipotálamo y glándula pituitaria, alterando la liberación de gonadotropinas con el subsecuente efecto de retardar la ovulación y causar un desarrollo folicular anormal.
2. Directamente en el ovario donde tanto los patrones de crecimiento folicular como la función lútea pueden verse afectados.
3. Alterando el desarrollo folicular, donde indirectamente la calidad del ovocito puede verse reducida con el subsecuente efecto negativo en la supervivencia embrionaria.
4. Provocando un ambiente uterino inadecuado que afecte negativamente el desarrollo y supervivencia del embrión.

Las concentraciones circulantes de FSH en animales enteros no parecen verse afectadas por cambios nutricionales. Rodes et al. (1995) encontraron que no había cambios en las concentraciones de FSH en novillonas desnutridas, ni aún después de que éstas habían perdido el 17% de su peso corporal; tampoco encontraron diferencias en las concentraciones de FSH entre ovejas con condición corporal alta o baja. Sin embargo, la falta de diferencias en las concentraciones de FSH pudo deberse a la regulación ovárica de la secreción de FSH. De hecho, los animales ovariectomizados

con buena condición corporal tienen concentraciones circulantes de FSH más altas que aquellos con una condición corporal pobre.

Pese a que en algunos estudios no pudieron establecerse diferencias en el patrón de secreción de LH en novillonas malnutridas, parece haber consenso en que los cambios significativos en el peso corporal o en la disponibilidad de alimento pueden alterar el patrón de secreción de LH. Esto se demostró por primera vez por González Padilla et al. (1975) y se corroboró por Yelich et al. (1996) en novillonas con restricción alimenticia.

En la mayoría de las ocasiones la glándula pituitaria es capaz de liberar cantidades sustanciales de LH y FSH en respuesta a la estimulación de GnRH. Más aún, la cantidad de LH liberada no cambió cuando novillonas con una condición corporal inicialmente alta estaban perdiendo peso. No obstante, en novillonas con una condición corporal inicialmente baja y que estaban perdiendo peso, la respuesta de la LH a la GnRH se redujo (Roberson et al., 1992). En conjunto estos resultados indican que la respuesta a la GnRH disminuye una vez que el animal ha alcanzado una condición corporal límite. Lo anterior queda claramente ilustrado por el hecho de que el inicio de la primera oleada folicular en vacas amamantando no difiere entre aquellas que se mantienen en un nivel de alimentación bajo y las que se encuentran en un nivel alto. Aunque, la primera ovulación se retrasó 25 días en los animales con nivel nutricional bajo (Stagg et al., 1995). Además, cuando la condición corporal es baja, la síntesis y almacenamiento de gonadotropinas, o la sensibilidad / respuesta de la glándula pituitaria al GnRH se encuentran reducidas.

En conclusión, las concentraciones de FSH en los animales enteros no se ven influenciadas por el estado nutricional. No obstante, la concentración y frecuencia de los

pulsos de LH parecen disminuir cuando los animales son sometidos a dietas subóptimas. En ganado lechero, el grado del déficit energético durante las primeras 2 a 3 semanas posparto está altamente correlacionado con el intervalo al primer estro. Así por ejemplo, en una serie de experimentos recientes, donde el ganado lechero ha sido seleccionado en dos líneas divergentes, los animales altos productores mostraron un retraso significativo en el reinicio de su actividad cíclica.

1.2. Estrés.

Las vacas lecheras son extremadamente sensibles al estrés calórico del medio ambiente. El problema consiste en que las vacas lecheras son incapaces de mantener una temperatura corporal normal en un medio ambiente calórico debido a una alta producción de calor asociada con la lactación. Las vacas se ajustan a las altas temperaturas reduciendo el consumo de alimento, buscando la sombra, estar parada más que echada (a menos que el suelo este húmedo) y limitando la actividad física incluyendo la conducta estral. La combinación de estos ajustes junto con las altas temperaturas ocasionan una depresión en la producción de leche y en el comportamiento reproductivo durante el clima caluroso.

Durante el verano, se presenta una marcada disminución en la producción de leche por las vacas lecheras como un resultado del estrés calórico.

El ganadero lechero, en general tiene una buena apreciación para esta pérdida en la producción debido a que ellos pueden monitorear el volumen del tanque tomando la lectura sobre una base diaria.

Sin embargo, las pérdidas reproductivas debido a estrés calórico no son tan obvias durante estos meses y no llegan a ser aparentes hasta más tarde en el otoño. Una caída significativa en las tasas de preñez durante los meses de verano sin recuperación hasta noviembre, sugieren un efecto acarreador durante el principio del otoño. En contraste, las tasas de preñez en vaquillas no son afectadas durante los meses de verano. Parece ser que la vaquilla no lactante es más eficiente en adaptarse al medio ambiente calórico que las vacas lactantes. Anteriormente, investigadores de Arizona informaron una reducción del 50% en el comportamiento reproductivo durante los meses de verano (Armstrong, 1994).

El estrés calórico afecta varios componentes del proceso reproductivo. Durante la exposición de las vacas al clima caluroso, se presenta una reducción en la duración del estro menor de 10 horas, también se ha visto una intensidad más baja del estro. Esta reducción en la actividad sexual (actividad física) disminuye el calor metabólico producido y así reduce la carga calórica total producida por la vaca. Si el estro ocurre durante las horas más frescas de los días, tales como en la tarde o temprano en la mañana, el personal del establo puede no darse cuenta de ello. Si el estro ocurre durante el período caluroso del día, la vaca está poco dispuesta a llegar a ser activa debido a la necesidad de buscar un área sombreada.

Si los crayones o las marcas son utilizadas como una ayuda en la detección del estro, esta reducción en la actividad sexual da como resultado vacas que no están siendo "borradas" o teniendo una marca en funcionamiento. Estas alteraciones en la conducta estral de la vaca, compromete la eficiencia en la detección del estro para los programas de inseminación artificial. En suma, las vacas expuestas al calor comerán menos o estarán lejos del alimento. Esto causa que las vacas pierdan peso y alcancen

un balance energético negativo, lo cual retarda el ciclo estral de las vacas en el posparto o prolonga el ciclo en aquellas que han comenzado a ciclar.

El estrés calórico también altera el balance hormonal de la vaca, lo cual interfiere con el proceso reproductivo que da como resultado la gestación. En particular el estrógeno, hormona que normalmente es alta alrededor del momento del estro, es significativamente más baja en vacas con estrés calórico. Esta menor diferencia afecta la intensidad del estro así como el medio ambiente del útero y el oviducto que controla la capacitación del esperma, la fertilización y viabilidad del embrión. La sangre que fluye al útero es reducido en las vacas con estrés calórico. Tal reducción en el flujo de sangre afecta la disipación de calor del útero y la disponibilidad de nutrientes a el útero y el desarrollo embrionario. Estos cambios alteran el balance y sincronización que existe entre el embrión y el útero culminando en una pérdida de gestación (Risco, 1998).

2. Ciclo Estral.

2.1. Endocrinología.

Las alteraciones en la nutrición y las enfermedades retrasan la pubertad. Una vez alcanzada la pubertad la ciclicidad estral sólo se interrumpe con la gestación, durante las tres a seis semanas posteriores al parto, durante una alta producción láctea, cuando existen evidentes deficiencias nutricionales y en ciertas condiciones patológicas. Algunas vacas y novillas no manifiestan signos externos durante el estro a pesar de tener una actividad cíclica normal, condición denominada como “celo silencioso” o subestro. Ello puede deberse, sin embargo, a un fallo en la observación de

los signos del celo por parte del ganadero más que a una ausencia real de dichos signos.

En las novillas la duración media de un ciclo estral es de 20 días, y en las vacas 21 días, siendo los rangos normales de 18 a 22 y 18 a 24, respectivamente. La duración media del celo es de 15 horas, aunque el rango está comprendido entre 2 y 30 horas. Existen gran número de factores que pueden influenciar su duración: raza del animal, estación del año, presencia del toro, nutrición, producción láctea, número de la lactación y quizás, la más importante, el número de vacas que se encuentran en celo al mismo tiempo. Existe también una clara evidencia de que mucho de los signos del celo son observados durante las horas de la noche cuando los animales permanecen más tranquilos (Williamson et al., 1972; Esslemont and Bryant, 1976; citados por Arthur et al., 1991).

La ovulación es espontánea y tiene lugar normalmente doce horas después del final del celo.

Existen grandes variaciones individuales en la intensidad de los signos de celo. Los signos suelen ser más intensos en las novillas que en las vacas. Generalmente se acepta que el criterio más seguro para saber si una novilla o vaca se encuentra en celo es que acepte ser montada por otra.

Durante el celo la hembra se muestra intranquila y mucho más activa. Las vacas en celo tienden a agruparse. Disminuye su apetito, así como el tiempo dedicado al descanso y la rumia, y frecuentemente hay una reducción en la producción láctea. La reducción de la producción láctea es un buen indicador del comienzo del celo, si bien posteriormente se produce un cierto incremento compensatorio. Cuando la vaca está en celo tiende a buscar otras vacas en celo a las que lame y huele la zona perineal.

Durante el celo la vaca tenderá a montar otras vacas. En ocasiones, una vez producida la monta sobre otra vaca, puede mostrar incluso movimientos pélvicos. Una respuesta positiva a la monta dura unos cinco segundos. No obstante, si las dos vacas se encuentran en celo esta duración se incrementa a 7.5 segundos.

Frecuentemente existe una descarga genital de moco transparente y claro, cuya elasticidad permite que cuelgue desde la vulva al suelo, también se adhiere a la cola y los flancos. La vulva se encuentra ligeramente edematosa y congestionada y hay una pequeña elevación de temperatura. El pelo de la base de la cola suele encontrarse erizado y su piel a menudo con escoriaciones producida por la monta de otras vacas. En el transcurso del celo la vaca deambula y muge con un sonido característico.

En ocasiones, a los dos días de la cubrición, hay una descarga de moco blanco – amarillento por la vulva, conteniendo neutrófilos procedentes del útero.

Alrededor de las 48 horas después del celo, independientemente de si la hembra ha sido cubierta, las novillas y algunas vacas muestran una descarga sanguinolenta, la sangre procede fundamentalmente de las carúnculas uterinas.

La temperatura corporal de la vaca desciende alrededor de 0.5° C en la ovulación.

El pH vaginal también fluctúa durante el ciclo estral, siendo el valor más bajo de 7.32 en el momento del celo.

Durante el celo, el epitelio de la zona anterior de la vagina incrementa su espesor debido a las divisiones celulares y al incremento de su altura, se vuelve columnar y las células superficiales segregan moco. En el diestro el epitelio es plano o columnar bajo. La invasión leucocitaria de la mucosa vaginal es máxima de los dos a los cinco días después del celo. Al comienzo del celo aparece una copiosa secreción de moco

procedente del cuello uterino y vagina anterior, secreción que se incrementa durante el celo para disminuir posteriormente hasta desaparecer el cuarto día después del celo. El moco es transparente y fluye fácilmente.

La hiperemia de la mucosa vaginal y del cuello uterino se incrementa a medida que transcurre el proestro y celo. La protusión del cuello en la vagina se encuentra congestionada y su orificio relajado, de tal forma que pueden insertarse en la luz dos dedos. Durante el metaestro hay una rápida reducción de la congestión vascular y entre los tres y cinco días después del celo la mucosa se presenta pálida y quiescente; el orificio externo del cuello uterino se contrae y el moco cervical se vuelve viscoso y de color amarillento o parduzco. Existen también variaciones en la conductancia térmica y pH vaginal, de tal forma que se incrementan justo al comienzo del celo.

Durante el celo el útero se encuentra congestionado, el endometrio está cubierto por un fluido edematoso y su aspecto es brillante. La capa muscular es fisiológicamente contráctil, de tal forma que cuando el útero es palpado por vía rectal dicha capa muscular manifiesta irritabilidad, está característica junto con la marcada vascularización confiere al útero una turgencia manifiesta a la palpación. Los cuerpos uterinos al tacto se presentan erectos y curvados. Esta tonicidad se mantiene desde el día antes al día después del período del celo, siendo máxima durante todo el celo. Entre las 24 y la 48 horas después del celo las carúnculas muestran una hemorragia petequiral, lo que origina que las descargas uterinas inmediatamente después del celo sean sanguinolentas.

Durante el diestro el endometrio aparece cubierto por una pequeña secreción de las glándulas uterinas (Arthur et al., 1991).

2.2. Fisiología del Ovario.

Generalmente, sólo un folículo ovula en cada celo, eliminando un solo ovocito. En el ganado vacuno lechero alrededor del 60% de las ovulaciones tienen lugar en el ovario derecho.

Algunos estudios han mostrado que el desarrollo folicular es continuo e independiente de la fase del ciclo estral. Ciertamente, hay datos de que uno o dos folículos antrales son identificables en cualquier momento del ciclo estral. No obstante, alguno de los folículos grandes presentes en el ovario cinco días antes del celo no llegaron a ovular. Una de las características típicas de la vaca es que durante todo el ciclo estral existe una secuencia continua de crecimiento folicular y atresia.

El desarrollo folicular depende de los estímulos tónicos de FSH y, si bien la atresia puede ser debida a una secreción reducida de FSH, existe algún dato de que los folículos antrales dominantes segregan una sustancia que actuando localmente produce la atresia de los folículos antrales más pequeños.

De este modo, durante el diestro habrá folículos de diferente tamaño, comprendidos entre 0.7 y 1.0 cm de diámetro. Estos folículos, si bien no alteran el contorno oval de los ovarios, sí que producen una cierta variación en el tamaño de los mismos. La mayor o menor facilidad para la palpación de estas estructuras por vía rectal dependerá de su tamaño, grado de protusión y su relación con el cuerpo lúteo.

Durante el proestro y celo el folículo destinado a romperse en la inmediata ovulación completa su desarrollo, la ovulación tiene lugar cuando el folículo alcanza como mínimo 1.9 cm de diámetro. En el celo, mediante palpación rectal, es posible detectar el folículo maduro como un ligero abultamiento sobre cuya superficie lisa se

aprecia una zona blanda. La ovulación puede ocurrir en cualquier parte de la superficie del ovario. La forma del cuerpo lúteo que posteriormente se desarrolla depende del lugar donde ocurre la ovulación. Lo normal es que la ovulación tenga lugar en una zona avascular de la pared del folículo. Si bien la hemorragia posovulatoria no es una característica típica del ganado bovino, después de la ovulación sí que existe una congestión alrededor del punto de rotura y, en ocasiones, un pequeño coágulo de sangre está presente en el centro del cuerpo lúteo recién formado. (Hendriksen et al., 2000).

2.2.1. Dinámica Folicular.

El ciclo estral bovino es caracterizado por una serie de 2 ó 3 ondas foliculares. Cada una de ellas es precedida por un incremento sérico de hormona folículo estimulante (FSH), la cual inicia el crecimiento de un grupo de folículos de 3 mm o más. Basado en las observaciones con ultrasonido, la primer onda folicular se considera que inicia el día 1 del ciclo, donde el día 0 es definido como el día del estro. Al tercer día, el primer folículo que emergió alcanza el tamaño de 8 mm mientras que los demás se detienen en 4 mm, considerándose estos últimos como subordinados mientras que el primero es el dominante (Hendriksen et al., 2000).

Una onda de crecimiento folicular involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos. Una onda folicular está caracterizada por el desarrollo de un gran folículo dominante, y varios folículos subordinados que invariablemente se atresian. Algunos investigadores han observado una preponderancia de ciclos estruales de 2-ondas mientras que otros indican una predominancia de ciclos de 3-ondas. Una onda folicular tiene normalmente una duración de 8 a 10 días y el número de ondas foliculares que

ocurren durante un ciclo estral depende del período de vida del cuerpo lúteo. Generalmente se presenta de 2 a 4 ondas foliculares durante el ciclo estral, y aproximadamente el 75% de vacas presentan 3 ondas foliculares (D'Occhio et al., 1999).

Para el patrón de 2-ondas, la emergencia de la primera onda se detectó por ultrasonografía, en promedio, en el día 0 (día de la ovulación) y la de la segunda onda en el día 10. Cada onda estuvo compuesta de varios folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4 mm. El folículo dominante de la primera onda tuvo una fase de crecimiento (días 0 a 6), una fase aparentemente estática (días 6 a 12) y una fase de regresión (día 12 en adelante); la tasa de crecimiento fue más rápida que la fase de regresión. El folículo dominante de la onda 2 fue ovulatorio y el máximo diámetro alcanzado no difirió de la del primero (promedio 16 mm). Los folículos subordinados en cada onda incrementaron su diámetro durante unos pocos días, el más grande de los cuales alcanzó un diámetro promedio de 8 mm, tres días después de la emergencia de la onda, luego se mantuvieron o sufrieron regresión (Adams, 1993).

Para el patrón de 3-ondas, las emergencias de las ondas se detectaron a los días 0, 9 y 16; las dos primeras fueron anovulatorias. Las características del folículo dominante de la primera onda no fueron diferentes entre el patrón de 2-ondas y el patrón de 3-ondas, pero la onda 2 emergió 1 a 2 días más temprano en este último. El patrón de crecimiento continuo en ondas se mantiene al menos durante los primeros 100 días de preñez, y durante el período de postparto en vacas lecheras y en vacas de carne. No se han realizado estudios ultrasónicos críticos de la dinámica folicular durante los dos últimos trimestres de gestación. En estudios recientes de vaquillonas prepuberales, la composición de las ondas foliculares no ovulatorias fueron muy

similares a la de animales maduros y se concluyó que los mecanismos que controlan el “bien ordenado” fenómeno de emergencia de ondas, selección y regresión folicular se establecen muy tempranamente en el período prepuberal, tan temprano como 2 semanas de edad (Adams, 1993).

2.2.2. Actividad Luteal.

El cuerpo luteo comienza su regresión más temprano en los ciclos de 2-ondas (Día 16) que en los de 3-ondas (Día 19) afectando correspondientemente el intervalo interovulatorio (20 días y 23 días respectivamente). En ambos casos, el folículo dominante en el momento en que ocurre la luteólisis se torna en folículo ovulatorio y la emergencia de la onda siguiente se demora hasta el día 0 muy cerca del día de la ovulación siguiente. La comparación de las ondas foliculares entre vaquillonas vírgenes y vaquillonas preñadas, y entre vírgenes tratadas con progesterona y preñadas, reveló que la emergencia de folículos no ovulatorios continuó hasta el último día estudiado (Día 100; vaquillonas preñadas y vaquillonas vírgenes tratadas con progesterona) o hasta la luteólisis (vaquillonas vírgenes). Las ondas emergieron con intervalos de 8 a 10 días.

El crecimiento del folículo dominante de la primera onda fue mayor que el de las siguientes ondas anovulatorias en vaquillonas no preñadas y preñadas; ello fue atribuido a menores niveles circulantes de progesterona durante su fase de crecimiento (cuerpo lúteo inmaduro) comparado a las concentraciones durante la fase de crecimiento de los folículos dominantes de las ondas subsiguientes (cuerpo lúteo maduro). Del mismo modo, el folículo dominante de la segunda onda en los ciclos de las 3-ondas fue más pequeño que el de la primera onda. Estudios posteriores indicaron

que los efectos supresivos de progesterona sobre el folículo dominante fueron mediados por la supresión de LH. Aunque aún no ha sido observado directamente, el ciclo de 3-ondas podría estar asociado con niveles más altos de progesterona durante el comienzo de la fase luteal que determinarían un tamaño menor del folículo dominante comparado al del ciclo de 2-ondas. Un menor tamaño se traduciría en menor duración del período de dominancia y por ende una más temprana emergencia de la onda siguiente. El comparativamente pequeño folículo dominante de la segunda onda en los ciclos de 3-ondas (expuesto a altas concentraciones de progesterona durante la fase de crecimiento) resulta en un período de dominancia relativamente breve y permite la emergencia de la tercera onda antes de que se inicie la luteólisis.

2.2.3. Actividad Folicular.

Durante el ciclo estrual, no se encontraron interrelaciones entre el ovario que contiene cuerpo lúteo y el ovario con folículo dominante o entre la localización del cuerpo lúteo y las características del folículo dominante. Tampoco hubo efectos intraováricos del folículo dominante sobre ninguna de las características de la dinámica de ondas. Se concluyó que los efectos supresivos entre folículos, previamente postulados, se ejercían a través de canales sistémicos más que autocrinos o paracrinos.

Las comparaciones de asociaciones temporales entre intervalos interovulatorios de 2-ondas versus 3-ondas y entre ondas foliculares que ocurren durante el ciclo versus las que ocurren al comienzo de la gestación nos permiten postular tres hipótesis para explicar los mecanismos involucrados en la regulación de la dinámica de las ondas

foliculares: 1) un folículo dominante provoca regresión de sus subordinados, 2) un folículo dominante durante su fase de crecimiento suprime la emergencia de la onda siguiente y 3) Los folículos emergentes de una onda determinan la regresión del folículo dominante estático de la onda precedente. Los resultados apoyan claramente las dos primeras hipótesis, pero no la tercera puesto que la terminación de la fase estática o los folículos en regresión no fueron acelerados por el tratamiento con líquido folicular (Adams, 1993).

2.2.4. Morfología Ultrasónica del Ovario.

Los folículos ováricos, como cualquier estructura que está llena de líquido, aparece en la pantalla como áreas de color negro. Los folículos en general aparecen en forma redondeada, pero también pueden presentarse formas más irregulares, generalmente debido a la compresión de los folículos adyacentes, al cuerpo lúteo o debido a compresión entre los folículos y el estroma ovárico. Las paredes que separan los folículos son a veces muy delgadas y en consecuencia difíciles de distinguir. A veces la presencia de dos folículos adyacentes y del mismo tamaño da la impresión de la presencia de un folículo irregular. Las medidas de los folículos son en realidad las medidas del antro folicular (Pierson y Adams, 1999).

El cuerpo lúteo tiene una ecotextura diferente del estroma ovárico. El contorno bien definido del cuerpo lúteo es visible aproximadamente a los 3 días posteriores a la ovulación y es un tejido ecogénico que se observa de un color ligeramente blanco en la pantalla. Normalmente, el cuerpo lúteo es observado en toda la fase luteínica, e inclusive, en algunos casos el cuerpo albicans es distinguido. En un estudio, el 79% de

los cuerpos lúteos tenían una cavidad central de un tamaño entre 2 y 20 mm de diámetro. Estas cavidades llenas de líquidos, tienen en general forma irregular y en algunos casos puede aparecer más de una cavidad, en todos los casos, las cavidades están redondeadas por tejido luteal ecogénico (Hildebrandt et al., 2000).

3. Métodos para la Sincronización de la Ovulación.

El desarrollo de los métodos para el control del ciclo estral en vacas esta dado en 5 fases distintas. Las bases fisiológicas para la sincronización de estros se derivan de la inhibición de la maduración y ovulación de los folículos por parte de la progesterona. La regulación del ciclo estral se cree que esta asociada con el control del cuerpo lúteo, del cual su promedio de vida y actividad secretora esta regulado por mecanismos tróficos y líticos. La **FASE I** incluye efectos para prolongar la fase luteal por la administración exógena de progesterona. Después, agentes progestágenos son combinados con estrógenos o gonadotropinas en la **FASE II**; mientras que la **FASE III** involucra la prostaglandina F_{2α} (PG) que es un agente luteolítico. Los tratamientos que combinan agentes progestágenos con PG caracterizan la **FASE IV** (Patterson et al., 2000).

El monitoreo preciso de los folículos ováricos y el cuerpo lúteo a tiempo real por ultrasonografía transrectal nos permite conocer el ciclo estral de los bovinos y particularmente los cambios que ocurren durante una onda folicular. El crecimiento folicular en el ganado lechero ocurre en distintos patrones de ondas, con nuevas ondas

foliculares apareciendo aproximadamente cada 10 días (con un rango de 6-15 días). Ahora sabemos (**FASE V**) que para el control preciso del ciclo estral, se requiere de la manipulación de las ondas foliculares y el cuerpo lúteo (Patterson et al., 2000).

3.1. Método Select-Synch.

Una inyección de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a vacas tomadas al azar en diferentes etapas de su ciclo estral ocasiona la liberación inicial de hormona luteinizante provocando ovulación o luteinización en los folículos más grandes. Como consecuencia, una nueva onda folicular es iniciada en todas las vacas a los 2 ó 3 días de la administración de GnRH. Las células luteales que se forman después de la administración de GnRH son susceptibles a la PG ocasionando luteolisis 6 ó 7 días después (Twagiramungu et al., 1995).

El método de GnRH – PG aumenta las tasas de sincronización de estros en el ganado de carne y ganado lechero. Una desventaja de este método es que aproximadamente del 5 al 15% de las vacas son detectadas en estro e inseminadas durante el período de sincronización (Kojima et al., 2000; citado por Patterson et al., 2000).

Este protocolo de sincronización involucra darle a las vacas una aplicación de GnRH en el día 0 (día que se hace la primera aplicación), seguida de una aplicación de prostaglandina al día 7. Después de la aplicación de la prostaglandina, se espera que las vacas entren en calor en un rango de 48 a 72 horas después. A la vaca se le retira el becerro después del calor o el parto. Este sistema nos muestra la inducción a un estro fértil en vacas que no están ciclando. Al evaluar los resultados se observó un 12.7% más de vacas que entraron en calor usando este método comparado con el de

prostaglandinas (2 aplicaciones), con un 10.5% mayor de porcentaje de preñez. Sin embargo, es necesario que tengan el tiempo suficiente después del parto para que vuelvan a ciclar. (Farmer, 1998).

3.2. Método Ovsynch.

La administración de PG sola es comúnmente utilizada para la sincronización de estros ovulatorios en vacas ciclando. Sin embargo, este método es deficiente en vacas que no están ciclando ó anéstricas y por otra parte el estado de la onda folicular al tiempo de la aplicación de PG directamente contribuye con la variación de la duración al inicio del estro en el período sincronizado. En cambio el método de GnRH – PG – GnRH desarrolla la sincronización de las ondas foliculares y el tiempo de la ovulación (Patterson et al., 2000).

El método de GnRH – PG – GnRH para IA en tiempo fijo se debe al desarrollo de folículos preovulatorios que ovulan en respuesta a la segunda aplicación de GnRH que induce la liberación de LH después de 48 horas posteriores a la aplicación de PG. La aplicación de GnRH 48 horas después de la PG es lo que nos marca la sincronización de la ovulación (OvSynch) (Pursley et al., 1995).

OvSynch ha sido validado recientemente con resultados significativos para la sincronización de la ovulación y el tiempo fijo de IA en vacas en lactación. El tiempo de ovulación con OvSynch ocurre entre 24 y 32 horas después de la segunda aplicación de GnRH y son sincronizadas del 87 al 100% de las vacas en lactación. Las tasas de preñez en vacas que fueron inseminadas a tiempo fijo siguiendo el método OvSynch, fueron de 32 a 45% comparado con el método control (Pursley et al., 1995).

El protocolo involucra la inyección de GnRH al día 0 y la inyección de prostaglandina al día 7, otra inyección de GnRH al día 9 y un tiempo de inseminación 24 horas después. Cuando se compararon el tipo de sincronización a base de SynchroMate-B con el programa Ov-Synch, este último tuvo como resultado un 14% mayor en tasa de preñez (43% vs. 57%, respectivamente). (Farmer, 1998).

El programa OvSynch que permite la IA planeada de las vacas lecheras sin la necesidad de detectar los celos. Este programa requiere de tres inyecciones 100 mg de GnRH al día 0, 25 mg de PGF2alfa al día 7 y 100 mg de GnRH al día 9. Luego de la segunda inyección de GnRH las vacas son servidas sin tener en cuenta las manifestaciones estruales. Hemos encontrado que se encuentran tasas de parición aceptables con el servicio de las vacas en cualquier momento entre las 0 y las 24 horas posteriores a la segunda inyección con GnRH, pero la óptima tasa se encontró que fue cuando se sirve a las 16 horas de la GnRH. La tasa de preñez por IA es similar para vacas que sufren IA planeada luego de seguir este protocolo como las que son servidas durante un celo normal. Este programa solamente sincroniza la ovulación en alrededor de un 60 –70% de las novillas en comparación con un 90% de las vacas lecheras en lactancia. O sea que este nuevo protocolo permite un manejo reproductivo más eficiente en las vacas lecheras en lactancia puesto que las vacas pueden ser servidas en tiempo correcto sin la necesidad de detectar el celo en forma continua (Pursley et al., 1998).

4. Inseminación Artificial (IA).

La IA es una de las prácticas de manejo más valiosas para la explotación del ganado y data desde 1870, cuando se realizaron los primeros experimentos por un biólogo italiano llamado Lázaro Spallanzani, para luego difundirse hacia Europa y los Estados Unidos; es este último se desarrollo rápidamente alrededor de 1930. En México, hasta hace pocos años se empezó a implementar en pequeña escala utilizando principalmente semen importado de Estados Unidos (Gómez, 1995).

Por medio de este procedimiento se hace un uso eficaz de la generosa dotación de espermatozoides disponibles en un macho, de manera que se incrementa considerablemente el progreso genético y se mejora en muchas ocasiones la eficiencia de la reproducción.

La IA puede proveer aparte del control de las enfermedades venéreas, otras ventajas como la conservación se semen por congelamiento, el cual escapa a las limitaciones de tiempo y distancia, puesto que puede estar en cualquier lugar y en cualquier momento (Luna, 2001).

1.1. Técnica Recto-Cervical.

a) Para llevar a cabo la técnica, se siguen los siguientes pasos:

1. Colocar la vaca a inseminar en un lugar seguro tanto para el técnico como para la misma vaca (cajón de inseminación o chute), para iniciar el lavado con agua de los labios vulvares, secándolos con papel sanita.

2. Revisar la caja de inseminación, asegurándose de que contenga todo el material a utilizarse (pistola, guantes, fundas, cortapajillas, termómetro, papel sanita, termo descongelador, etc.).

3. Se procede a descongelar el semen, para lo cual se destapa la boca del termo que contiene ya sea las pajillas o ampolletas con semen, evitando la luz solar y las corrientes de aire. Se sujeta la canastilla que contiene el semen y se levanta sin pasar esta más allá de la boca del termo, se identifica al bastón y se toma con los dedos pulgar e índice la pajilla (o ampolleta) la cual se procederá a descongelar.

4. La pajilla se coloca durante 50 a 60 segundos dentro de un termo que contiene agua a temperatura de 35 a 37°C (94 a 98°F), ya que más fría a o más caliente puede afectar la viabilidad de los espermatozoides.

5. Una vez descongelada la pajilla, esta se toma por el extremo superior (manteniéndose en posición vertical) y se seca con papel sanita, cuidando de no volver a tocarla con los dedos.

6. Se corta el extremo superior de la pajilla con el corta-pajillas, e inmediatamente es colocada dentro de la pistola de I.A

7. Se coloca un guante para palpación en la mano izquierda, mientras que con la mano derecha se toma la pistola de I.A., protegiendo el extremo libre con papel sanita, para dirigirse al sitio en el cual se encuentra la vaca en calor, debidamente sujeta.

8. Se introduce la mano izquierda (con guante) por vía rectal hasta localizar el cérvix, para determinar su forma y tamaño, tomando inicialmente el extremo posterior del cérvix con los dedos pulgar, medio e índice y manteniéndolo fijo.

9. Un ayudante debe abrir los labios vulvares de la vaca, para proceder a introducir la pistola de I.A. evitando el contacto de esta con excremento o suciedad de la vulva.

10. Con los dedos libres de la mano izquierda (que se encuentra dentro del recto) se localiza la punta de la pistola de I.A. y es guiada hasta la abertura posterior del cérvix, logrando introducir entonces la pistola de I.A. dentro del cérvix hasta topar con el primer anillo.

11. Con la mano izquierda se manipula el cérvix con movimientos rotatorios, al tiempo que con la mano derecha se empuja la pistola de I.A. hacia delante hasta atravesar los tres primeros anillos cervicales.

12. Una vez colocada la punta de la pistola de I.A. en el inicio del cuerpo uterino (sitio blanco de la I.A.), con la mano derecha se empuja el émbolo de la pistola lentamente y de esta manera el semen es completamente depositado en el sitio adecuado para alcanzar la fecundación.

13. Finalmente, se retira la pistola de I.A. del tracto reproductor de la vaca, así como también la mano que se encontraba dentro del recto.

14. Se descarga la pistola tomando la funda con la mano izquierda y se jala el guante a manera de que la funda quede forrada por el guante (Luna, 2001).

1.2. Ventajas y Desventajas de la IA:

- Ventajas.

- a) El uso intensivo de sementales sobresalientes por su alto valor genético y su habilidad demostrada para heredar caracteres genético de importancia,

- b) La amplia disponibilidad de sementales, proporciona al productor la oportunidad de seleccionar entre un número considerable de éstos, a aquel que mejore en la explotación las características deseables para el productor,
- c) Se elimina el peligro que representan algunos toros para las vacas, debido a peso o a su temperamento,
- d) Se reducen los riesgos de transmisión de enfermedades venéreas,
- e) Es posible experimentar nuevas cruzas sin que sea necesario comprar sementales,
- f) El aspecto económico, al evitar los gastos relacionados con el mantenimiento de un semental: alimentación, manejo, instalaciones, etc. (Bearden y Fuquay, 1992).

- Desventajas:

- a) Existe la posibilidad de utilizar sementales de características genéticas pobres,
- b) La utilización de un número menor de toros, incrementa la posibilidad de efectos de consanguinidad,
- c) El costo del inicio del programa, representado principalmente por el gasto para instalaciones apropiadas,
- d) La necesidad de personal entrenado, así como el incremento en la labor debido al tiempo utilizado por los trabajadores en la detección de estros (Bearden y Fuquay, 1992).

5. Diagnóstico de Gestación.

5.1. Palpación Rectal

Se han desarrollado varios métodos para saber si la vaca está gestante, uno de ellos es la técnica de la palpación “tacto” y consiste en sentir el tracto reproductor de la vaca a través de las paredes del recto. Esto se hace con la finalidad de determinar si el tracto reproductor está vacío o tiene en desarrollo un embrión o feto.

Para realizar la técnica manual de diagnóstico de preñez, con la mano derecha se agarra la cola de la vaca, la cual sirve de apoyo, se introduce la mano izquierda en el recto, después de lubricar el guante, a manera de cuño uniendo los dedos los más juntos posible. En la mayoría de los casos, no es necesario remover la materia fecal. Sin embargo, esto puede ser conveniente porque el tacto se incrementa al remover la materia fecal.

La penetración del brazo en el recto hasta el codo, es mejor que tratar de meter el brazo poco a poco, ya que es más fácil sentir los órganos genitales de adelante hacia atrás, que de atrás hacia adelante. Es posible detectar la preñez por este método, desde los 45 días de gestación, aunque es más confiable hasta los 45 días (Luna, 2001).

5.2. Ultrasonografía Transrectal.

Normalmente, la principal demanda para el uso de la ultrasonografía en la investigación en reproducción animal, es en el estudio de la foliculogénesis. Clínicamente, sin embargo, además de amplio uso para la aspiración transvaginal de

ovocitos, esta tecnología ha tenido una creciente demanda para el diagnóstico y monitoreo de varios aspectos de la preñez. Además, la visualización a tiempo real del activo feto bovino, es de sumo interés tanto para el veterinario como para el productor.

Las ventajas de la ultrasonografía transrectal para diagnosticar la preñez, en comparación con la palpación rectal, incluyen las siguientes: 1) si la vaca no está preñada, el escáner proporciona mucha información referente al estatus del ovario y las condiciones del útero, 2) la viabilidad del embrión y el feto puede ser medida, 3) los cuates o gemelos son más fácilmente detectados, 4) el sexo fetal puede ser determinado, 5) la edad fetal puede ser más precisamente determinada, y 6) se puede dar seguimiento a la viabilidad embrionaria, para detectar pérdidas embrionarias (Ginther, 1998).

Un uso importante de la técnica de ultrasonido es la evaluación temprana del feto. En bovinos hay pocos trabajos de investigación que evalúan la estructura del embrión previo al día 20 de la gestación. En estos trabajos se determinó la presencia de fluido en el día 11.7 del ciclo (rango día 10 al 17), pero la preñez tuvo que ser confirmada posteriormente con la examinación del conceptus y el latido cardíaco. La apariencia ultrasonográfica del conceptus bovino después del día 20 fue estudiada utilizando 15 vaquillonas. El largo promedio del embrión aumentó de 3.8 mm (día 21) hasta 66.1 mm (día 60). La curva de crecimiento es cuadrática con un significativo aumento del crecimiento en el día 50. El embrión también va cambiando de forma desde una línea delgada (día 21) hasta una forma de C (día 24), para tener posteriormente una forma de L. La frecuencia cardíaca disminuye de 188 latidos/minuto en el día 20, a aproximadamente 145 en el día 26, y después se mantiene aparentemente constante hasta el día 60. El alantoides se detecta como un pequeño

círculo blanco adyacente a la porción media ventral del embrión. El amnios es detectado como una banda ecogénica alrededor del embrión al día 29 (Curran et al., 1986; citados por Pierson et al., 1994).

Estudios recientes han demostrado la posibilidad de determinar la gestación en la vaca en el día 18 del ciclo con un transductor de 5.0 MHz y en el día 16 con un transductor de 7.5 MHz. El diagnóstico temprano basado solamente en la presencia de fluido intrauterino no es eficiente por dos razones: 1) el pequeño tamaño del conceptus elongado que llega casi al límite de resolución de los scanners comerciales, y 2) la presencia aparentemente normal de fluido intrauterino entre el día 10 al 20 del ciclo se puede confundir con la vesícula embrionaria. De todas maneras, si bien se ha determinado la presencia del conceptus a los 11 días de gestación, y se ha podido determinar la presencia del embrión entre el día 16 y 18, en la práctica de campo lo más conveniente es examinar al animal entre el día 23 y 25 de gestación. Durante esta examinación es importante determinar la presencia de un cuerpo lúteo funcional y la evaluación del embrión, junto con la visualización de los latidos cardíacos (Kastelic et al., 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

LOCALIZACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL.

La presente investigación se llevó a cabo en el establo lechero de la Posta-I.T.SON., el cual se encuentran ubicado en el valle del Yaqui, situado en la siguiente coordenada geográfica: 27° 20' 40" de latitud Norte y 110°13' 04" longitud Oeste; con una altitud de 35 metros sobre el nivel del mar, la temperatura promedio anual máxima es de 33.68°C y la mínima de 17.41°C y su precipitación pluvial es de 520.1 mm. (S.A.G.A.R., 1996).

METODOLOGÍA.

Para la presente investigación se utilizaron 33 vacas de la raza Holstein Friesian, de 4 a 6 años de edad, de 2 a 4 partos, con buena condición corporal (2 a 4), un mínimo de 45 días postparto y con actividad ovárica demostrada mediante el estudio ultrasonográfico de las estructuras presentes en el ovario (folículos y cuerpos lúteos) antes de iniciar el experimento.

Se formaron dos grupos experimentales: el tratamiento 1 (T1) estuvo formado por 17 vacas seleccionadas al azar, las cuales recibieron una inyección IM de 100 Mg de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) el día 0, más la administración IM de 25 mg de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) el día 7; mientras que el tratamiento 2 (T2) estuvo formado por 16 vacas que recibieron 100 mg de GnRH el día 0, más la administración intramuscular de 25 mg de PGF_{2α} el días 7 y finalmente, la aplicación IM de 100 mg de GnRH el día 9.

En el T1, se procedió a la detección de calores durante los tres días posteriores a la aplicación de la PGF2 α , mediante observación visual diurna y nocturna. Las hembras que fueron reportadas en estro, se inseminaron artificialmente mediante la técnica recto – cervical en un período de 12 a 18 horas posteriores al inicio del estro. Las hembras que no fueron reportadas en estro, no fueron inseminadas.

En el T2, se realizó la inseminación artificial a tiempo fijo mediante la técnica recto – cervical, realizando ésta en un rango de 16 a 20 horas posteriores a la segunda aplicación de GnRH.

Finalmente, se realizó el diagnóstico de preñez por ultrasonografía a los 35 días posteriores a la inseminación artificial, para lo cual se utilizó el equipo de ultrasonido Sonovet 600, con transductor transrectal de 7.5 MHz.

VARIABLE A ANALIZAR.

La variable analizada fue el porcentaje de hembras que resultaron gestantes a los 35 días posteriores a la inseminación artificial. Dicha variable fue analizada con respecto a los dos diferentes tratamientos hormonales utilizados en la presente investigación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN.

Se utilizó la prueba de Ji-cuadrada para determinar si existía diferencia estadística ($P < .05$) entre ambos tratamientos para la variable “porcentaje de gestaciones”.

El análisis estadístico se realizó utilizando el procedimiento PROC FREQ, en el paquete estadístico S.A.S. (versión 6.03 para windows).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio, se obtuvo un 52.9% de preñez en las vacas del T1, mientras que en el grupo T2 la tasa de preñez fue de 68.7%, no encontrando diferencia estadística ($P > .05$) entre ambos tratamientos, tal y como se indica en el cuadro 1.

Los resultados anteriores, muestran un incremento del 15.8%, posiblemente por el tamaño de la muestra, aunque no significativo, en el porcentaje de preñez obtenido en el grupo T2, donde las vacas recibieron la doble aplicación de GnRH más la PGF2 α . Esto se atribuye a que en las vacas de dicho grupo, la segunda aplicación de GnRH ocasionó una ovulación sincronizada del folículo dominante en un lapso de 24 a 32 horas posteriores a la aplicación de GnRH, asegurando con ello la liberación del óvulo en el momento adecuado para ser fecundado por los espermatozoides, ya que la inseminación artificial se realizó a tiempo fijo en un rango de 16 a 20 horas posteriores a la segunda aplicación de GnRH.

Por otro lado, en el grupo T1 se sincronizó la onda folicular después de la primer aplicación de GnRH y seguramente se produjo la luteólisis al administrar la PGF2 α (al igual que en el grupo T2); sin embargo, al no aplicar una segunda dosis de GnRH, no hay una sincronización precisa del momento de la ovulación, razón por la cual es necesaria la detección del inicio del estro para realizar la inseminación artificial de 12 a 18 horas más tarde. Además, tres hembras de este grupo no fueron detectadas en estro por lo que no fueron inseminadas, lo cual reduce el porcentaje de preñez total en dicho grupo.

Cuadro 1. Porcentaje de preñez en base a los dos tratamientos hormonales.

Tratamiento	N	Porcentaje de Gestación	
		n	%
1	17	9	52.9 ^a
2	16	11	68.7 ^a

^a Literales idénticas indican que no existe diferencia estadística ($P > .05$).

En un estudio similar al realizado en la presente investigación, Cartmill et al. (2001) evaluaron si la inseminación artificial a tiempo fijo con el protocolo Ovsynch (GnRH - PGF2 α - GnRH), resulta en una mayor tasa de preñez que la inseminación a estro detectado con el protocolo Select-Synch (GnRH - PGF2 α), utilizando para ello 425 vacas Holstein con 50 a 70 días en leche, encontrando que las tasas de preñez no difirieron significativamente ($P > .05$) entre ambos protocolos, aún y cuando la tasa de preñez fue mayor para el protocolo Ovsynch.

Asimismo, DeJarnette et al. (2001) evaluaron los porcentajes de preñez en ganado lechero inseminado a tiempo fijo o a estro detectado, después de la aplicación hormonal. Para ello se utilizaron 345 vacas a las cuales se les aplicó 100 mg de GnRH (día -7), más 25 mg de PGF2 α (día 0); las vacas detectadas en estro fueron inseminadas 8 a 12 horas después. Las vacas que no mostraron signos de estro fueron aleatoriamente lotificadas por paridad, condición corporal e intervalo postparto, y un grupo de ellas recibió 100 mg de GnRH a las 48 horas posteriores a la aplicación de PGF2 α , y fueron inseminadas de 16 a 18 horas después (Ovsynch). Las tasas de preñez no fueron afectadas por los tratamientos ($P > .05$), encontrando un 32% para el grupo GnRH - PGF2 α , y un 30% para el grupo GnRH - PGF2 α - GnRH.

En otro estudio, Jobst et al. (2000) utilizaron 920 vacas Holstein para evaluar los porcentaje de preñez obtenidos con los siguientes tres protocolos de sincronización: 1) doble aplicación de PGF2 α con intervalo de 14 días, 2) aplicación de GnRH, seguida por PGF2 α siete días mas tarde y GnRH nuevamente dos días después de la PGF2 α , y 3) aplicación de GnRH más PGF2 α siete días mas tarde. Sólo en el grupo 2, las vacas

se inseminaron a tiempo fijo (de 16 a 18 después de la segunda aplicación de GnRH); mientras que en los grupos 1 y 3, las vacas fueron inseminadas a estro detectado. Los porcentajes de preñez encontrados no difirieron estadísticamente ($P > .05$), resultando éstos de 43.7, 45.6 y 44.0%, para los grupos 1, 2 y 3, respectivamente.

Burke et al. (1996) compararon la efectividad de la inseminación artificial a tiempo fijo y a estro detectado en ganado lechero lactante; para ello utilizaron 128 vacas que recibieron la aplicación de GnRH más $\text{PGF2}\alpha$ siete días después y fueron inseminadas a estro detectado; mientras que en otro grupo, utilizaron 171 vacas que recibieron además de lo descrito para el grupo anterior, una segunda inyección de GnRH a las 48 horas posteriores a la inyección de $\text{PGF2}\alpha$, y fueron inseminadas a tiempo fijo 16 horas más tarde. Los porcentajes de preñez encontrados fueron de 58.8% para el primer grupo (Select-Synch) y de 56.2% para el segundo grupo (Ovsynch), no encontrando diferencia estadística ($P > .05$).

En otro experimento realizado por Stevenson et al. (1999), se utilizaron 227 vacas Holstein las cuales fueron asignados aleatoriamente a dos tratamientos para la sincronización de la ovulación: 1) inyección de GnRH seguida 7 días después por una inyección de $\text{PGF2}\alpha$, más otra inyección de GnRH 48 horas más tarde, inseminando las vacas en un período de 16 a 18 horas posteriores a la segunda aplicación de GnRH; y, 2) inyección de GnRH seguida 7 días después por una inyección de $\text{PGF2}\alpha$, e inseminando sólo aquellas vacas que fueron detectadas en estro.

Aún y cuando la tasa de concepción tendió a ser mayor en el grupo inseminado a estro detectado, la tasa de preñez fue mayor en el grupo inseminado a tiempo fijo, debido a la pobre expresión o detección del estro.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base a los resultados encontrados en la presente investigación, se concluye que los dos métodos utilizados para la sincronización de la ovulación favorecen el comportamiento reproductivo en el ganado lechero, ya que en ambos grupos se encontró un buen porcentaje de preñez, aunque no difirió estadísticamente.

Sin embargo, la tasa de preñez fue más alta en el grupo trabajado con el protocolo Ovsynch, lo cual se atribuye a que la segunda aplicación de GnRH asegura el desarrollo de los mecanismos fisiológicos requeridos para la ovulación, en comparación con el método Select-Synch, donde la aplicación de PGF2 α asegura la luteólisis, pero no la sincronización de la ovulación, por lo que es indispensable la observación de calores para asegurar un mayor porcentaje de preñeces. El primer método facilita la inseminación a tiempo fijo, pero requiere una dosis adicional de GnRH, en comparación con el segundo método, en el cual no se requiere una aplicación adicional de GnRH, pero es necesaria una observación y detección precisa del estro.

Por lo anterior, se recomienda utilizar el método Ovsynch cuando no se cuenta en la explotación con las facilidades requeridas para la observación y registro de calores, ya que se requiere de una aplicación doble de GnRH, lo cual eleva el costo del tratamiento; sin embargo, si se desea reducir el costo de la sincronización, se recomienda usar el método Select-Synch, asegurándose de contar con personal técnico capacitado y la detección oportuna de calores.

Además, se recomienda también la realización de otros estudios que permitan comparar otros tratamientos hormonales a base de GnRH y $\text{PGF}_{2\alpha}$, con la finalidad de asegurar el preciso control de la actividad ovárica, mediante la utilización de grupos experimentales lo suficientemente grandes.

LITERATURA CITADA

- Adams, G.P. 1993. Dinámica folicular ovárica en el bovino adulto y prepúber. Resúmenes del Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina.
- Armstrong, D.V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044.
- Arthur, G.H. 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, D.F.
- Bearden, H.J. y J. Fuquay. 1992. Reproducción Animal Aplicada. El Manual Moderno. México, D.F.
- Burke, J.M., R.L. SalSota, C.A. de la Risco, C.R. Staples, E.J. Schmitt and W.W. Thatch. 1996 Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1385-1393.
- Campbell, B.K., R.J. Scaramuzzi and R. Webb. 1995. Control of antrall follicle developmento and selection in sheep and cattle. *Suppl. J. Reprod. Fert.* 49:335.
- Cartmill, J.A., S.Z. El-Zarkouny, B.A. Hensley, T.G. Rozell, J.F. Smith and J.S. Stevenson. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *J. Dairy. Sci.* 84:799-806.

- DeJarnette, J.M., R.R. Salverson and C.E. Marshall. 2001. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed – time inseminations after synchronization using GnRH and PGF (2 alpha). *Anim. Reprod. Sci.* 3;67 (1-2): 27-35.
- D' Occhio, M.J., D. Jillela and B.R. Lindsey. 1999. Factors that influence follicle recruitment, growth and ovulation during ovarian superstimulation in heifers: opportunities to increase ovulation rate and embryo recovery by delaying the exposure of follicles to LH. *Theriogenology*. 51:9.
- Farmer, W. 1998. Successful Artificial Insemination Through Estrus Synchronization: Part II. *Animal and Dairy Scienc.* Mississippi State University. Internet.
- Ginther, O.J. 1998. Pregnancy: Applied aspects. In: *Ultrasonic imaging and animal reproduction in cattle.* Equiservices publishing. Univ. of Wisconsin.
- Gómez, C.J.A. 1995. Efecto de la utilización de un producto sincronizador sobre la inducción y sincronización de estros con respecto a la condición corporal en ganado de carne. Tesis de Licenciatura. Depto. De M.V.Z. del I.T.SON.
- Gong, G.O. and R. Webb. 1996. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. *Anim. Breed. Abstr.* 64:195.
- González – Padilla, E., J.N. Wiltbank and G.D. Niswender. 1975. Puberty in beef heifers: The interrelationship between pituitary, hypothalamic and ovarian hormones. *J. Anim. Sci.* 40:1091.
- Gutiérrez, C.G. 1999. Influencia de la nutrición sobre los procesos reproductivos. *Memorias del VIII Curso Internacional de Reproducción Bovina.* México, D.F.

- Hendriksen, P.J., P.L. Vos, W.N. Steenweg, M.M. Berers and S.J. Dieleman. 2000. Bovine follicular development and its effect on the in vitro competence of oocytes. *Theriogenology*. 53:11.
- Hildebrant, T.B. R. Kermes, K. Jewgenow and F. Goritz, 2000. Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species. *Theriogenology*. 53: 73.
- Jobst, S.M., R.L. Nebel, M.L. McGillard and K.D. Peizer. 2000. Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin F2alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:2366-2372.
- Kastelic, J.P., D.R. Bergfelt and O.J. Ginther. 1991. Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*. 35:569.
- Luna, N.P. 2001. Manual de prácticas de Reproducción II. Depto. de M.V.Z. I.T.SON.
- Patterson, D.J., S.L. Wood, F.N. Kojima and M.F. Smith. 2000. Current and emerging systems to synchronize estrus. *Memorias del VIII Curso Internacional de Reproducción Bovina*. México, D.F.
- Pierson, R.A., G.A. Bo y G.P. Adams. 1993. Uso de la ultrasonografía para el estudio de los eventos reproductivos en el bovino. *Resúmenes del Simposio Internacional de Reproducción Bovina*. Córdoba, Argentina.
- Pierson, R.A., J.P. Kastelic and O.J. Ginther. 1994. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*. 29:21.

- Pursley, J.R., M.O. Mee and M.C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF- α and GnRH. *Theriogenology*. 44:915.
- Pursley, J.R., R.W. Silcox and M.C. Wiltbank. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139.
- Rhodes, F.M., L.A. Fitzpatrick, K.W. Entwistle and G. Delath. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anestrus. *J. Reprod. Fertil.* 104:41.
- Risco, C.A. 1998. Manejo reproductivo en Ganado lechero durante período de estrés calórico. Memorias de las IV Conferencias Internacionales sobre Nutrición y Manejo. Coahuila, Mex.
- Roberson, M.S., T.T. Stumpf, M.W. Wolfe, A.S. Cupp, F.N. Kojima, L.A. Werth, R.J. Kittok and J.E. Kinder. 1992. Circulating gonadotrophins during a period of restricted energy intake in relation to body condition in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 96:461.
- SAGAR, 1996. Fisiografía de la región de temporal del sur de Sonora y su aptitud agroclimática. Publicación especial no. 1. Navojoa, Sonora, México.
- Stagg, K., M.G. Diskin, J.M. Sreenan and J.F. Roche. 1995. Follicular development in long-term anestrus suckler beef cows fed two levels of energy post-partum. *Anim. Reprod. Sci.* 38:49.
- Stevenson, J.S., Y. Kobayashi and K.E. Thompson. 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *J. Dairy Sci.* 82:506-515.

Twagiramungu, H. L.A. Guilbault and J.J. Dufour. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 73:3141-3151.

Yelich, J.V., R.P. Wetteman, T.T. Marston and L.J. Spicer. 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factors, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Dom. Anim. Endocrinol.* 13:325.

