

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**“INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE GRASA EN EL ALIMENTO SOBRE EL
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO POSTPARTO EN GANADO BOVINO
DE LA RAZA HOLSTEIN-FRIESIAN”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Presenta:

***CARLOS ALBERTO
YOCUPICIO DUARTE***

Cd. Obregón, Sonora

Julio del 2002

**INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE GRASA EN EL ALIMENTO SOBRE EL
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO POSTPARTO EN GANADO BOVINO
DE LA RAZA HOLSTEIN-FRIESIAN**

**TEMA DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

CARLOS ALBERTO YOCUPICIO DUARTE

M.C. M.V.Z. PABLO LUNA NEVÁREZ
ASESOR

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

COMITÉ:

PRESIDENTE: _____

SECRETARIO: _____

VOCAL: _____

DEDICATORIAS

A MI MAMA

Dora Alicia Duarte Castro

Tu amor incondicional es lo mas importante en mi vida, ya que me has dado lo mejor de ti, por darme la inspiración de ser cada día mejor y luchar contra la adversidad.

Impulsaste en mi el espíritu de ir siempre adelante motivándome cada vez que tropezaba, mostrándome el camino a seguir para lograr lo mejor.

¡¡MUCHÍSIMAS GRACIAS, MADRE MÍA!!

A MI PAPA

Domingo Yocupicio Martínez

Gracias por escuchar mis anhelos, por armarse de paciencia y esperar mi realización como profesionista y hombre de bien.

Por creer cada vez más en la promesa de mis palabras, por enseñarme a poner cada cosa en su sitio, por darme la oportunidad de aprender de usted las experiencias que le proporcionó la vida en su largo peregrinar.

¡¡ETERNAMENTE AGRADECIDO PAPA!!

A MI HERMANA

Dalia Guadalupe Yocupicio Duarte

Recordando cada momento de su compañía en la que juntos compartimos horas de tristeza, alegría y riña, pero al fin, siempre juntos.

Acuérdate que la realidad de la vida va proporcionándonos distintos destinos y para los cuales debemos de estar preparados, sin olvidar, la base de nuestros principios que en cada uno de nosotros nuestros padres forjaron.

¡¡TE QUIERO HERMANA!!

A MI NOVIA

Hilda Lourdes González Terrazas

Por contar siempre con su incondicional apoyo, por creer en mí como parte de ella y tu como parte de mi ser, por los consejos y las mas sensatas recomendaciones para dar solución a mis problemas, por tu apoyo moral, lealtad y amor que me has brindado, el cual me motivó aún más a seguir preparándome y para ese gran futuro que nos espera, a partir de que nuestras vidas se encuentren unidas.

¡¡TE AMO TU CHULA!!

A MIS HERMANITOS

A **Lady**, por que fuiste mi mejor compañía, por que me diste tu cariño sin esperar recibir nada, estarás siempre en mi corazón.

Y a los dos nuevos polluelos que llenan nuevamente de alegría nuestra casa a **Princesa “Preciosa”** y **Júnior “Cabezón”** que con sus miradas silenciosas y actitudes inteligentes nos dan su amor.

¡¡LOS ADORO!!

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR

M.C. Pablo Luna Nevarez

Agradezco su valiosa ayuda para que este trabajo saliera adelante, por brindarme su sincera y desinteresada amistad, gracias por su entusiasmo y motivación que da a sus alumnos de que todos tenemos capacidad de lograr las metas que nos propongamos, mis más sincero agradecimiento.

A MIS REVISORES

M.V.Z. José María Aceves

Por su amistad brindada durante estos años, por sus comentarios para la realización de este trabajo, por el ejemplo de disciplina y responsabilidad en sus materias impartidas y por enseñarnos a que nada es imposible.

M.C. Javier Munguía Xochihua

Por su dedicación y aportación de conocimientos que fueron de gran ayuda para la realización de este trabajo.

M.C. Candelario Castillo

Por que sin su ayuda hubiera sido difícil culminar satisfactoriamente este trabajo que gracias a el y al apoyo con sus conocimientos se le dio gran calidad al mismo.

AL MEDICO

M.C. Javier Rolando Reyna Granados

Por la confianza que depositó en mi, por sus consejos y por brindarme su sincera y desinteresada amistad.

A MIS FAMILIARES, GRANDES AMIGOS Y COMPAÑEROS DE ESTUDIO

Que por el hecho de no aparecer textualmente, signifique que no estén en mis pensamientos para agradecerles sinceramente por la valida amistad que me ofrecieron.

A MIS MAESTROS

Por compartir sus valiosos conocimientos y lograr formarme como profesionista.

AL ITSON.

Por ser la casa de estudio que me dio la oportunidad de lograr mi preparación como Médico Veterinario Zootecnista y haberme forjado como un profesionista y formar una nueva etapa de mi vida.

Sea este humilde trabajo, como una muestra de todo mi cariño y respeto para ustedes.

GRACIAS...

CONTENIDO

RESUMEN-----	ix
LISTA DE CUADROS-----	x
INTRODUCCIÓN-----	1
REVISIÓN DE LITERATURA-----	4
1.1- Factores que afectan el comportamiento reproductivo-----	4
1.1.1- Nutrición-----	4
1.1.1.1.- Nutrientes que afectan la reproducción-----	6
1.1.1.2.- Suplementación protéica-----	6
1.1.1.3.- Suplementación de grasa-----	8
1.1.1.4.- Balance energético negativo-----	9
1.1.1.5.- Nutrición sobre el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal-----	10
1.1.1.6.- Interacción Nutrición-Reproducción-----	12
1.1.2.- Manejo (Estrés)-----	15
1.2.- Reestablecimiento de la actividad reproductiva postparto-----	17
1.2.1.- Actividad ovárica-----	17
1.2.2.- Involución uterina-----	18
1.2.3.- Cambios hormonales-----	19
1.3.- Ciclo estral (Endocrinología)-----	20
1.4.- Manejo reproductivo-----	23
1.4.1.- Sincronización de la Ovulación-----	23
1.4.2.- Inseminación artificial-----	25
1.4.3.- Técnica Recto-Cervical-----	25

1.4.4.- Ventajas y Desventajas de I.A.-----	27
1.4.5.- Diagnóstico de gestación-----	28
MATERIALES Y MÉTODOS-----	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	34
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES-----	42
LITERATURA CITADA-----	44

RESUMEN

Yocupicio Duarte Carlos Alberto; "Influencia de la adición de grasa en el alimento sobre el comportamiento reproductivo postparto en ganado bovino de la raza Holstein-Friesian". Asesor M.C. M.V.Z. Pablo Luna Nevárez. Este trabajo se realizó en dos establos lecheros, localizados en el Valle del Yaqui, en donde se trabajaron 51 hembras de la raza Holstein-Friesian de 4 a 7 años de edad, de 3 a 5 partos, con buena condición corporal y un mínimo de 6 meses de gestación, con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de grasa en la dieta sobre el comportamiento reproductivo postparto; se formaron dos grupos experimentales, el tratamiento 1 (T1) con 21 hembras y el tratamiento 2 (T2) con 30 hembras, seleccionadas al azar, donde el T1 recibió el manejo nutricional normal de la explotación, conformado por una dieta con 2.0% de grasa; mientras que las vacas del T2 recibieron una ración con 3.2% de grasa. A los 30 días posteriores al parto, se realizó un monitoreo ultrasonográfico de los ovarios, donde se evaluó la actividad ovárica; todas las vacas fueron sometidas al método de sincronización de la ovulación conocido como OvSynch, inseminando todas las hembras a tiempo fijo y realizando el diagnóstico de preñez por medio de ultrasonido a los 35 días posteriores a la inseminación artificial. Los resultados muestran que las vacas que recibieron 3.2% de grasa en el alimento obtuvieron un mayor porcentaje de gestación (83.33%), en comparación a las que se les administró 2% de grasa (57.14%), encontrándose diferencia estadística ($P < .05$), lo cual se atribuye al efecto favorable de los ácidos grasos sobre el reestablecimiento de la actividad ovárica y el mantenimiento de la preñez.

LISTA DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1 PORCENTAJE DE HEMBRAS CON ACTIVIDAD OVÁRICA A LOS 30 DÍAS POSTPARTO-----	35
2 PORCENTAJE DE HEMBRAS GESTANTES-----	38

INTRODUCCIÓN

La ganadería lechera es una de las principales ramas del sector agropecuario en el estado de Sonora, aproximadamente desde hace dos décadas se ha observado un alarmante cierre de establos por incosteabilidad, atribuyéndose como las causas más importantes, la diferencia entre el aumento de precios de los insumos requeridos de esta actividad, en relación con el costo de la leche y por problemas de manejo, que incluyen factores como la nutrición, reproducción, instalaciones, sanidad etc.

Es importante hacer mención, de que a pesar de la aguda problemática a la que se ha enfrentado y sigue enfrentando el sector lechero en las últimas décadas y de la incertidumbre presente que impide ver con claridad su futuro, es urgente la búsqueda de alternativas para esta actividad que resulten adecuadas, ya que con la firma del Tratado de Libre Comercio, nuestro país tendrá que enfrentar una serie de desafíos en el sector agropecuario en virtud de la competitividad de los países del norte. Por eso es necesario encontrar los medios para dar soluciones a problemas tanto de tipo reproductivo, nutricional y sanitario, para poder llegar a aumentar la productividad del ganado lechero.

Desde hace tiempo se reconoce que la reproducción firme y normal es la base esencial para el éxito de la industria animal, la reproducción es una actividad limitada por una larga serie de circunstancias distintas pero fisiológicamente interrelacionados, en los que participa el cuerpo completo y no solo los órganos sexuales ya que una falla de cualquiera de los sucesos que se efectúan en forma

normal puede producir una deficiencia temporal o permanente de la función en su conjunto.

La carencia de una nutrición adecuada, puede reducir la eficacia de la reproducción en el ganado bovino lechero, ya que los factores nutricionales que se requieren para una reproducción adecuada son los mismos que se necesitan para satisfacer las necesidades de crecimiento y lactancia, las cuales incluye energía, proteínas, vitaminas y minerales. Por lo tanto una deficiencia o un exceso de cualquiera de estos componentes puede ser suficientemente grave como para afectar la reproducción.

Esto es especialmente notorio durante el último tercio de la preñez, donde la alimentación de las vacas lecheras en el período seco es muy importante, ya que si se quiere lograr una mayor productividad, es aquí cuando se requiere añadir una suplementación para prevenir el agotamiento que el feto logra en las reservas de energía de la madre, ya que el agotamiento de estas mismas reservas puede impedir la gestación siguiente, a menos que la deficiencia sea grave, sin embargo, provoca estros débiles o silenciosos, períodos de anestro prolongados y mayor número de servicios por concepción.

En el ganado lechero, existe una etapa muy importante en donde sus requerimientos de energía son fundamentales para la reproducción, esta etapa es el período postparto, el manejo del ganado durante esta fase consiste en proporcionar los nutrientes necesarios para su mantenimiento y la del feto durante su gestación, los cuales aseguran una reproducción eficaz. Las principales dificultades que se presentan en la reproducción al no tener un nivel de energía

balanceado provocan períodos de anestro prolongado, calores silenciosos y el número de servicios por concepción aumenta.

Muy poco se ha investigado el efecto que tiene la deficiencia de energía sobre la reproducción de las vacas lecheras, por eso, el propósito de este trabajo es el de proporcionar información, sobre el efecto que tiene la adición de grasa en el período postparto del ganado bovino productor de leche, lo cual debe repercutir de manera significativa sobre los parámetros reproductivos tales como el intervalo entre partos, días parto concepción y aumento en la fertilidad. De esta manera se ayudará a reducir los problemas relacionados con la reproducción durante la etapa de postparto, y los productores de ganado lechero obtendrán mayores beneficios en cuanto a la rentabilidad de su explotación.

Evaluar el efecto que tiene la adición de grasa en la alimentación del ganado bovino lechero, sobre su comportamiento reproductivo, analizando la actividad ovárica postparto, el intervalo parto-primer estro y los porcentajes de estros y de gestaciones.

Se espera obtener un mejor comportamiento reproductivo postparto en el grupo de animales en los cuales se agregó una mayor proporción de grasa en la dieta, es decir, en dicho grupo experimental se espera encontrar una mejor actividad ovárica, así como mayores porcentajes de gestaciones, en comparación con el grupo suplementado con menor cantidad de grasa.

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1.- Factores que afectan el comportamiento reproductivo.

1.1.1.- Nutrición

El estado nutricional puede tener un impacto positivo o negativo sobre el sistema reproductivo y endócrino. Cuando la nutrición es deficiente, el sistema reproductivo es inhibido y la tasa de reproducción se disminuye. Cuando es adecuada, la nutrición no es un factor limitante con respecto al funcionamiento de estos sistemas, y es en estas circunstancias, cuando otros factores son los reguladores más importantes de la endocrinología respectiva (Kinder et al., 1998).

La nutrición es un factor importante para que los animales puedan producir crías regularmente, especialmente en ganado en pastoreo, la concepción y el parto suelen ser necesariamente estacionales y están relacionados con la disponibilidad de pasto. La deficiencia de nutrientes antes de que el animal llegue a la pubertad, da como resultados animales infértiles, % bajos de fertilidad, estros silenciosos o fracaso al establecer o mantener la gestación.

Aunque la eficiencia reproductiva puede ser influida por deficiencias específicas, desequilibrios nutricionales o ingestión de sustancias tóxicas, la relación de energía, tanto a largo como a corto plazo, es de gran importancia. Cuando el consumo de energía se reduce y el balance energético se hace negativo puede haber fallas en la reproducción debido a la influencia sobre el estro, las tasas de ovulación, fertilidad, supervivencia embrionaria, pérdida prenatales y el peso al nacer (Cole y Cupps, 1984).

En ocasiones el diagnóstico es difícil, debido a que los signos de la reproducción, asociados a los desequilibrios nutricionales, se parecen a los signos relacionados con otras enfermedades.

También se debe tener en cuenta que a la nutrición se le culpa falsamente de los problemas reproductivos causados por organismos infecciosos o deficiencia de manejo. Algunos de los factores necesarios para una reproducción adecuada, son los mismos que se necesitan para el mantenimiento, crecimiento y lactancia, incluyéndose también energía, proteínas, vitaminas y minerales (Bearden y Funquay, 1992).

Cuando se da una dieta abundante en nutrientes, el animal muestra vigor, esta respuesta se ve en especial en herbívoros cuando llega la estación de apareo en primavera. Al realizar un examen nos revelara la actividad folicular incrementada, sin importar el patrón de reproducción. Esta respuesta ovárica se hace incrementando la cantidad y la calidad del alimento varias semanas antes de la cruce, a lo cual se le llama dieta de impulso (McDonald, 1991).

El principal problema en el estudio de la influencia de la nutrición sobre la reproducción es el intervalo comprendido entre que se produce el cambio nutricional y la aparición de sus efectos. Por otro lado, la respuesta del animal puede verse complicada debido a la interacción de numerosos factores: nutrición previa y actual, la CC (condición corporal), así como los niveles de producción previos y actuales .

La nutrición postparto tiene un efecto profundo en la reproducción y el intervalo al parto. Incrementando los niveles de energía se aumentan los

porcentajes de preñez y de vacas ciclando al inicio de la estación del empadre (Arthur, 1991).

1.1.1.1.- Nutrientes que afectan la reproducción

La nutrición puede tener un enorme impacto en la fertilidad de las vacas lecheras. Las dietas deben ser, absolutamente, balanceadas para corregir los requerimientos de energía, proteína, vitaminas y minerales de la vaca para asegurar una adecuada reproducción.

Los estudios recientes indican que las causas nutricionales de baja fertilidad son más probables que ocurra debido primero al manejo de la energía, segundo a una deficiencia de la cantidad de proteínas en la dieta y tercero a una deficiencia en la dieta de elementos trazas y de vitaminas (Ferguson, 1996).

1.1.1.2.- Suplementación protéica

Sasser et al., (1998) fueron los primeros en demostrar los efectos de la restricción proteica cuando la energía es adecuada y señalaron que una prolongada restricción proteica en la dieta, resultó en una pobre digestión de nutrientes o una participación de los nutrientes corporales, y por lo tanto, en deficiencias energéticas secundarias.

La deficiencia protéica de la dieta no solamente redujo la presentación de estros, sino que también retardó el celo y redujo la tasa de preñez en aquellas vacas que presentaron calor. Esto pudo haber sido debido a una producción de óvulos anormales, un medio ambiente uterino menos favorable, respuesta insuficiente de los ovarios a la gonadotropina y/o a la secreción gonadotrópica reducida.

Datos obtenidos en vacas productoras de carne lactando y vaquillas que recibieron un inadecuado consumo proteico con varios niveles de energía durante la gestación, tuvieron tasa de preñez más bajas en comparación con aquellas vacas que recibieron cantidades adecuadas de proteína; lo mismo sucedió al restringirla durante el postparto. Por lo tanto, parece ser que las tasas de preñez en vacas lactando y vaquillas pueden ser afectadas por el consumo protéico, tanto antes como después del parto (Randel, 1990).

La fuente de proteínas en los alimentos aumentan la degradación ruminal, incrementando los niveles de nitrógeno amoniacal ruminal, el cual es utilizado por los microorganismos ruminales, para sintetizar proteína microbial de alta calidad, la cual es utilizada en el tracto digestivo posterior.

Otros autores sugieren que la anterior síntesis está limitada por la disponibilidad de energía, de nitrógeno y del movimiento ruminal. Al alimentar ganado de carne con una dieta baja en proteína cruda antes del parto se redujo el contenido de gonadotropinas en la hipófisis (Leers et al., 1994)

Trabajos con bovinos lecheros en E.U.A. concluyen que pueden presentarse fallos de la fertilización o degeneración precoz del embrión cuando las vacas se han alimentado con exceso de proteína degradable en el rumen. En el mismo país otros estudios demuestran que el exceso de proteína degradable actúa a través de mecanismos, no bien conocidos, disminuyendo el pH uterino durante la fase lútea del ciclo estral, lo que puede estar asociado con la reducción de fertilidad.

En Irlanda se ha registrado un marcado descenso del índice de concepción, después de la primavera, y sugieren que esto puede ser debido a un exceso de

proteína degradable en el rumen, que se sabe que es alta en la hierba de primavera y principio del verano. El exceso de proteína degradable en el rumen puede rebajar la fertilidad, en tales condiciones de pastoreo, y que la proteína no degradable puede tener el efecto opuesto; un suplemento proteico aumenta, significativamente, la supervivencia embrionaria (Gordon, 1999).

1.1.1.3.- Suplementación de grasa

La adición de grasas en la dieta del ganado bovino puede influenciar positivamente su comportamiento reproductivo, ya que mejorar el estatus energético postparto, incrementando los precursores para la síntesis de hormonas reproductivas tales como los esteroides y las prostaglandinas, lo cual favorece la función tanto del folículo ovárico como de cuerpo lúteo (Mattos et al., 2000).

La suplementación con grasa (cerca del 3% de materia seca) influencia positivamente el estatus reproductivo de la vaca lechera, incluyendo el incremento en el tamaño de los folículos ovulatorios, en el número de folículos ováricos y en las concentraciones plasmáticas de progesterona, así como una reducción en la secreción de metabolitos de la prostaglandina y un incremento en la vida del cuerpo lúteo y en la fertilidad del hato (Staples et al., 1998).

Los ácidos grasos son moléculas ricas en energía, los cuales son importantes en diversas funciones metabólicas; también son parte integral de las células como componentes de la membrana influenciando la función de ésta. En los pasados años, se ha obtenido evidencia de que los ácidos grasos pueden también actuar como moléculas señaladoras involucradas en la regulación de la expresión genética (Duples et al., 2000).

Los ácidos grasos poliinsaturados tales como el linolénico, eicosa-pentanóico y decosa-hexanóico, pueden inhibir la síntesis de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) a través de mecanismos tales como una reducción en la disponibilidad de su precursor que es el ácido araquidónico, o bien, la competencia de estos ácidos grasos con el ácido araquidónico, por unirse a la enzima prostaglandina H sintetasa.

Los ácidos linoléico y eicosa-pentanóico son inhibidores ya probados de la ciclooxigenasa en el tejido endometrial del ganado lechero; como resultado de ello, la secreción endometrial de PGF2 α puede ser suprimida, previniendo así la muerte embrionaria (Staples et al., 1998). La manipulación del perfil de ácidos grasos en la dieta del ganado lechero, puede ser usado potencialmente para amplificar la supresión de la síntesis uterina de PGF2 α durante la preñez temprana, lo cual puede contribuir a una reducción en la mortalidad embrionaria (Mattos et al., 2000).

1.1.1.4.- Balance energético negativo

La síntesis de leche en vacas requiere de una abundante provisión de glucosa, aminoácidos y lípidos. Los requerimientos nutritivos y energéticos de una vaca lactante son entregados por la dieta y por la movilización de las reservas. Las vacas de alta producción no pueden mantener un balance energético (BE) positivo (+) durante la lactancia temprana y por lo tanto deben movilizar sus reservas.

Al menos un 80% de las vacas lecheras tienen BE negativo (-) durante la lactancia temprana. Durante el BE-, los eventos homeorréticos entregan el soporte

metabólico de la lactancia. Durante el BE-, la función mamaria tiene prioridad metabólica sobre la función ovárica.

El BE- generalmente alcanza su máximo durante la primera o segunda semana de lactancia, y luego se recupera a una tasa variable. El máximo del BE- en días, se correlaciona directamente con la primera ovulación postparto. Se postula por tanto que a medida que el BE- pasa, y empieza a recuperarse el balance, el eje hipotálamo-hipófisis-ovario comienza a activarse.

El cambio relativo o la tasa de cambio sería monitoreado por el hipotálamo, llevando a su completa activación una vez alcanzado el equilibrio del balance energético. Esto puede ocurrir unos 14 días más tarde después de la presentación del balance energético negativo (Recabarren, 2002).

1.1.1.5.- Nutrición sobre el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal

La secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) está dada por la despolarización en forma sincronizada de las neuronas que sintetizan esta hormona, liberando a la GnRH en forma de pulsos (Clarke, 1987).

El centro del hipotálamo que regula esta descarga pulsátil ha sido llamado el “generador de pulsos”. Este es regulado por las concentraciones endógenas de esteroides que bañan dicha área del hipotálamo. Sin embargo, existe una regulación adicional de dicho centro por medio de factores ambientales, principalmente alimentación, las cuales modulan su actividad por medio de factores metabólicos y endócrinos, o a través de neuronas que inciden directa o indirectamente sobre el generador de pulsos (Kinder et al., 1988)

Un consumo inadecuado de alimento parece disminuir la frecuencia con la que el generador de pulsos induce la secreción de GnRH por la eminencia media hipotalámica hacia el sistema portal-hipofisiario de la vaca (Imakawa et al., 1987).

Así mismo, cuando el consumo de nutrientes es limitado, el generador de pulsos parece ser hipersensitivo a los efectos de retroalimentación negativa del estradiol, el cual es producido en bajas cantidades por los ovarios de la vaca en anestro (Imakawa et al., 1987).

Evidencias circunstanciales indican que el estado nutricional afecta la liberación hipotalámica de GnRH, se ha visto que animales en un nivel nutricional pobre, tiene niveles más bajos de LH que aquellos animales en un nivel nutricional alto, por lo tanto el sitio blanco del control nutricional sobre el comportamiento reproductivo en el ganado, podría estar en el hipotálamo (Randel, 1990).

De manera inversa, cuando existe un balance energético positivo, en respuesta se produce un incremento en la frecuencia pulsátil de GnRH, la cual a su vez resulta en un incremento de la frecuencia de secreción de LH, y resulta en un aumento de la concentración media de gonadotropinas en la circulación; como consecuencia, concentraciones mayores de éstas alcanzan el ovario causando un incremento en el desarrollo folicular. Los folículos ováricos producen a su vez más estradiol, el cual retroalimenta positivamente la hipófisis para causar un aumento en la capacidad de respuesta de esta glándula a la secreción de LH (Kinder et al., 1998).

El generador de pulsos dentro del hipotálamo parece ser el punto central donde la nutrición afecta al sistema reproductivo. Dicho efecto puede ser ocasionado por diversos metabolitos sanguíneos o por factores que regulan el

metabolismo general, los cuales son indicadores del nivel nutritivo. Algunos metabolitos que han involucrados como mensajeros de los cambios en el consumo de nutrientes son glucosa, ácidos grasos y ciertos aminoácidos específicos (Kinder et al., 1998).

1.1.1.6.- Interacción Nutrición-Reproducción en Ganado Lechero

El sistema de producción utilizado es de tipo intensivo, caracterizado por la manipulación simultánea de eficientes programas nutricionales, reproductivos y de manejo, etc., tendientes a aprovechar en su máxima expresión el elevado potencial genético que presentan las vacas para producción de leche.

Es trascendental la importancia que reviste el manejo reproductivo, considerando que para lograr que el establero soporte un nivel de producción continuo, requiere que sus vacas tengan de manera forzosa una parición anual, mecanismo indispensable para el desarrollo de la lactogénesis.

Tal situación ha provocado que se manipulen diversas técnicas reproductivas tales como: inducción y sincronización de estros, detección del mismo e inseminación artificial, así como el uso opcional de la monta natural, contribuyendo así a elevar la tasa de gestación aunada a una reducción en el intervalo postparto (Martínez, 1993).

Independientemente de la precisa aplicación de tales técnicas se han observado numerosas fallas en el desenvolvimiento óptimo de los eventos reproductivos, debido a que estos ocurren durante los primeros 90 días postparto, considerado como el período más crítico en la curva lactacional de la vaca, pues

implica la presentación de numerosos cambios metabólicos y endócrinos asociados negativamente con el desarrollo reproductivo (Villa-Godoy, 1990).

Se han señalado como los factores que influyen en forma más dramática en las fallas reproductivas a: condición corporal (CC) al parto, estrés al parto, estrés lactacional, reducción crítica del consumo voluntario, presentación de desórdenes digestivos y sus efectos sobre los mecanismos hormonales.

Los desórdenes digestivos tales como: acidosis, cetosis e hipocalcemias entre otros son predispuestos por los cambios bruscos en la alimentación de la vaca preparto y postparto, dado que las dietas ofrecidas durante el período seco están basadas en elevados niveles de forraje, mientras que al momento del parto se modifican radicalmente conteniendo una elevada proporción de concentrados.

El estrés es resultante del grado de dificultad del nacimiento de la cría, el cual predispone a la retención placentaria, presentación de metritis y piometras, mismos que retardan la involución uterina y provocan la presentación de quistes, anomalías asociadas directamente con un pobre desempeño reproductivo.

El estrés lactacional y el consumo voluntario se constituyen como los factores que afectan más severamente el plano reproductivo, tomándose como base que la lactogénesis al momento del parto implica un cambio brusco en la necesidad y utilización de nutrientes para promover la adecuada síntesis de leche, misma que se incrementa linealmente, alcanzando su máximo alrededor de los 50 a 60 días postparto, mientras que el comportamiento en el consumo voluntario difiere notablemente, éste se incrementa lentamente, llegando a su máximo alrededor de las 10 semanas postparto.

Lo anterior implica que la vaca haga uso de sus reservas corporales (depósitos de grasa y proteína), para amortiguar el déficit de nutrientes necesarios para la lactación, dado el bajo nivel de consumo de los mismos, evento que desencadena una modificación en las rutas de metabolismo energético sucediendo cambios como: incremento de la lipólisis y disminución de la lipogénesis, incremento en la gluconeogénesis, aumento de la glucogenólisis, disminución en el uso de la glucosa e incremento en el uso de lípidos como una fuente energética (Martínez, 1993).

Villa-Godoy et al., (1990) señalan que el efecto de lactación provoca que la glándula mamaria actúe prioritariamente en relación con otros tejidos, tal como el sistema reproductivo para la utilización de nutrientes, además de provocar una mayor demanda de los mismos.

Collier et al., (1984) corroboran lo anterior indicando que ocurre un incremento en el flujo sanguíneo a la glándula mamaria, un descenso en la utilización de nutrientes por tejidos periféricos y un aumento en la utilización de nutrientes por el tejido mamario.

Tal desequilibrio energético ha sido denominado “balance energético negativo”, considerado como una anormalidad común, dado su elevado nivel de incidencia (81%) en los hatos lecheros (Villa-Godoy et al., 1990). Esta condición se presenta de manera común durante la lactación temprana variando en duración e intensidad como resultado de una relación directa de producción de leche y balance energético (presentando una $r = -.80$), alcanzando su máximo nivel de la primera a la segunda semana postparto.

Las pérdidas de peso resultantes del balance energético negativo, se han relacionado negativamente con el comportamiento reproductivo, por medio de la asociación con el nivel de producción lácteo y no como un resultado directo de la nutrición (Martínez, 1993).

Conforme a esto, el balance energético negativo se considera como una fuente potencial de infertilidad en las vacas lecheras lactantes pues parece afectar el hipotálamo y la función ovárica (Villa-Godoy et al., 1990).

1.1.2.- Manejo (Estrés)

Aunque el mecanismo exacto por el que el estrés afecta a la reproducción no está totalmente clarificado, se puede comprobar que muchos animales, sometidos a condiciones de estrés, presentan disfunciones tales como no mostrar los signos primarios de celo o presentar mayores dificultades para quedar preñadas tras la inseminación. Hay dos tipos de situaciones "estresantes": el excesivo calor ambiental y el manejo inadecuado.

Las vacas de leche no toleran los excesos de calor y humedad ambientales, dicha tolerancia al calor está disminuida como consecuencia, básicamente, de la gran cantidad de calor metabólico que en estos animales se produce a causa de los fenómenos de producción láctea. Precisamente por ello los animales en periodo de secado son menos sensibles que los que se hallan en producción.

Los efectos del estrés por calor se reflejan en el animal, en lo que a la función reproductora se refiere, como alteraciones en la duración y expresión del celo, defectos en las primeras fases del desarrollo embrionario, deficiente incremento del peso del feto y, finalmente, pobre producción láctea.

El problema no es sólo de calor ambiental; la intensidad de los rayos solares puede tener, por sí sola, un efecto adverso sobre la fertilidad. Así, las vacas con capa negra absorberán más calor de los rayos del sol, con la consiguiente elevación de la temperatura corporal. El flujo sanguíneo será desviado desde los órganos internos hacia los tejidos periféricos en un intento de reducir la temperatura corporal mediante un aumento de las pérdidas de calor.

Este mecanismo acarrea una disminución en el riego sanguíneo destinado a los órganos internos, entre los que se hallan útero, oviductos y ovarios; la disminución en el riego de estos órganos lo es también de su disponibilidad de nutrientes y, por tanto de su capacidad funcional.

En cuanto a los efectos que el estrés por manejo pueda tener sobre la reproducción, es algo que no se conoce del todo, en parte porque el organismo de una vaca puede responder a las situaciones de estrés de muy distintas formas. A pesar de la amplia variabilidad de respuestas posibles, la más característica es el aumento en la secreción de glucocorticoides a partir de las glándulas adrenales.

Muchas situaciones y procesos patológicos tienen ese efecto; se ha demostrado un aumento en los niveles sanguíneos de estas hormonas en el transporte, la competición entre vacas por los espacios, el aislamiento del resto de los animales de la explotación, el sobre ordeño, la cirugía y las mastitis graves.

El efecto que el estrés pueda tener sobre una vaca gestante no está, como hemos indicado, bien estudiado todavía; en cambio, sí se conoce más acerca de su influencia sobre la capacidad reproductora de vacas abiertas o no inseminadas: parece ser que el estrés ejerce su mayor influencia en la fase inmediatamente anterior al inicio del estro, momento en el que, a causa del complejo equilibrio

hormonal existente, es más fácil que las hormonas secretadas durante el estrés provoquen un desajuste. Así, como consecuencia de una situación de estrés, tanto vacas como novillas pueden sufrir retrasos en la ovulación y/o no mostrar en absoluto signos primarios de celo (monta). (Mazzucchelli, 2002).

1.2.- Reestablecimiento de la actividad reproductiva postparto

1.2.1.- Actividad ovárica

Como resultado de los muchos estudios endocrinos, en los últimos veinticinco años se ha profundizado enormemente en el conocimiento de los cambios hormonales que ocurren en la vaca, para que retorne a una actividad cíclica normal, después del parto. Esto ha facilitado un conocimiento claro de los factores que afectan al intervalo desde el parto a la primera ovulación y el estro entre, y dentro, de los diferentes rebaños y según que las vacas sean ordeñadas o que amamanten a sus crías. Este crecimiento de cuerpo de doctrina ha sido de incalculable valor para desarrollar protocolos y rutinas de manejo de las hormonas, aplicables a las hembras que muestran retrasos en la reanudación de la actividad ovárica.

El retraso en la reanudación de los ciclos ováricos puede ser considerado como una estrategia para la supervivencia de la vaca, al evitar que se inicie otra gestación en periodos de estrés ambiental o fisiológico. Teniendo esto presente, existe cierta controversia entre los objetivos comerciales del ganadero de animales productores de leche o carne y los mecanismos que afectan a la restauración del modelo cíclico de reproducción, en la vaca.

Han sido varios los autores que han revisado la bibliografía de la década de 1970, sobre el modelo de crecimiento folicular, estro, ovulación y fertilidad después del parto, así como los cambios endocrinos relacionados con esos acontecimientos. En aquel tiempo, se pensó que en la mayoría de las vacas que lactan hay una supresión del crecimiento folicular, inmediatamente después del parto, y que estos cambios suceden, de una manera rápida, en las semanas siguientes a la parición.

El proceso de involución uterina, en la vaca lechera normal, debe estar completado a los 21-30 días después del parto y la primera ovulación debería ocurrir dentro de los 45 días. Se estima que la mayoría de las primeras ovulaciones, del ganado vacuno, pueden no estar acompañadas de estro. La involución uterina y la reanudación de la actividad ovárica, después del parto, son acontecimientos más rápidos en las multíparas que en las primíparas y la involución puede estar favorecida por la succión del ternero (Gordon, 1999).

1.2.2.- Involución uterina

La involución uterina es necesaria antes de que la vaca pueda concebir de nuevo. Normalmente, los úteros de las primíparas involucionan más rápidamente que en las multíparas y parece ser que el amamantar a los terneros acelera la involución, que suele durar en estos casos 30 días. No ha recibido mucha atención el estudio de las relaciones entre la ovulación uterina y la actividad ovárica, aunque se ha demostrado una correlación entre la duración de una elevada

concentración plasmática del metabolito de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, la 13-14-dihidro-15 ceto $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFM) y la duración de la involución uterina.

Por otra parte, se ha demostrado que los niveles de PGFM invariablemente retornan a la línea basal antes de que ocurra cualquier elevación del nivel de progesterona, lo que sugiere que la involución uterina está casi completada antes de que aparezca la primera ovulación post-parto (Peters, 1991).

1.2.3.- Cambios hormonales

La secuencia de eventos endocrinos, que ocurren en la vaca normal, después del parto, incluye los siguientes hechos: algo de GnRH se segrega inmediatamente después del parto, pero no en cantidad suficiente para producir la liberación de las gonadotropinas; las concentraciones plasmáticas de FSH se elevan rápidamente, después del parto, estimulando el desarrollo folicular; existe un aumento gradual de la frecuencia de los pulsos de LH y de las concentraciones de LH en plasma; la secreción de gonadotropina estimula el crecimiento folicular y la producción de estradiol y, quizá la de inhibina; y coincidiendo con esos cambios endocrinos hay una recuperación gradual del mecanismo de retrofuncionalidad negativa, de tal forma que los ciclos ováricos comienzan unas dos semanas después de la paridera.

Es posible que ocurran otros acontecimientos endocrinos que afecten a las adrenales, el útero y la glándula mamaria, todos ellos puede que jueguen su papel en la inactividad ovárica del postparto, por la secreción de hormonas.(Gordon, 1999)

1.3.- Ciclo estral (Endocrinología)

PROESTRO

La actividad ovárica durante el proestro se inicia con la regresión del CL correspondiente al ciclo anterior y el consiguiente descenso de los niveles séricos de la progesterona que el CL produce.

Por otro lado, comienza el crecimiento del folículo ovulatorio. Durante este periodo el folículo destinado a ovular crece espectacularmente, pasando desde unas dimensiones microscópicas hasta adquirir la estructura de burbuja que le caracteriza con unas dimensiones de 2 a 2,5 cm de diámetro.

Aunque durante el proestro pueden desarrollarse varios folículos, sólo uno (dos en el caso de gemelos) será seleccionado para ovular. Este folículo dominante se diferencia de los demás en que es estimulado por la hormona FSH para producir estrógenos.

Los estrógenos son producidos por las células que forman la pared del folículo en desarrollo. Las de las capas más externas se denominan células de la teca mientras que las de las capas más interiores se llaman células de la granulosa. Ambos tipos celulares cooperan durante el desarrollo del folículo en la producción de estrógenos: las células de la teca son estimuladas por la LH para producir andrógenos; estos serán convertidos en estrógenos por las células de la granulosa tras haber sido estas estimuladas por la FSH.

ESTRO

La producción continuada de estrógenos por parte del folículo en desarrollo induce a la liberación de LH y FSH por parte de la hipófisis; de este modo se alcanza el nivel de producción máxima de estrógenos a nivel del folículo.

Los altos niveles de estrógenos son los responsables de, además de los cambios de comportamiento que se observan durante el estro, el aumento de las contracciones a nivel del tracto reproductor, facilitando de este modo el transporte de los espermatozoides a través de él.

Los estrógenos también influyen en la cantidad y en la composición de los fluidos que se producen en oviductos, útero, cérvix y vagina. La descarga mucosa de aspecto claro y consistencia filante que se observa durante el estro está producida por el cérvix y, se supone, sirve de ayuda a la migración del esperma a través de esta estructura anatómica de la hembra.

Durante el estro las células de la granulosa liberan también inhibina, una hormona que evita la liberación de FSH por parte de la hipófisis.

Durante el estro se completa el crecimiento del folículo iniciado en el proestro. El óvulo ya está listo para ser liberado en la ovulación y la vaca entra en el comportamiento típico de celo de modo que puede ser montada. Como a continuación se podrá ir comprobando, para que la fecundación pueda darse es fundamental que exista una sincronización perfecta entre los cambios endocrinos que permiten que el animal sea receptivo y el momento de la ovulación.

METAESTRO

Así se denominan los 3 o 4 días que siguen al estro. El pico de producción de LH y FSH que se produjo durante el estro lleva a la ruptura del folículo alrededor de las 30 horas tras el inicio de los signos de celo (aproximadamente a las 10-14 horas de haber finalizado el periodo de estro). Es en esta fase del ciclo cuando se libera el óvulo.

Una vez producida la ovulación, las células de la teca y de la granulosa del folículo se hacen sensibles a la LH y, por su estímulo, formarán el cuerpo lúteo o cuerpo amarillo, que empezará a producir progesterona. Esta hormona es la responsable de preparar el útero para la gestación y de inhibir la actividad cíclica estral.

Entre uno y tres días tras el estro es posible encontrar sangre en las descargas procedentes de la vagina; esta sangre no procede del folículo ovulado, sino del útero donde se produjo cuando decrecieron los niveles de estrógenos.

Este hallazgo, origen muy frecuente de errores, indica que el estro ya pasó y que, con toda probabilidad, el próximo tendrá lugar en unos 18 a 20 días. Es, por tanto, un signo de utilidad para predecir el próximo celo.

DIESTRO

Durante esta fase la estructura dominante en el ovario es el CL, el cual se desarrolló a partir principalmente de las células de la granulosa que tapizan la pared del folículo que ha ovulado. La misma hormona, la LH, que produjo la ovulación del folículo es también la responsable de los cambios que se producen en la granulosa y que terminan con la formación del CL; este alcanzará su tamaño máximo a los 8-10 días tras la ovulación.

Los niveles de progesterona en sangre van aumentando de forma paralela al tamaño del CL; los niveles máximos se alcanzan a los 10 días y se mantienen hasta el día 16 ó 18 del ciclo, en el caso de que no exista gestación. (Mazzucchelli, 2002)

1.4. MANEJO REPRODUCTIVO POSTPARTO

1.4.1. Sincronización de la Ovulación.

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 luteólisis 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).

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 o 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).

1.4.2.- Inseminación artificial

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; en este último se desarrolló rápidamente alrededor de 1930. En México, hasta hace pocos años se empezó a implementar en pequeña escala utilizando principalmente semen importado de Estados Unidos.

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 de semen por congelamiento, el cual escapa a las limitaciones de tiempo y distancia, puesto que puede estar en cualquier lugar y en cualquier momento (Bearden y Funquay, 1992).

1.4.3.- Técnica Recto-Cervical

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, corta pajillas, termómetros, 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 el 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 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-pajilla, e inmediatamente es colocada dentro de la pistola de I.A. luego se coloca la funda y por ultimo la camisa sanitaria.

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 cervix, para determinar su forma y tamaño, tomando inicialmente el extremo posterior del cervix 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 cervix, logrando introducir entonces la pistola de I.A. dentro del cervix hasta topar con el primer anillo.

11.- Con la mano izquierda se manipula el cervix 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).

1.4.4.- Ventajas y Desventajas de I.A.

VENTAJAS

A) El uso intensivo de sementales sobresalientes por su alto valor genético y su habilidad demostrada para heredar caracteres genéticos de importancia.

B) La amplia disponibilidad de sementales, proporciona al productor la oportunidad de seleccionar entre un número considerable de éstos. 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.

Se reducen los riesgos de transmisión de enfermedades venéreas.

D) Es posible experimentar nuevas cruzas sin que sea necesario comprar sementales.

E) El aspecto económico, evita gastos relacionados con el mantenimiento de un semental: alimentación, manejo, instalaciones, etc. (Bearden y Funquay, 1992).

DESVENTAJAS

A) Existe la disponibilidad 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 Funquay, 1992).

1.4.5.-Diagnóstico de gestación

La ultrasonografía, o ecografía como se le conoce comúnmente, es una técnica de diagnóstico que se basa en la capacidad que poseen las distintas partes del organismo de reflejar las ondas de sonidos de alta frecuencia o

ultrasonidos. Esta propiedad se traduce en la formación de imágenes de los tejidos y órganos internos que pueden verse a través de la pantalla.

La aplicación de esta técnica en medicina veterinaria, en particular en el estudio del aparato reproductivo de los bovinos, permite confirmar o desestimar la valoración realizada por el veterinario mediante la palpación rectal de las vacas.

Se transforma en una herramienta imprescindible cuando los análisis hormonales no brindan una adecuada respuesta acerca del funcionamiento anormal de los ovarios. La revisión ecográfica del aparato reproductivo de los bovinos posibilita hacer diagnósticos tempranos de gestación, determinar enfermedades del útero y los ovarios y relevar diariamente los cambios que sufren los folículos durante el ciclo ovárico. En los últimos años se extendió su uso a la determinación temprana del sexo de los embriones y también en el seguimiento de la técnica de punción, a través de la vagina, de los folículos ováricos en programas de fertilización in vitro.

La ultrasonografía es una herramienta precisa en el diagnóstico de gestación de las vacas. Su mayor ventaja es la evaluación precoz y certera de la presencia del embrión en el claustro materno, principalmente a partir del día 25 de gestación. Esta propiedad ayuda a incrementar la eficiencia reproductiva de un establo y a programar las fechas de partos y la atención de las parturientas. Si bien la ecografía no sustituye al diagnóstico de preñez por palpación rectal sí es una ayuda para el profesional, particularmente en casos de animales de alto valor económico y en vacas que no logran preñarse luego de la primera inseminación.

En este último caso, permite que se identifiquen más rápido, en relación con la técnica de palpación rectal, a las vacas “repetidoras”, es decir, aquellas que

quedaron vacías luego de ser inseminadas. De esta manera disminuyen las pérdidas económicas que sufre el productor por cada día que mantiene una vaca sin preñar en su establecimiento.

En profesionales con experiencia cabe esperar un diagnóstico fiable en un 96 a 99 por ciento de los casos. De esta forma el productor puede mejorar la rentabilidad del campo, ya que facilita la organización y selección de los animales de reemplazo, la planificación de la venta de los excedentes y el seguimiento del desarrollo genético de sus vacas. Más allá de las ventajas enumeradas del uso de la ecografía en los bovinos hay que tener en cuenta además lo relativamente rápido que resulta para el profesional el proceso de aprendizaje y la adquisición de habilidades para la aplicación de esta técnica con fines diagnósticos y para la utilización de biotecnologías en la reproducción bovina (Bernal, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del sitio experimental:

La presente investigación se llevó a cabo en el establo lechero de la Posta-ITSON, el cual se encuentra ubicado en el block 204 del valle del Yaqui en el municipio de Cajeme Sonora. Sus coordenadas son 27° 20' 40" de latitud Norte, 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); así como en el establo "Cuatro Vientos", propiedad del Ing. Germán Encinas Terrazas, localizado en calle uno, campo N° 28 entre calle base y 200. Sus coordenadas son 27° 20' 40" de latitud Norte, 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 de 520.1 mm (SAGAR, 1996).

Metodología:

Se formaron dos grupos experimentales, uno con 21 hembras y el otro grupo con 30 hembras, seleccionadas al azar, donde el tratamiento 1 (T1) recibió el manejo nutricional normal de la explotación, el cual consistió en una ración con 2% de grasa, basada en la administración diaria de 15 kg de alfalfa verde, 8 kg de suplemento concentrado y minerales a libre acceso; mientras que las vacas del tratamiento 2 (T2) recibieron un total de 3.2% de grasa en la dieta, la cual estuvo integrada por el suministro diario de 15 kg de alfalfa verde, minerales a libre acceso y 8 kg de un suplemento concentrado. El experimento inició desde el

momento en que las vacas llegaron a su sexto mes de gestación y concluyó hasta los cuatro meses postparto.

A los 30 días posteriores al parto, se realizó un monitoreo ultrasonográfico de los ovarios, para evaluar la actividad ovárica en base a la presencia de folículos, cuerpos lúteos y/o posibles anormalidades.

Todas las vacas fueron sometidas al proceso de sincronización del ciclo estral, utilizando para ello la aplicación de 100 μ g de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) el día 0 y el día 9, más la administración de 25 mg de Prostaglandina F2-Alfa (PGF2 α) el día 7, aplicando ambas hormonas por vía intramuscular (IM).

Se realizó la inseminación artificial a tiempo fijo en los dos grupos, usando la técnica recto-cervical, en un rango de 16 a 20 horas posteriores a la segunda aplicación de GnRH.

Finalmente, el diagnóstico de preñez se realizó por medio de ultrasonografía a los 35 días posteriores a la inseminación artificial, utilizando para ello un equipo de ultrasonografía Sonovet 600, con transductor transrectal de 7.5 MHz.

Variables a analizar:

Presencia de actividad ovárica a los 30 días postparto y porcentaje de gestaciones. Las variables anteriores, serán analizadas con respecto a los dos grupos experimentales (T1 y T2).

Análisis estadístico de la información:

Para el análisis de las variables presencia de actividad ovárica y de gestaciones, se utilizará la Prueba de Ji-Cuadrada, para determinar si existe diferencia estadística significativa entre ambos tratamientos ($P < .05$).

El análisis estadístico se realizará utilizando los procedimientos PROC FREQ, en el paquete estadístico S.A.S. (Statistic Analysis System), Versión 6.03.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación, se observó que el 85% de las vacas del T1 tenían actividad ovárica a los 30 días postparto, en comparación con el 100% obtenido en el T2, encontrándose diferencia estadística ($P < .05$) entre ambos tratamientos para dicha variable. Los resultados obtenidos demostraron un incremento del 15% en la actividad ovárica para el T2, en comparación con las vacas del T1.

Los resultados encontrados en el cuadro 1 muestran como en las vacas del T2, las cuales recibieron 3.2% de grasa en el alimento, mostraron una mejor actividad ovárica, con respecto a las vacas del T1, que solamente recibieron 2.0% de grasa. Esto se atribuye que las vacas a las que se les adicionó 3.2% de grasa en el alimento, aún y cuando se encontraban durante la fase lactacional temprana, mostraron una mejor condición corporal, minimizando así los efectos del balance energético negativo. Ello trae por consecuencia que la vaca disponga de las reservas energéticas suficientes para cubrir la elevada demanda por la producción láctea, sin sacrificar su comportamiento reproductivo.

Lo anterior, favorece la presencia de señales positivas que permiten la activación del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal, desencadenando los procesos endócrinos requeridos para la liberación de las hormonas gonadotrópicas y el subsecuente efecto sobre la actividad ovárica, lo cual provoca el reestablecimiento de las ondas foliculares causadas por la FSH, indicando en el aparato reproductor el desarrollo, crecimiento y maduración de folículos.

Cuadro 1. Porcentaje de hembras con actividad ovárica a los 30 días Postparto.

Tratamiento	N	Porcentaje de Ciclicidad	
		n	%
1	21	17	85.7 ^a
2	30	30	100.0 ^b

a,b Literales diferentes indican que existe diferencia estadística ($P < .05$).

1 = Tratamiento 1 (2% de grasa)

2 = Tratamiento 2 (3.2% de grasa)

Por otra parte, en las hembras del grupo T1, se observó una reducción en la condición corporal promedio al finalizar el primer mes de lactancia, lo cual debe haber impedido que ellas contarán con reservas energéticas suficientes para asegurar que todas mostraran actividad ovárica, lo cual se atribuye al efecto de la menor proporción de grasa en el alimento, hecho que seguramente permitió el mantenimiento de la lactancia, más no así, el reestablecimiento de los mecanismos endócrinos requeridos para la activación ovárica temprana.

De Fries et al., (1998) utilizando dos dietas, una con 5.2% y otra con 3.7% de grasa después del parto, observaron que al evaluar el desarrollo folicular desde el día 15 hasta el 50 postparto, se encontró un incremento significativo en la cantidad de folículos medianos y grandes en las vacas alimentadas con 5.2% de grasa, concluyendo que este incremento en la actividad folicular ovárica, se debió a las altas concentraciones de ácidos grasos.

En otro estudio, Staples et al., (1998) indican que la suplementación con grasa por arriba del 3% en la dieta, influencia positivamente el estatus reproductivo de la vaca lechera, incluyendo un mayor tamaño de los folículos ovulatorios, así como un incremento en el número de folículos ováricos, debido a los ácidos grasos presentes después del suministro de la grasa en el alimento; asumiendo también que una mayor proporción de grasa en la dieta, puede reducir parcialmente el balance energético negativo durante el período postparto temprano.

Así mismo, Beam y Butler (1999) afirman que existe una estrecha relación entre el balance energético diario y la actividad reproductiva postparto, lo cual es confirmado por el largo intervalo a la primer ovulación en vacas con mayor pérdida

de condición corporal; atribuyendo lo anterior, a que en las vacas con bajas reservas energéticas, se presenta una alteración en la sensibilidad folicular al efecto gonadotrópico, a través de cambios en hormonas metabólicas.

En el cuadro 2 se muestran los porcentajes de vacas que quedaron gestantes, en donde se observa un 57.14% de preñez para las vacas del T1 y un 83.33% para las vacas del T2, encontrándose diferencia estadística significativa ($P < .05$) entre ambos tratamientos para dicha variable.

Como se puede apreciar, las vacas que recibieron 3.2% de grasa en el alimento obtuvieron un mayor porcentaje de gestación, en comparación a las que se les administro 2% de grasa.

Como ya se sabe, en el ganado bovino dentro de las prioridades para cubrir sus actividades fisiológicas, la reproducción ocupa el último lugar, lo cual indica que la vaca tiene que destinar sus reservas nutritivas para cubrir principalmente sus necesidades metabólicas básicas, después cubre sus requerimientos lactacionales, y por último, la actividad reproductiva; sin embargo si la vaca tiene una buena condición corporal, esto indica que cuenta con las reservas energéticas suficiente para cubrir las necesidades antes mencionadas incluyendo a la reproducción. Por otra parte, en la medida en la cual la vaca no dispone de un adecuado aporte energético en la dieta, tiende a hacer uso de sus reservas corporales para satisfacer las necesidades prioritarias, que es donde se observa el impacto negativo sobre la reproducción, ya que esta última no es considerada como una función prioritaria.

A este respecto, es importante también señalar que aún y cuando una vaca reinicie su actividad ovárica después del parto, es decir, que manifieste síntomas

Cuadro 2. Porcentaje de hembras gestantes con respecto a los diferentes tratamientos.

Tratamiento	N	Porcentaje de Gestación	
		n	%
1	21	13	57.1a
2	30	25	85.3b

a,b Literales diferentes indican que existe diferencia estadística ($P < .05$).

1 = Tratamiento 1 (2% de grasa)

2 = Tratamiento 2 (3.2% de grasa)

de estro, ello no asegura que la hembra mantenga la preñez, aún cuando se halla inseminado con éxito. Esto se atribuye al hecho de que en la vaca con preñez temprana, el embrión dentro del útero requiere de un medio ambiente propicio para desarrollarse de manera adecuada y poder así emitir las señales embrionarias que indican a la madre que él está presente, lo cual representa el reconocimiento materno de la preñez, evento que es necesario para asegurar el adecuado desarrollo embrionario y fetal.

En base a lo anterior y de acuerdo a los resultados encontrados en la presente investigación, la diferencia estadística encontrada entre ambos tratamientos, se atribuye a que las vacas con mayor cantidad de grasa en la dieta, además de exhibir una mejor condición corporal, contaban con las reservas energéticas adecuadas para mantener un equilibrio en el desempeño de todas sus funciones metabólicas, asegurando de esta manera al aporte energético para el cumplimiento de sus funciones básicas, lactacionales y reproductivas, favoreciendo de esta manera el mantenimiento de la gestación.

Por otra parte, en el grupo de vacas con menor aporte de grasa en la dieta, en donde se apreció una menor condición corporal promedio, no contaron con las reservas energéticas necesarias para asegurar el mantenimiento de la gestación, aún y cuando las hembras muy probablemente hallan quedado gestantes después de la inseminación artificial. Esto se atribuye al hecho de que al reducirse el aporte de nutrientes necesarios para mantener los procesos reproductivos, se altera el medio ambiente uterino, lo cual conduce a un retraso en el desarrollo del embrión, impidiendo que éste libere las señales embrionarias requeridas para asegurar su estancia dentro del tracto reproductor de la vaca. Además, los ácidos grasos

presentes en la dieta, tienen un efecto directo sobre la supresión de las enzimas requeridas para la síntesis de la prostaglandina F2 alfa, quien es la encargada de interrumpir la gestación temprana, debido a que al liberarse elimina el cuerpo lúteo y con ello, interrumpe la gestación.

Resultados similares obtuvieron Garcia-Bojalil et al., (1998), quienes reportaron porcentajes de preñez de 52.3% a 86.4%, demostrando que en las vacas a las que se les suministró más grasa en el alimento, se observó que el cuerpo lúteo tuvo un período de vida mas largo, y acumularon más progesterona en el plasma que las vacas que no se alimentaron con grasa, influyendo de manera positiva sobre las estructuras ováricas y su funcionamiento reproductivo.

Sklan et al., (1994) reportan que al agregar ácidos grasos a la dieta observaron un efecto favorable en el funcionamiento reproductivo de las vacas, la adición de ácidos grasos en la dieta dió lugar a que las vacas tuvieran un balance energético positivo, observándose altas concentraciones de lípidos y progesterona en la sangre la cual fue acompañada por una tasa alta de vacas gestantes y una disminución en los días abiertos.

De Fries et al., (1998) no encontraron diferencia significativa en los niveles séricos de progesterona en vacas que recibieron 5.2% o 3.7% de grasa en la dieta después del parto; sin embargo, observaron diferencia estadística ($P < .10$) en las tasa de preñez, ya que encontraron un 94.1% de gestación en el grupo de vacas con mayor cantidad de grasa en la dieta, en comparación con un 71.4% encontrado en el otro grupo; concluyendo que dichos resultados se debieron a las altas concentraciones de ácido linoléico y linoléico, lo cuales influyeron positivamente en la condición corporal, y por tanto, en las tasas de preñez.

Staples et al., (1998) aseguran que los ácidos linoléico y eicosa-pentanoico, presentes en las dietas con grasa, son inhibidores de la ciclooxigenasa, enzima liberada por el tejido endometrial de la vaca y encargada de la síntesis de prostaglandina F2 alfa, previniendo de esta manera la muerte embrionaria temprana. Asimismo, Mattos et al., (2000) afirman que los ácidos grasos poliinsaturados, tales como el linoléico, eicosa-pentanóico y decosa-hexanóico, pueden inhibir la síntesis de prostaglandina F2 alfa, a través de la reducción en la disponibilidad de su precursor que es el ácido araquidónico, o bloqueando directamente la síntesis de las enzimas encargadas de transformar dicho ácido en prostaglandina F2 alfa; por lo tanto, la manipulación del perfil de grasa en la dieta, puede ser potencialmente utilizado para amplificar la supresión uterina de la síntesis de prostaglandina F2 alfa durante la preñez temprana en la vaca, lo cual contribuye a una reducción en la mortalidad embrionaria.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La eficiencia en la actividad reproductiva si se ve afectada en gran parte por el balance energético, ya que se observó que las vacas a las que se les suministró mayor porcentaje de grasa se obtuvieron mejores resultados reproductivos.

Es importante recordar que los requerimientos nutricionales se incrementan después del parto debido a las demandas energéticas para la producción de leche, lo cual lleva a una acelerada movilización de nutrientes obtenidos a través de los alimentos proporcionados a la vaca, y si éstos no alcanzan a cubrir las demandas nutritivas para la producción de leche, va a ser necesario la degradación de las reservas corporales de grasa para la obtención de mayores cantidades de energía disponible. Por lo tanto, es de suma importancia la utilización de dietas altas en energía durante el inicio de la lactancia, con la finalidad de asegurar una adecuada condición corporal de la vaca que permita, por una parte, la disponibilidad de nutrientes requeridos para cubrir las funciones metabólicas básicas de la vaca, así como el proceso de la lactancias, además de las reservas energéticas necesarias para el reestablecimiento de la actividad reproductiva postparto, incluyéndose el reinicio de la actividad ovárica, así como la aparición de los ciclos estrales y el subsecuente mantenimiento de la gestación, una vez que la vaca ha sido preñada.

Por lo tanto, la adición de grasas en la alimentación de la vaca lechera después del parto, aporta ácidos grasos que actúan directamente sobre los tejidos reproductivos favorecidos su activación después del parto; por ello, el manejo del perfil de grasa en la dieta, representa una estrategia potencial para integrar el

manejo reproductivo y el nutricional, con el objetivo de mejorar la productividad animal.

Finalmente, es recomendable la realización de otros proyectos de investigación similares en los cuales se utilicen tratamientos con diferentes proporciones de grasa, así como de diferentes fuentes, para evaluar además la relación costo-beneficio que permita identificar que nivel de grasa es el que favorece más el incremento de los parámetros productivos y reproductivos, y a un mejor precio.

LITERATURA CITADA

Arthur, G.H; 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México, D.F.

Bearden, J. Y; Funquay, T; 1992. Applied animal reproduction. Mississippi State University. New Jersey.

Beam, SW; Butler, WR; 1999. Effects of energy balance on follicular Development and first ovulation in postpartum dairy cows. Dept of Animal Science, University of California, Davis95616, USA. J Reprod Fertil Suppl; 54:411-24

Bernal, Julio; 2002 Una aliada en el diagnóstico reproductivo de los bovinos. Med. Vet.-Facultad de Ciencias Veterinarias UBA. Divulgación Científica :divulcie@fvvet.uba.ar <http://www.healthig.com/veterinaria/veterinaria18.html>

Clarke, I.J; 1987. Proceedings of Simposium on Reproduction in Domestic Ruminants, Ithaca, New York.

Collier, J.R; J.P. McNamara, C.R. Wallace y M.H. Dehoff; 1984. A review of endocrine regulation of metabolism during lactation. J.Anim. Sci. 59:498

Cole, H.H; y P.T. Cupps; 1984. Reproducción de los animales domésticos. Ed. Acribia, S.A. España

De Fries, CA; Neuendorff, DA; Randel, RD; 1998 Fat supplementation

influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. Texas Agricultural Experiment Station, Overton 75684, USA. *J Anim Sci* Mar;76(3):864-70.

Duples, E; M. Glorian and C. Forest; 2000. Fatty acid regulation of gene

transcription. *J. Biol. Chem.* 257(40):749-763.

Ferguson, J.D; 1996 Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim Feed*

Sci Tech 5:173-84

Garcia-Bojalil, CM; Staples, CR; Risco, CA; Savio, JD; Thatcher, WW; 1998

Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: reproductive responses. Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. *J Dairy Sci* May;81(5):1385-95

Gordon, Ian; 1999 Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos.

Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Imakawa, K; M.L. Day; D.D. Zalesky; A. Clutter; R.J. Kittok and J.F. Kinder;

1987. Effects of 17-B estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers, *J. Anim. Sci.* 64:805

Kinder, J.E; M.S. Robinson y K. Imakawa; 1998. Influencia de la nutrición sobre la endocrinología reproductiva de la vaca productora de carne. Memoria del seminario Internacional “La Importancia de la Nutrición en la Reproducción de Bovinos”. Chapingo, México.

Leers S; P.K. Chakraborty; K.E. Rowe; H.A. Turner y F. Stormshak; 1994.

Gonadotropin-releasing hormone-induced secretion of luteinizing hormone in postpartum beef heifer maintained on two planes of nutrition before and after breeding. J. Anim. Sci. 72:998

Luna, N. P; 2001. Efecto de la condición corporal sobre el comportamiento reproductivo de ganado bovino lechero lactando sometido a inseminación artificial. Memorias XI Reunion internacional sobre reproducción de carne y leche en climas calidos. Mexicali, B.C. México

Martínez, D.R; 1993. Efecto del uso de grasas de sobre paso en el comportamiento productivo y reproductivo de vacas Holstein primiparas. Tesis de maestria, División de posgrado e investigación. Universidad Autonoma de Chihuahua, Chihuahua.

Mattos, R., C.R. Staples and W.W. Thatcher; 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminantes. Rev. Reprod. 5(1):38-45.

Mazzucchelli F. (*); **Mayenco A. (**)**; **Raga J. (***)**; Terapia hormonal en el manejo de la reproducción y en la resolución de problemas reproductivos en ganado vacuno. Servicios de Clínica Bovina (*) y Reproducción (**). Departamento de Patología Animal II. Facultad de Veterinaria de Madrid. Servicio Técnico, Laboratorios Intervet S.A. (***). 2002
<http://redvya.com/veterinarios/veterinarios/especialidades/bovino/especialista/Articulo17.htm>

McDonald, L.E; 1991. Reproducción y endocrinología veterinaria. Ed. Interamericana. 2da Edición. México D.F.

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.

Peters, A.R; 1991 Reproducción del Ganado vacuno. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España

Pursley, J.R; **R.W. Silcox** and **M.C. Wiltbank**; 1995. 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.

Randel , R.D; 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. J. Anim. Sci. 68:3208

Recabarren, S. E; 2002. Anestro Postparto: Posible intermediación de señales metabólicas sobre la secreción de gonadotropinas en vacas lecheras. Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción – Campus Chillán http://palomo.chillan.udec.cl/fisenlab/apuntes/anestro_postparto.html

SAGAR; 1996. Fisiografía de la región de temporal del sur de Sonora y su aptitud agroclimática. Publicación especial no. 1. Navojoa, Sonora, México.

Sasser, R.G; R.J. Williams; R.C. Boyd; C.A. Ruder y D.G. Falk; 1998 Postpartum reproductive performance in crude protein restricted beef cows: return to estrus and conception. J. Anim. Sci. 66:3033

Sklan D; Moallem U; Folman Y; 1994 Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. Faculty of Agriculture, Hebrew University, Rehovot, Israel. J Dairy Sci. Jun;77(6):1652-60.

Staples, C.R; J.M. Burke and W.W. Thatcher; 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cow. J. Dairy Sci. 81(3):856-871:

Swanson, L.V; 1989. Discussion – interactions of nutrition and reproduction. J. Dairy Sci. 72:805.

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.

Villa-Godoy, A; T.L Hughes, R.S. Emery, E.P. Stanisiewski y R.L. Fogwell; 1990. Influence of energy balance and body condition on estrus and estrous cycles in holstein heifers. J. Dairy Sci. 73:2759