



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
INSTITUTO DE POSTGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA

**“EVALUACIÓN DEL NIVEL DE LH PLASMÁTICO EN DIFERENTES
PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS
MESTIZAS”**

JUAN CARLOS MOYANO TAPIA

**Tesis presentada ante el Instituto de Postgrado y Educación Continua de la
ESPOCH, como requisito parcial para la obtención del Grado de Magíster en
Producción Animal.**

RIOBAMBA – ECUADOR

2013



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

CERTIFICACIÓN

EL TRIBUNAL DE TESIS CERTIFICA QUE:

El Trabajo de investigación titulado **“EVALUACIÓN DEL NIVEL DE LH PLASMÁTICO EN DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS”**, de responsabilidad del Ing. Juan Carlos Moyano Tapia, ha sido prolijamente revisado y se autoriza su presentación.

Tribunal de Tesis:

Ing. MCs. Guillermo Fernando Villa Samaniego
DIRECTOR

FIRMA

Ing. MCs. Edgar Washington Hernández Cevallos
MIEMBRO

FIRMA

Ing. MCs. Edmundo Geovanny Granizo Balarezo
MIEMBRO

FIRMA

Riobamba, Noviembre de 2013

INDICE

	Pág.
Lista de Cuadros	v
Lista de Gráficos	vi
Lista de Anexos	vii
CAPITULO I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
A. OBJETIVO GENERAL	3
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
C. HIPOTESIS	4
CAPITULO II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	5
A. EL CICLO ESTRAL EN LA VACA	5
1. <u>Proestro</u>	5
2. <u>Estro</u>	6
3. <u>Metaestro</u>	7
4. <u>Diestro</u>	8
B. REGULACIÓN NEURO-ENDOCRINA DE LOS PROCESOS REPRODUCTIVOS	9
1. <u>Eje hipotálamo-hipofisario, hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH)</u>	9
2. <u>Hipófisis y gonadotrofinas</u>	10
a. Prolactina	11
b. Gonadotrofinas hipofisarias	12
c. Oxitocina	13
d. Hormonas gonadales y otras hormonas vinculadas a la reproducción	15
(1) Esteroides gonadales	15
(2) Estrógenos	15
(3) Progesterona	16
(4) Inhibina	17
(5) Prostaglandina	18
C. CAUSAS Y TRATAMIENTOS DE LA INFERTILIDAD EN LA VACA LECHERA	19
1. <u>Causas de Infertilidad</u>	20
a. Balance energético	21
b. Alteraciones hormonales	22
c. Genética	23
d. Nutrición	24
e. Estrés calórico	25
f. Estrés oxidativo	27
g. Manejo de la inseminación artificial	28
2. <u>Tratamientos hormonales para mejorar la fertilidad</u>	29
a. Progesterona	29
b. GnRH o hCG al momento de la inseminación	29
c. GnRH o hCG en el día 5 o 6	30
d. GnRH o hCG en los días 12 a 14 posinseminación	30

e. Hormona del crecimiento bovina (bST)	31
D. LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL BOVINA	32
1. <u>Ventajas de la Inseminación Artificial</u>	32
2. <u>Desventajas de la Inseminación Artificial</u>	33
3. <u>Momento óptimo para la inseminación artificial</u>	33
E. PROCESO DE FECUNDACIÓN	34
F. PERIODO DE GESTACIÓN	34
G. DIAGNÓSTICO DE LA PREÑEZ	36
1. <u>Ultrasonografía</u>	36
2. <u>Palpación rectal</u>	37
CAPITULO III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	38
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	38
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	38
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	39
1. <u>Materiales</u>	39
2. <u>Equipos</u>	39
3. <u>Instalaciones</u>	40
D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL	40
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	41
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	41
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	42
1. <u>Descripción del experimento</u>	42
2. <u>Manejo sanitario</u>	43
a. Desparasitación	43
b. Ginecología y obstetricia	44
3. <u>Manejo de variables</u>	44
a. Presencia de celos	44
b. Perfil de LH	44
c. Tasa de Concepción	44
d. Calidad de Cuerpo Lúteo	45
e. Análisis económico	45
CAPITULO IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	46
A. EVALUACION REPRODUCTIVA DE VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.	46
1. <u>Perfil de LH plasmático</u>	46
2. <u>Presencia de celo en diferentes periodos de tiempo</u>	49
3. <u>Calidad de Cuerpo Lúteo</u>	52
a. Cuerpos lúteo 1	52
b. Cuerpos lúteo 2	54
c. Cuerpos lúteo 3	54
4. <u>Tasa de concepción</u>	56
	56

B. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS
MESTIZAS SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE
SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A
TIEMPO FIJO.

CAPITULO V. <u>CONCLUSIONES</u>	58
CAPITULO VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	59
CAPITULO VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	60
ANEXOS	66

LISTA DE CUADROS

No.	Pág.
1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS EN LA CIUDAD DE TENA.	38
2. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	40
3. EVALUACIÓN DEL PERFIL DE LH PLASMÁTICO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS, SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.	47
4. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS, SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.	50
5. ANALISIS ECONÓMICO DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS.	57

LISTA DE GRÁFICOS

No.	Pág.
1. Perfil de LH plasmático determinado en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.	48
2. Frecuencia de celo en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, durante diferentes periodos de evaluación.	51
3. Distribución de la calidad de cuerpo lúteo en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.	53
4. Tasa de concepción determinado en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.	55

LISTA DE ANEXOS

1. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de la presencia de celo post tratamiento hormonal, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.
2. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de la calidad de cuerpo lúteo, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.
3. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Concepción, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.
4. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-eCG* versus *Norgestomet-GnRH*.
5. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-eCG* versus *CIDR- eCG*.
6. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-GnRH* versus *CIDR- eCG*.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a todas las personas que han colaborado con el mismo, empezando especialmente por mi madre Magdalena del Consuelo porque creyó en mí y porque me sacó adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ella, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que siento por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por usted, por lo que vale, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mis hermanos Cristian, Mesías, Angelita, por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar.

A mis tíos, primos, abuelos y amigos gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles de mi vida.

JUAN CARLOS M.

AGRADECIMIENTO

En la presente investigación primeramente me gustaría agradecerle a ti DIOS por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado, haberme dado la luz de la vida y haberme enseñado a superar los retos que se presentaron en el camino del aprendizaje.

A la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO por darme la oportunidad de estudiar

A mi Director y asesores de tesis por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios de posgrado.

A mi MADRE quiero dar mi más sincero agradecimiento, reconocimiento y cariño por todo el esfuerzo que hizo para darme una profesión y hacer de mí una persona de bien, gracias por los sacrificios y la paciencia.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida.

Muchas gracias y que Dios los bendiga.

RESUMEN

EVALUACIÓN DEL NIVEL DE LH PLASMÁTICO EN DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS, en la Hacienda “SAN ANTONIO” ubicada en el km 10 vía a Misahualli, en el cantón Tena Provincia de Napo. Se evaluó el efecto de diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, en vacas Brown Swiss mestizas, para determinar los niveles de LH plasmáticos y otras características relacionadas con la tasa de concepción.

Utilizando el método científico experimental la distribución de los tratamientos fueron Completamente al Azar y no fue necesaria la utilización de Diseño Experimenta. Se analizaron vacas lecheras Brown Swiss mestizas y con la ayuda de registro reproductivo/productivo y registro sanitario, se determinaron diferentes variables durante 120 días de investigación.

Los resultados obtenidos demuestran que los mayores perfiles de LH plasmático y porcentaje de tasa de concepción fueron identificados en las vacas tratadas con Norgestomet – GnRH, con 31,42 ng/ml y 100% respectivamente.

Concluyéndose que es posible la utilización de Norgestomet – GnRH, para la sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, en vacas Brown Swiss mestizas, al determinarse los mejores parámetros reproductivos, así como también los mejores rendimientos económicos determinándose un valor de beneficio costo de 1.244 USD.

Por lo anterior se recomienda aplicar el tratamiento Norgestomet – GnRH, en los protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo en vacas, a fin de mejorar el perfil de LH antes de la ovulación. La calidad del cuerpo lúteo y tasa de concepción, fueron también mejorados. Se recomienda difundir los resultados obtenidos a nivel de ganadería lechera, con el objetivo de incrementar la fertilidad bovina, consecuentemente obtener mayores rendimientos económicos de los productores.

SUMMARY

EVALUATION OF PLASMA LH LEVEL IN DIFFERENT PROTOCOLS FOR TIMING ESTRO artificial insemination FIXED TIME BROWN SWISS crossbred dairy cows in the farmer "SAN ANTONIO" located at km 10 way to Misahualli, Canton Tena Napo Province. The effect of different estrus synchronization protocols for a Fixed Time Artificial Insemination was evaluated in crossbred Brown Swiss cows to determine plasma levels of LH and related cup design features.

Using the experimental scientific method the distribution of treatments were completely randomized and the usage of Experimental Design was not needed. It was analyzed crossbred Brown Swiss cows, and with the help of reproductive / productive registration and health record, different variables were determined during 120 research days.

The results had shown that higher plasma LH profiles and percent conception rate were identified in treated cows Norgestomet - GnRH , with 31.42 ng / ml and 100% respectively.

As conclusion, there is possible the use of Norgestomet - GnRH for estrus synchronization for Artificial Insemination at Fixed Time in crossbred Brown Swiss cows , because the best reproductive parameters were found , as well the best economic returns with a value of benefit - cost of \$ 1244.

Therefore it is recommended to apply the treatment Norgestomet - GnRH in estrus synchronization protocols for fixed-time artificial insemination in cows , in order to raise the profile of LH before ovulation. The corpus luteum quality and conception rate also were improved. It is recommended also to disseminate the results at the level of dairy farming, with the aim of increasing bovine fertility consequently to obtain higher economic returns for producers.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

En el país el ganado se ha desplazado a zonas marginales para la producción agrícola, lo cual pone a los animales ante una condición ambiental desfavorable para que expresen todo su potencial productivo y reproductivo. Esta situación, junto a otras, hace que los bovinos tengan un anestro posparto (falta de ciclicidad) prolongado, llevando a que se atrase año tras año la fecha de concepción y, consecuentemente, que una importante proporción de vacas queden vacías al final de la época de parto. Como resultado, disminuye la cantidad de terneros destetados y el peso de los mismos, incrementándose el porcentaje de vacas vacías.

Por otra parte en la región Amazónica, el uso de la inseminación artificial junto con la sincronización de celos, se considera una alternativa para potencializar la reproducción; en ganado bovino es aceptable ya que ha permitido el uso de toros genéticamente superiores para maximizar la calidad de los terneros/as producidos. Sin embargo, la implementación de esta técnica reproductiva dificulta su aplicación en hembras bovinas que están criando su ternero/as al pie, durante varios meses de lactancia, el problema o dificultad que se genera hace referencia marcada a la detección de celos, limitándose a menudo a una inseminación sistemática, seguida por servicio natural y una deficiencia corporal que se presenta en las vacas que retornan en celo.

Para lograr esto se debe controlar el ciclo estral mediante el uso de técnicas que sean capaces no sólo de sincronizar los celos sino también de inducir la ovulación en vacas en anestro. De esta forma se facilita la inseminación de vacas que se manejan en forma extensiva, se incrementa la proporción de vientres que conciben temprano en fincas con servicio estacionado, se limitan los períodos de estrecha observación y se reducen los movimientos en una finca. Varios estudios demuestran que los productos progestágenos tienen la capacidad de inducir ciclicidad estral, tanto en vacas en anestro como en vaquillonas cuya madurez sexual no se ha completado. El período de anestro posparto se encuentra afectado principalmente por el amamantamiento y la nutrición, siendo

factores de menor importancia, la involución uterina, época de parición, raza, edad de la madre y las características del parto. Se ha concluido que el comportamiento materno, es decir la relación que se establece entre la madre y su cría, es el factor más importante que determina la inhibición del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico a través del aumento en el tono opioide y, en consecuencia, con una menor secreción de GnRH, de LH y ausencia de ovulación.

La influencia de las temperaturas extremas perjudican a las hembras reproductoras y las necesidades nutritivas del animal dependen de la temperatura del medio. Las temperaturas ambientales elevadas (30 °C) reducen la tasa de ovulación y disminuye la duración del estro. No obstante el porcentaje de fertilidad a la inseminación artificial (I.A.) en la zona tropical húmeda es del 45 al 50% al primer servicio.

En el Ecuador y particularmente en la región oriental los ganaderos tienen la necesidad de satisfacer los requerimientos de productividad de los animales, ya que existe una deficiencia de estos parámetros productivos y reproductivos, generados por múltiples factores ambientales (temperaturas elevadas y humedad), fisiológicos y por falla en el manejo zootécnico, que contribuye a una deficiencia de detección de celos y una baja fertilidad en el hato bovino, haciendo que no haya rentabilidad en la explotación ganadera al no alcanzar un parto por año en unidades bovinas, por lo que se hace cada vez inevitable el uso de métodos alternativos para la estimulación y control fisiológico reproductivo en el ganado bovino.

Es por ello que la Inseminación Artificial es una de las biotecnologías reproductivas alternativa y muy aplicable, una de las más antiguas e importantes para el mejoramiento genético de los hatos bovinos, y con la utilización de los tratamientos hormonales para sincronizar las hembras bovinas y obtener adecuadas manifestaciones de celos y las ovulaciones a través del control de las ondas de desarrollo folicular del ovario, estas permiten inseminar colectivamente un numeroso grupo de vientres en un corto periodo de tiempo obteniéndose mejores índices de preñez e idénticos a los obtenidos con celo natural. Por lo

cual esta técnica constituye un avance de gran importancia en las empresas ganaderas para la aplicación de la inseminación artificial y una herramienta, que sin dudas abre nuevos horizontes para que la industria ganadera sea competitiva.

Con la presente investigación se ha pretendido determinar los niveles de LH, presentes en cada uno de los protocolos de sincronización de celo en vacas a fin de identificar el más eficiente, en términos reproductivos y que nos permita mejorar la fertilidad en los bovinos de la zona oriental, por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

A. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el perfil de LH plasmático en diferentes protocolos de Sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vacas lecheras Brown Swiss mestizas.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el perfil de LH en plasma sanguíneo y otras características relacionadas con la concepción, durante y post estro de vacas Brown Swiss mestizas sometidas a tres protocolos de sincronización para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF).
2. Determinar el mejor protocolo de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, en vacas Brown Swiss mestizas.
3. Realizar un análisis económico y determinar la rentabilidad de la aplicación de los protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en vacas a través del indicador Beneficio/Costo.

C. HIPOTESIS

Ha: El perfil de LH sanguíneo dependen del protocolo de sincronización del estro para IATF, aplicado en vacas lecheras Brown Swiss mestizas.

Ho: El perfil de LH sanguíneo es independiente del protocolo de sincronización del estro utilizado para IATF, aplicado en vacas lecheras Brown Swiss mestizas.

CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. EL CICLO ESTRAL EN LA VACA

Ungerfeld, R. (2002), dado que el ciclo estral resulta de la coordinación fundamentalmente de 4 órganos (cerebro, hipófisis, ovarios y útero). El ciclo estral es un conjunto de eventos que se repiten sucesivamente en el animal no preñado durante todo el año, de acuerdo a la especie de que se trate (especies poliéstricas no estacionales: vaca, cerda).

Mientras que en la vaca, la yegua, y la cerda dura alrededor de 21 días, con un rango de 17- 24 días. Pedroza, D. (1992), dice que es el tiempo que hay entre un calor y la presencia de otro. La duración de éste varía según la edad, el promedio es de 20 días para vaquillas y de 21 para vacas adultas.

Vargas J. (2003), manifiesta que el ciclo estral en los bovinos está presente cada 21 días (en promedio) con un rango de 18 y 24 días estas variaciones se basan de acuerdo a: su raza, nutrición, manejo, medio ambiente, etc.

El ciclo estral se divide en cuatro fases sucesivas y bien diferenciadas denominadas:

- | | |
|--------------|---------|
| 1. Proestro | 2 días |
| 2. Estro | 1 día |
| 3. Metaestro | 2 días |
| 4. Diestro | 16 días |

1. Proestro

Ungerfeld, R. (2002), indica que el proestro es el período comprendido entre el comienzo de la luteólisis hasta el inicio del celo. Es el periodo en el que se produce el desarrollo del folículo.

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. (Ungerfeld, R. 2002).

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. (Ungerfeld, R. 2002).

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. (Ungerfeld, R. 2002).

2. Estro

Ungerfeld, R. (2002), describe que el celo es un período de aceptación para el apareamiento (receptividad sexual) que normalmente se presenta en novillas pubescentes y vacas no preñadas. Este período de receptividad entre 2 y 30 horas con una duración media de 15 horas. Durante el estro se produce la maduración final del óvulo y del folículo que lo contiene. 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 espermatozoides a través de esta estructura anatómica de la hembra. (Ungerfeld, R. 2002).

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. (Ungerfeld, R. 2002).

Wattiaux, M. (1998), dice que el comienzo de la actividad de celo sigue diferentes patrones, con la mayoría de la actividad durante las últimas horas de la tarde, a lo largo de la noche, y en las primeras horas de la mañana. Las investigaciones muestran que más del 70% de la actividad de monta toma lugar entre las 7:00 de la noche y las 7:00 de la mañana. De manera de detectar más del 90% de las vacas en celo en el hato, las vacas deben ser observadas cuidadosamente en las primeras horas de la mañana, últimas horas de la tarde, y en intervalos de cuatro a cinco horas durante el día. (Ungerfeld, R. 2002).

3. Metaestro

Ungerfeld, R. (2002), dice que el metaestro, es el período comprendido desde el final del celo (rotura del folículo) hasta la formación del cuerpo lúteo. Durante los 3 días siguientes se desarrollará el CL a partir de las paredes del folículo roto. 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. (Ungerfeld, R. 2002).

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. (Ungerfeld, R. 2002).

4. Diestro

Wattiaux, M. (1998), manifiesta que el diestro, se prolonga alrededor de 12 a 15 días. Se corresponde con el periodo durante el cual el CL está produciendo progesterona.

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 la 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. (Wattiaux, M. 1998).

A partir de los días 16 a 18 del ciclo caben dos evoluciones en cuanto al mantenimiento de la función del CL:

Si la vaca no está gestante se producirá la regresión del CL mediante la liberación de prostaglandina $F_{2\text{-alfa}}$ por el útero. Esta sustancia, que es transportada

directamente al CL, interfiere con la síntesis de progesterona, descendiendo los niveles sanguíneos de esta hormona. Esta situación permite a la FSH estimular el desarrollo de un nuevo folículo en los siguientes 3 ó 4 días. Conforme madura el folículo van subiendo los niveles de estrógenos, repitiéndose el ciclo. (Wattiaux, M. 1998).

Por otro lado, si la vaca está gestante, el CL se mantiene, los niveles de progesterona permanecen altos, bloqueándose el reinicio de la actividad cíclica del ovario. La señal para que se mantenga el CL en la hembra gestante se piensa que procede del propio embrión en desarrollo. (Wattiaux, M. 1998).

Como acabamos de comentar, el mantenimiento de la gestación depende de la presencia del CL que está produciendo progesterona; por otro lado, la permanencia del CL depende de la existencia de un embrión en desarrollo. Cuando se produce la muerte del embrión durante este periodo crítico se prolongará la duración de la fase de diestro; esto explica los ciclos estrales de 25 a 35 días que se observan cuando se produce muerte embrionaria precoz. (Wattiaux, M. 1998).

B.REGULACIÓN NEURO-ENDOCRINA DE LOS PROCESOS REPRODUCTIVOS

1. Eje hipotálamo-hipofisario, hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH)

Ungerfeld, R. (2002), dice que el eje hipotálamo-hipofisario está constituido por neuronas neurosecretoras localizadas en el hipotálamo, la glándula hipófisis o pituitaria y las glándulas y órganos blanco que se encuentran bajo su control.

Debido a su estructura y función, este eje representa la conexión entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. La interrelación entre los sistemas nervioso y endocrino se realiza mediante mediadores hormonales y puede ser entendido fácilmente si nos referimos al eje hipotálamo-hipofisario-gonadal.

Hoy sabemos que este sistema es regulado por una hormona de naturaleza peptídica, denominada GnRH (Hormona Liberadora de Gonadotrofinas) que es sintetizada por neuronas hipotalámicas y liberada a los vasos porta hipofisarios por donde llega a la hipófisis para estimular la secreción a la circulación general de dos hormonas hipofisarias: LH (Hormona Luteinizante) y FSH (Hormona Folículo Estimulante). (Ungerfeld, R. 2002).

Estas dos hormonas, de naturaleza peptídica, son denominadas gonadotrofinas ya que su órgano blanco son las gonadas en las que estimulan la gametogénesis y la liberación de esteroides gonadales.

Estos esteroides a su vez regulan tanto la función hipotalámica como la hipofisaria cerrando el circuito de este eje. (Ungerfeld, R. 2002).

2. Hipófisis y gonadotrofinas

Ungerfeld, R. (2002), manifiesta que la hipófisis es la principal glándula endocrina, y se la considera como el comando del sistema hormonal de los organismos. Tiene 2 grandes regiones: el lóbulo anterior (adenohipófisis) y el posterior (neurohipófisis).

En los mamíferos el lóbulo anterior no contiene fibras nerviosas, no tiene contacto neural directo con el hipotálamo, comunicándose a través de un sistema vascular, el sistema porta hipotálamo-hipofisario. El lóbulo posterior está compuesto por tejido neural y se conecta con el hipotálamo por neuronas que comunican a través del pedúnculo hipotálamo-hipofisario. Entre los lóbulos anterior y posterior existe una pequeña división del lóbulo anterior, la parte intermedia. (Ungerfeld, R. 2002).

Las principales hormonas vinculadas directamente con la reproducción secretadas por:

La adenohipófisis

- PROLACTINA

- FSH
- LH

La neurohipófisis

- OXITOCINA

a. Prolactina

Ungerfeld, R. (2002), dice que la prolactina (PRL) es una hormona proteica, formada por una cadena polipeptídica simple de 198 aminoácidos en el humano, bovino y ovino. La PRL bovina es prácticamente idéntica a la ovina, con pequeñas diferencias en la estructura de aminoácidos. El peso molecular de la PRL es de aproximadamente 22.500.

Históricamente se consideraba que solamente existía una regulación inhibidora del hipotálamo sobre la secreción hipofisaria de PRL, pero en los últimos años se ha determinado la existencia de varios factores, tanto estimuladores como inhibidores. De todas formas, la mayor influencia del hipotálamo es inhibidora. (Ungerfeld, R. 2002).

La integridad del vínculo hipotálamo-hipofisario es necesario para que los niveles de PRL se mantengan normales; de verse afectada la misma se incrementan notoriamente las concentraciones sanguíneas de PRL. Se ha demostrado la existencia de varios factores inhibidores, aunque, como históricamente no se los había identificado, se los agrupaba bajo el nombre de factor inhibitorio de la PRL (PIF). Actualmente sabemos que el principal factor inhibitorio son las catecolaminas, principalmente la dopamina, aunque también el ácido γ -amino butírico, la somatostatina y el GAP ejercen un papel inhibitorio. (Ungerfeld, R. 2002).

La dopamina es el inhibidor más potente de la secreción de PRL. Las neuronas que contienen dopamina tienen sus cuerpos celulares en el núcleo arcuato, con pequeños axones que terminan en la eminencia media. Similarmente a las

neuronas secretoras de GnRH, las neuronas dopaminérgicas proyectan a la eminencia media, donde las terminales están en estrecho contacto con las vesículas portales. Luego de estimular a las neuronas dopaminérgicas es posible detectar importantes cantidades de dopamina en la sangre del sistema porta hipotálamo-hipofisario, mucho mayores que las que se encuentran en la circulación sistemática. Es transportada a la hipófisis donde actúa sobre las células lactotropas inhibiendo la secreción de PRL. La concentración de dopamina en el sistema porta hipotálamo-hipofisario es inversamente proporcional a la concentración de PRL observada en sangre periférica. (Ungerfeld, R. 2002).

Existen varios factores hipotalámicos que estimulan la secreción de PRL, estando claramente demostrado este efecto por la serotonina, la hormona liberadora de tirotropina o tiroliberina (TRH, un tripéptido, pGlu-His-Pro-NH₂) y el péptido vasoactivo intestinal. (Ungerfeld, R. 2002).

b. Gonadotrofinas hipofisarias

Ungerfeld, R. (2002), expone, que las gonadotrofinas, como su nombre lo indica, juegan un rol fundamental en la estimulación de las gonadas; son los principales mediadores del sistema nervioso central sobre las actividades endocrinas y gametogénicas de las gonadas.

Las células de la hipófisis anterior que secretan gonadotrofinas son conocidas como gonadotropos, siendo células identificables como basófilas. La LH y la FSH pueden estar presentes en la misma célula. La LH, la FSH y la TSH son glicoproteínas con un peso molecular de alrededor de 30.000; están formadas por dos subunidades proteicas diferentes llamadas α y β .

Ambas cadenas peptídicas están unidas por puentes de hidrógeno y Fuerzas de Van der Waals. Para una misma especie, la subunidad α es idéntica entre estas tres hormonas, estando codificada por un mismo gen. (Ungerfeld, R. 2002).

La subunidad β es específica de cada hormona en cada especie, y está codificada por diferentes genes. Por tanto, es la subunidad determinante de la actividad de la actividad biológica de la hormona (Pierce y Parsons, 1981).

La cadena de la subunidad α humana (h) de la hFSH, hLH y hTSH está formada por 89 aminoácidos y 2 cadenas de carbohidratos complejos. La subunidad β de la hFSH contiene 115 aminoácidos y 2 cadenas de carbohidratos, mientras que la de la hLH tiene igual cantidad de aminoácidos pero sólo una cadena de carbohidratos. De todas formas, de los 115 aminoácidos de las subunidades β de estas hormonas sólo 7 son idénticos. (Ungerfeld, R. 2002).

Las subunidades aisladas no tienen ninguna o tienen muy poca actividad biológica, aunque esto no tiene importancia biológica ya que no son liberadas sueltas al torrente circulatorio bajo condiciones normales. Existen diferencias en la estructura de los carbohidratos que generan diferentes isoformas de cada hormona. Se han descrito diferentes isoformas de la FSH, que predominan en diferentes momentos del ciclo estral, teniendo diferente potencia biológica cada una de ellas. (Ungerfeld, R. 2002).

Dado que la FSH y la LH son sintetizadas en las mismas células parece obvio que la diferencia en la regulación de su síntesis está dada en la secreción de la subunidad β de cada una de ellas. Mientras que los retrocontroles de las gónadas (esteroides: estradiol, progesterona; proteínas: inhibina, activina, folistatina) sobre la FSH actúan primariamente a nivel hipofisario, la mayoría de los retrocontroles sobre la LH se efectúan primariamente a nivel hipofisario, la mayoría de los retrocontroles sobre la LH se efectúan a nivel hipotalámico, modulando la liberación de GnRH. (Ungerfeld, R. 2002).

c. Oxitocina

Ungerfeld, R. (2002), dice que la neurohipófisis libera dos hormonas: la oxitocina y la hormona antidiurética (ADH o vasopresina). Las dos hormonas son sintetizadas en neuronas localizadas en los núcleos paraventricular y supraóptico del

hipotálamo. Las neuronas que sintetizan oxitocina y ADH no son las mismas, aunque están localizadas en los mismos núcleos. La importancia relativa de cada uno de los núcleos, dada por la cantidad de células secretoras de la hormona en cada uno de ellos, presenta importantes variaciones entre especies.

Ramírez, J. (2004), dice que una vez que la hormona es sintetizada, es transportada a la neurohipófisis a través del fluido axoplásmico de fibras amielínicas de pequeño diámetro. Las fibras que provienen del núcleo paraventricular rodean el fórnix, pasando por las cercanías del núcleo supraóptico, en donde se mezclan con las fibras provenientes de éste. Rodean el quiasma óptico, cruzan la lámina externa de la eminencia media, de donde se dirigen a la neurohipófisis. Los axones terminan en la neurohipófisis, junto a capilares fenestrados, en donde vuelcan su producto

Ungerfeld, R. (2002), manifiesta que también se ha detectado la presencia de oxitocina en otras áreas cerebrales actuando como neurotransmisor o neuromodulador, regulando otras funciones fisiológicas (vinculadas a las funciones autónomas).

También el ovario, específicamente el cuerpo lúteo de la oveja y de la mujer, y el testículo, son capaces de secretar oxitocina. Ambas hormonas fueron los primeros neuropéptidos cuya estructura fue secuenciada y sintetizada. Son nonapéptidos, con 7 aminoácidos idénticos entre ambas y un puente disulfuro uniendo las posiciones 1 y 6. La oxitocina es clivada a partir de un precursor de mayor peso molecular, y en los gránulos neurosecretores se asocia con una proteína transportadora específica (neurofisina). (Ungerfeld, R. 2002).

La liberación de estas hormonas ocurre como resultado de la estimulación de los cuerpos celulares nerviosos localizados en el hipotálamo. Los períodos de máxima liberación de oxitocina son el parto y la succión durante la lactancia o el ordeño. Una vez liberada, su efecto es producido rápidamente, ya que su vida media es de alrededor de un minuto y medio. (Ungerfeld, R. 2002).

Fernández, A. (1981), manifiesta que la oxtocina no requiere de hormona liberadora de esta sustancia y lo hace por respuesta a estímulos del becerro para la bajada de la leche, contracción del miometrio en el parto, en el acto del coito, etc. En la práctica, el incremento de adrenalina (asustar las vacas, aporrearlas, correrlas, echarles el perro) inhibe la producción de la oxtocina que actúa sobre los alvéolos y células en cesta, y no baja la leche.

d. Hormonas gonadales y otras hormonas vinculadas a la reproducción

Ungerfeld, R. (2002), indica que las principales hormonas producidas por los testículos y los ovarios-progestinas, andrógenos, estrógenos, inhibina - así como otras hormonas secretadas por otros órganos pero cuya acción principal se vincula con la reproducción: prostaglandinas de origen uterino, melatonina, relaxina y lactógenos placentarios.

(1) Esteroides gonadales

Ungerfeld, R. (2002), reporta que los esteroides son aquellas moléculas derivadas del colesterol. Este es un lípido derivado del acetato producido en muchos tejidos del organismo, que además de ser sustrato para la esteroidogénesis, tiene un importante rol estructural.

Las hormonas esteroideas más comunes son designadas por nombres simplificadas, e.g. estradiol, testosterona, etc.

(2) Estrógenos

Ungerfeld, R., (2002), indica que en animales no preñados los estrógenos son secretados por folículos antrales, mientras que en los preñados son secretados fundamentalmente por la unidad feto-placentaria. De acuerdo a una relación de volumen, los estrógenos son biológicamente más potentes que los otros esteroides. Las células tecales de los folículos en crecimiento sintetizan básicamente andrógenos y algo de estrógenos, estando dicha conversión regulada fundamentalmente por la LH.

Las células granulosas del folículo en crecimiento tienen las enzimas necesarias para aromatizar los andrógenos a estrógenos. La mayoría de los andrógenos sintetizados en la célula techal son convertidos a estrógenos por las células de la granulosa, lo que es regulado fundamentalmente por la FSH.

En el folículo preovulatorio las células de la granulosa adquieren receptores para la LH, y durante el pico peovulatorio de LH la granulosa es convertida en células sintetizadoras de progesterona. Las gonadas fetales de la yegua preñada y la placenta producen 2 estrógenos específicos de la preñez de los equinos: equilina y equilinina, ambos con anillos fenólicos. (Ungerfeld, R. 2002).

Muchas respuestas tisulares importantes son estimuladas por estrógenos:

- Promueve el crecimiento de las glándulas endometriales.
- Estimulan el crecimiento de los ductos de la glándula mamaria.
- Estimulan la actividad secretoria en el oviducto.
- Estimulan la receptividad sexual.
- Frenan el crecimiento de los huesos largos.
- Promueven el anabolismo proteico.
- Tienen actividad epitelio-trófica.
- Regulan la secreción gonadotrófica.
- Estimulan el inicio de la secreción de prostaglandina.

(3) Progesterona

Ungerfeld, R. (2002), indica que la progesterona -como su nombre lo indica, la hormona de la preñez- es la principal secreción del cuerpo lúteo. En especies como los primates, ovinos y equinos la progesterona también es secretada por la unidad feto-placentaria en cantidades suficientes como para no ser necesaria la presencia del cuerpo lúteo a partir de la mitad de la gestación. La progesterona induce muchas respuestas, entre las que están:

- Estimular la hipertrofia de las glándulas endometriales.

- Estimular el crecimiento alveolar de las glándulas mamarias.
- Estimular la actividad secretoria del oviducto y de las glándulas endometriales.
- Estimular el comportamiento estral fuera del período normal en algunas especies (oveja y perra) en combinación con estrógenos.
- Bloquear la motilidad uterina.
- Regular la secreción de gonadotrofinas.

Los efectos de la progesterona se producen comúnmente en sinergismo con los estrógenos.

Al igual que ocurría con la prostaglandinas, la progesterona natural tiene una vida media muy corta (entre 3 y 4 minutos), lo que implica la necesidad de utilizar altas dosis; la alternativa es usar análogos que, sin producir efectos secundarios, precisan dosis mucho menores. En el primer caso, el de la progesterona natural, tenemos el denominado PRID (dispositivo intravaginal de liberación de progesterona; dosis de 1.55 g); en cuanto a los análogos, estos suelen aplicarse bajo la forma de implantes subcutáneos (dosis de 3 mg). Estos productos actúan como un cuerpo lúteo exógeno, inhibiendo la secreción de gonadotropinas y, por tanto, el desarrollo folicular. Al cesar este bloqueo progesterónico se producirá la liberación de las gonadotropinas y el inicio de un ciclo fértil. (Ungerfeld, R. 2002).

(4) Inhibina

Ungerfeld, R. (2002), manifiesta que la inhibina es una hormona proteica de origen gonadal que juega un importante rol en la regulación de la secreción de FSH. La principal fuente de inhibina en la hembra es la granulosa de los folículos en crecimiento, y en el macho son las células de Sértoli, homólogas de las de la granulosa del folículo.

En ambos sexos la inhibina provoca un feed-back negativo sobre la síntesis y liberación de FSH. Esto es especialmente importante en la hembra durante la selección de los folículos dominantes, y en el macho durante la espermatogénesis

activa, disminuyendo la secreción cuando la producción espermática es continua. Los patrones de secreción de la inhibina son diferentes entre los sexos porque la producción gamética es diferente, cíclica en la hembra y continua en el macho. (Ungerfeld, R. 2002).

(5) Prostaglandina

Ungerfeld, R. (2002), indica que las prostaglandinas constituyen un grupo de ácidos grasos esenciales polinsaturados de 20 carbonos, con pesos moleculares de 300 a 400. Hay quienes no las consideran hormonas en un sentido estricto, utilizando los términos “parahormona” u “hormona local” para describirlas más adecuadamente. Esto es debido a que las prostaglandinas no son secretadas por ninguna glándula en particular y tienen una vida media muy corta que solo les permite tener acciones locales. Los precursores de la prostaglandinas son ácidos grasos polinsaturados; el ácido araquidónico (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico) es el precursor de las prostaglandinas que intervienen en los procesos reproductivos. El precursor del mismo es un componente de las membranas en la forma esterificada de los fosfolípidos.

Cuando comienza la síntesis de prostaglandinas el precursor es liberado por la acción de la fosfolipasa. Prácticamente todos los tipos celulares del organismo tienen la capacidad de convertir ácidos grasos en prostaglandinas como respuesta a muchos estímulos diferentes conocidos como activadores de fosfolipasas, e.g. endocrinos, nerviosos, mecánicos y químicos. Las prostaglandinas son clasificadas en cuatro grupos básicos, A, B, E Y F, que difieren en los sustituyentes del anillo de ciclopentano y en los dobles enlaces de la molécula. Son fuertes estimulantes del músculo liso. En general, las prostaglandinas E relajan y las F contraen el músculo liso. (Ungerfeld, R. 2002).

Muchas clases de prostaglandinas se encuentran en diferentes tejidos de mamíferos. Desde el punto de vista reproductivo las prostaglandinas de mayor importancia son la prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) y la prostaglandina $E2$ ($PGE2$). La $PGF2\alpha$ es liberada por el útero (en el endometrio desde donde pasa, vía hemática, al ovario, lugar donde ejerce su acción: la luteolisis), y juega un rol

importante en regular la vida del cuerpo lúteo en las especies domésticas. La regresión del cuerpo lúteo (luteólisis) es un evento clave responsable de la ciclicidad ovárica en muchas especies domésticas. A través de histerectomías en la vaca, oveja, cerda, y yegua se ha documentado la importancia de las mismas en la vida del cuerpo lúteo. La remoción del útero en estas especies durante la fase luteal resulta en la prolongación de la actividad luteal. El útero sintetiza $PGF2\alpha$ que induce la regresión del cuerpo lúteo. La liberación de $PGF2\alpha$ es producida en pulsos durante unas horas en ovejas, cerdas cabras, yeguas y vacas. Se propuso que la misma inhibe la secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo evitando la producción de AMP cíclico estimulada por la LH. También tienen un importante rol en el parto causando luteólisis (caída de la progesterona) en algunas especies e incrementa la contractilidad miométrial que indica la salida del feto. (Ungerfeld, R. 2002).

C. CAUSAS Y TRATAMIENTOS DE LA INFERTILIDAD EN LA VACA LECHERA

La falla en la concepción o infertilidad es el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros. En Estados Unidos se ha observado una clara reducción del porcentaje de concepción en los últimos 40 años; así en 1951, se lograba gestar 65% de las vacas servidas mientras que en 2000 se obtiene menos de 40% (Lucy, M. 2001). En México ha ocurrido algo similar, hace 30 años más de 50% de las vacas servidas quedaban gestantes y actualmente es menor de 40%. Ésta tendencia también se ha observado en Europa o Australia, países en los cuales el sistema de manejo no es tan intensivo como en América del Norte.

La disminución de la fertilidad ha coincidido con un incremento considerable en la producción de leche, lo cual podría indicar que la alta producción de leche tiene un efecto negativo en la fertilidad; sin embargo, esto no es muy preciso, ya que es frecuente encontrar hatos con niveles altos de producción y con parámetros reproductivos mejores que hatos con menor producción de leche. (Lucy, M. 2001).

En estudios, en los cuales se ha evaluado el efecto de diversos factores en la fertilidad, se encontró que la participación relativa de la producción de leche es

menor que otros factores (Ej. los problemas del puerperio). En México, en un análisis que incluyó la información 72 hatos (26676 vacas) con un rango de producción de leche de 7503-12225 Kg (365 días), se observó que la producción de leche no afectó el intervalo entre partos, servicios por concepción ni días abiertos; sin embargo, si puede ser un factor que influye en la fertilidad cuando se asocia con un manejo deficiente de la alimentación. (Lucy, M. 2001).

Otro factor que se ha asociado con la baja fertilidad es el aumento del número de vacas en los hatos (industrialización de la producción de leche). El tamaño del hato conlleva otros tipos de problemas asociados con el manejo (detección de estros), y además el confinamiento en grandes grupos puede afectar la fertilidad, ya que ésta se asocia con la incidencia de diferentes condiciones que afectan la reproducción (retención de placenta, infecciones uterinas, abortos). (Lucy, M. 2001).

1. Causas de Infertilidad

Se ha observado que cerca de 90% de los ovocitos son fertilizados después de la monta o inseminación; sin embargo, una alta proporción de estas gestaciones se pierden (Ayalon, N. 1978). La muerte de los embriones antes del reconocimiento materno de la gestación (días 16 a 19) se considera como muerte embrionaria temprana; la que ocurre entre el reconocimiento materno de la gestación y el momento en que se ha completado la organogénesis (alrededor del día 42), se denomina muerte embrionaria tardía, y la pérdida de la gestación posterior al día 42 se llama muerte fetal.

La muerte embrionaria temprana contribuye con la mayor proporción de pérdidas de gestaciones (40-60%), la muerte embrionaria tardía lo hace con 10-15% y la muerte fetal con 5 a 15%. Las causas de las pérdidas de gestaciones son de naturaleza diversa y están asociadas con la alta producción de leche, el intervalo del parto a la primera ovulación, la profundidad del balance energético negativo, problemas del puerperio, momento de la inseminación, técnica de inseminación, características de la dieta, estrés calórico, infecciones uterinas y por factores genéticos. (Ayalon, N. 1978).

a. Balance energético

Después del parto el consumo de materia seca (MS) se necesita incrementar para cubrir la demanda de nutrientes para la producción de leche. Sin embargo, la vaca es incapaz de consumir la MS necesaria para cubrir sus necesidades, por lo cual recurren a sus reservas de grasa y proteína. Las vacas lecheras después del parto caen en un balance energético negativo (BEN), lo cual significa que la suma de la energía necesaria para su propio mantenimiento y la que requieren para la producción de leche es mayor que la energía consumida, por lo que se ven obligadas a utilizar sus reservas corporales. Estas vacas llegan a su punto más bajo de BEN (nadir) entre los días 10 y 20 posparto, y siguen en BEN aproximadamente hasta el día 70 a 80 y en algunos casos (vacas de primer parto) hasta el día 100 posparto (Ullah, A. et al., 1996).

Todas las vacas caen en BEN durante el periodo posparto y tienen la capacidad de adaptarse a esos cambios. Sin embargo, algunos animales llegan a fallar en este proceso, lo cual puede ser secundario a un bajo consumo de nutrientes provocado por problemas de salud, periodos secos prolongados que provoquen obesidad o por complicaciones durante el parto. (Ullah, A. et al., 1996).

El BEN afecta algunos procesos reproductivos, de esta forma se ha asociado con un retraso en la primera ovulación posparto y con una disminución de las concentraciones séricas de progesterona en el segundo y tercer ciclo posparto, lo que potencialmente puede afectar la supervivencia embrionaria. Por otra parte, el BEN también afecta el desarrollo folicular y el potencial de los ovocitos para desarrollar embriones viables (Ullah, A. et al., 1996; Butler, W. 2000).

La primera ovulación posparto es uno de los parámetros que se ha correlacionado con la fertilidad. Se conoce que el periodo del parto a la primera ovulación ha aumentado en las vacas modernas. En 1964 era de 29 ± 3 días y actualmente es de 43 ± 5 días. En México, el intervalo entre parto a primera ovulación en ganado lechero en sistemas de producción en pequeña escala (hatos de 5 a 20 vacas) con producciones diarias de leche de 21.3 ± 0.39 Kg., es de 32.3 ± 2.3 días (Salas, 1988). En contraste, en un hato de 1150 vacas con una producción de

leche de 9683 Kg (365días) el intervalo del parto a la primera ovulación es de 45.8 ± 2.7 . Cabe señalar que en este último estudio, 21.2% de las vacas aun no habían ovulado cuando se dejó de muestrear en el día 70 posparto (Lara, V. et al., 2002).

El número de ciclos previos a la primera inseminación están correlacionados positivamente con la fertilidad (Thatcher, W. y Wilcox, C. 1973), lo cual contribuye, en parte, con la baja fertilidad del primer servicio. Por otra parte, se han observado cambios en las características de las fases lúteas de la primera ovulación en vacas altas productoras. En estudios realizados por Opsomer, G. et al. (1998) y Lamming, G. y Darwash, A. (1998) es evidente que la incidencia de fases lúteas anormales es mayor en las vacas modernas que en vacas de hace 20 años. En el estudio realizado en México por Lara, V. et al., (2002) se observó que 23% de las vacas presentaron fases lúteas largas durante el posparto, lo cual coincide con los informes citados.

El intervalo del parto a la primera ovulación es afectado principalmente por los cambios metabólicos que ocurren después del parto. Así, se ha observado que la pérdida de condición corporal de más de 1 punto (escala 1 a 5) durante las primeras cuatro semanas posparto alarga el periodo del parto a la primera ovulación. (Lara, V. et al. 2002).

b. Alteraciones hormonales

La función lútea se ha asociado con la baja fertilidad, algunos estudios muestran que las vacas subfértiles tienen afectada la función del cuerpo lúteo. Se ha observado en las vacas altas productoras, menores concentraciones séricas de progesterona, lo cual se asocia con la baja fertilidad (Mann, G. y Lamming, G. 1999). Estudios recientes (Sangsrivavog, S. et al., 2002) demuestran que las vacas en lactación tienen un flujo sanguíneo hepático mayor que las vacas no lactantes, lo cual se asocia directamente con mayor capacidad hepática para metabolizar las hormonas esteroides. Así, altas tasas de flujo hepático determinadas por alto consumo de nutrimentos (20 a 25 Kg de materia seca al día), puede causar bajos niveles de progesterona, lo cual afecta el establecimiento y mantenimiento de la gestación. Si bien existe evidencia de un metabolismo de la progesterona más rápido en vacas en lactación, la relación de

los niveles séricos de esta hormona con la fertilidad no es muy clara. En diversos estudios no se ha encontrado evidencia que la baja fertilidad este asociada con bajas concentraciones circulantes de progesterona. (Morales, R. et al., 2000).

Además, los resultados de tratamientos en los cuales se ha administrado progesterona o se ha tratado de estimular la función lútea con GnRh o hCG, son contradictorios (Hernández, C. y Morales, R. 2001). Por otra parte, también se ha observado que las vacas altas productoras tienen menores concentraciones séricas de estradiol, lo que se ha asociado con una disminución en la intensidad de la conducta estral. (López, H. et al. 2004).

c. Genética

Datos de Estados Unidos muestran que en este país se ha incrementado la consanguinidad en forma dramática desde 1980, lo cual también se ha asociado con una disminución de la fertilidad (Hansen, P. 2001). Si bien en México no se cuenta con información acerca de la consanguinidad del ganado lechero, se debe recordar que la genética del ganado lechero mexicano tiene su origen principalmente en Estados Unidos.

En el pasado, las características reproductivas habían sido consideradas como no heredables debido a que se asumía, en forma absoluta, que estas obedecían más a factores ambientales y menos a la expresión de los genes. En evaluaciones recientes se ha confirmado su baja heredabilidad, sin embargo, es evidente una amplia variación genética, lo que permite proponer que es posible su mejoramiento relativo a través de selección (Royal, M. et al., 2000).

Se conoce que algunos parámetros reproductivos no tradicionales como el intervalo del parto a la formación del primer cuerpo lúteo (periodo del parto a primera ovulación) tienen una heredabilidad de $h^2 = 0.13$ a 0.28 , considerada como moderada (Darwash, A. et al. 1997). La condición corporal tiene una heredabilidad también moderada ($h^2 = 0.2-0.3$) (Jones, H. et al., 1999) y esta variable está asociada con el balance energético posparto y con el periodo de parto a primera

ovulación. Se debe recordar que cuando las vacas caen en severos balances energéticos negativos pierden más condición corporal y tardan más en ovular (Butler, W. 2000), además, el inicio de la actividad ovárica posparto esta correlacionado positivamente con un incremento de la fertilidad y que por cada día de retraso a la primera ovulación se ha observado un aumento de 0.24 y 0.41 días abiertos (Darwash, A. et al., 1997). Bajo estas circunstancias, ya se están incluyendo parámetros reproductivos en los criterios de selección, ya que es probable que se hayan seleccionado vacas para producciones altas descuidando su fertilidad.

d. Nutrición

Independientemente del efecto de los cambios metabólicos provocados por el BEN, las dietas ofrecidas a las vacas altas productoras también pueden afectar su fertilidad. Este efecto se puede ver cuando se administran dietas con alto contenido de proteína con relación al consumo de energía. Las dietas con contenidos de proteína cruda de 17 a 19% llegan a ocasionar una disminución de la fertilidad; se ha demostrado que las vacas alimentadas de esta forma tienen altas concentraciones de urea y amoniaco en sangre y en los fluidos uterinos, lo cual afecta la viabilidad de los espermatozoides, óvulo y embrión (Butler, A. 1998).

En condiciones de campo es frecuente la medición de las concentraciones de urea en sangre o en leche, lo que permite evaluar las dietas. Las concentraciones sanguíneas de urea mayores de 20 mg/dl se asocian con baja fertilidad. En condiciones in vitro se ha observado que concentraciones equivalentes a las que tendrían las vacas consumiendo dietas altas en proteína, afectan el desarrollo embrionario, lo cual se refleja en una reducción de la proporción de embriones que llegan al estado de blastocisto. (Ocon, P. et al., 2003).

Proveer todos los nutrimentos a las vacas altas productoras obliga a ofrecer dietas altas en energía basadas en altas proporciones de granos. Es frecuente que se presenten alteraciones subclínicas en el pH ruminal, lo cual se ha asociado con la baja fertilidad. Un factor de riesgo en la pérdida de gestaciones

tempranas es la acidosis ruminal. Una hipótesis propuesta del mecanismo de este fenómeno consiste en que la dieta alta de granos ocasiona acidosis y una elevación de endotoxinas libres, las cuales provocan liberación de prostaglandina F_{2α} y regresión del cuerpo lúteo (Ortiz, O. 1997).

La semilla de algodón se utiliza extensivamente en las dietas de las vacas bajo sistemas intensivos de producción. Esta semilla, además de ser una excelente fuente de energía, proteína y fibra, contiene altas concentraciones de gossipol. Esta sustancia es altamente tóxica en especies monogástricas, sin embargo, el rumiante es relativamente resistente debido a que este pigmento es inactivado en el rumen. No obstante, en machos, las dietas con contenidos altos de gossipol ocasionan infertilidad. Las dietas comunes ofrecidas a las vacas lecheras (10% de la MS) provocan concentraciones de gossipol en plasma que caen dentro del margen de seguridad (<5 µg/ml de gossipol). Sin embargo, el uso de mayores cantidades de semilla de algodón y/o la utilización de variedades con mayor contenido de este pigmento (Pima) generan concentraciones plasmáticas de gossipol mayores (>5 µg/ml), las cuales si pueden afectar la fertilidad. Observaciones recientes de Santos, L. et al. (2003), en vacas lecheras con dietas que contenían semilla de algodón con mayor contenido de gossipol, mostraron una disminución significativa de la fertilidad. Además, estudios in vitro demuestran un efecto negativo del gossipol en el desarrollo embrionario (Hernández, C. et al., 2005).

e. Estrés calórico

El estrés provocado por las altas temperaturas (estrés calórico) afecta la eficiencia reproductiva del ganado bovino en general. Sin embargo, algunas razas son más susceptibles que otras, lo cual depende básicamente de los mecanismos que tiene cada raza para regular su temperatura corporal en condiciones de estrés calórico. Algunas razas de bovinos (*Bos indicus*) evolucionaron en climas cálidos, lo que les confirió tolerancia a las altas temperaturas, mientras que las que lo hicieron en climas fríos y templados (*Bos taurus*) son más sensibles al efecto negativo del estrés calórico. El ganado lechero es una raza altamente susceptible

a las altas temperaturas, prueba de ello está en la reducción en fertilidad cuando este ganado es encontrado en climas cálidos o durante la época del año con mayor temperatura. Así, el porcentaje de concepción llega a caer de 40%, obtenido en los meses templados o fríos del año, hasta 15% durante el verano (Aréchiga, F. 2000).

Los efectos del estrés calórico en la reproducción del ganado lechero se han incrementado en los últimos años, lo que ha coincidido con el incremento en la producción de leche (Wolfenson, D. et al., 2000). Se ha observado que el aumento en la producción de leche se refleja en un incremento de la generación de calor metabólico. Esta generación de calor se ha asociado con el incremento del peso vivo de las vacas lecheras.

De esta forma, vacas más grandes tienen un mayor aparato digestivo, lo que les permite consumir y digerir más alimento. Durante el metabolismo de los nutrimentos se genera calor, el cual contribuye con el mantenimiento de la temperatura corporal, condición favorable en climas fríos. Sin embargo, en climas cálidos el calor se debe eliminar para mantener la temperatura corporal dentro de los rangos normales. La capacidad de termorregulación de la vaca lechera es insuficiente, lo cual ocasiona un incremento de la temperatura corporal. En vacas en estrés calórico es común que la temperatura alcance valores entre 39.5 a 41 °C, lo cual afecta, en primer lugar, la función celular (Hansen, P. et al., 2001).

El aumento de la temperatura corporal tiene efectos negativos en la reproducción. En México hay regiones en donde es evidente el efecto negativo del estrés calórico en la fertilidad; así, en las cuencas lecheras de Aguascalientes, Torreón, Chihuahua y Mexicali, se observa una reducción del porcentaje de concepción en los meses cálidos (mayo a septiembre).

En otras regiones del centro del país como Querétaro, San Luis Potosí o Guanajuato, todavía no se observa una clara reducción de la fertilidad debida a al estrés calórico, sin embargo, dado que las vacas llevan una tendencia ascendente en la producción de leche y, en consecuencia, en la generación de calor, es

posible que en los próximos años comience a ser más evidente este fenómeno. Una reducción de la fertilidad se ha observado en regiones de EE. UU. y Canadá, en donde hasta hace pocos años no era evidente el efecto del estrés calórico y actualmente ya se nota durante el verano (Kadzere, C. et al., 2002).

En condiciones in vivo, el estrés calórico durante los días 1 al 7 después del estro afecta el desarrollo embrionario en vacas superovuladas. En condiciones in vitro, la exposición de los embriones a temperaturas equivalentes a la temperatura rectal de las vacas bajo estrés calórico (41 °C), disminuye la proporción de embriones que llegan a la etapa de blastocisto (Hansen, P. et al., 2001). La susceptibilidad de los embriones al estrés calórico disminuye conforme los embriones avanzan en su desarrollo (Edwards, J. y Hansen, P. 1997).

Así, los embriones de dos células son más susceptibles que los embriones en la etapa de mórula. Independientemente de la etapa del desarrollo en que los embriones son susceptibles al estrés térmico, el resultado final es un aumento de la muerte embrionaria. Por otro lado, el estrés calórico puede afectar el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación.

Las altas temperaturas comprometen la habilidad de los embriones para producir cantidades suficientes de interferón- τ (IFN- τ) u otros productos celulares, necesarios para el reconocimiento materno de la gestación (Putney, D. et al., 1988).

f. Estrés oxidativo

Las vacas lecheras altas productoras tienen un metabolismo intenso; bajo estas condiciones, aproximadamente 1-2% del oxígeno metabolizado se convierte en especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno, como los radicales libres superóxido, radicales peróxido e hidroxilo y los oxidantes no radicales, tienen efectos dañinos al causar lipoperoxidación y en consecuencia daño al DNA y destrucción de las proteínas (Nockels, C. 1996). Las especies reactivas de oxígeno son removidas por sistemas bioquímicos presentes en las células y en los fluidos extracelulares, estos mecanismos se conocen como

sistemas antioxidantes. Estos sistemas incluyen moléculas como el β -caroteno y la vitamina E, las cuales actúan a nivel de la membrana celular hidrolizando peróxidos para mantener la integridad de los fosfolípidos. En este mecanismo también participan enzimas como la glutatión peroxidasa, la cual es dependiente del selenio (Arechiga, F. et al., 2000). Un incremento en la generación de radicales libres puede superar a los mecanismos antioxidantes y comprometer la función celular; este problema es más drástico cuando existe una deficiencia en el consumo de sustancias antioxidantes. La producción excesiva de radicales libres puede afectar la fertilidad debido a que los tejidos esteroideogénicos del ovario, los espermatozoides y los embriones en etapas tempranas de desarrollo, son muy sensibles al daño causado por ellos. La suplementación con antioxidantes es una forma de enfrentar el problema de la baja fertilidad y en varios estudios, en los cuales se han administrado β -caroteno o vitamina E y selenio, se ha mejorado la fertilidad (Aréchiga, F. et al., 2000).

g. Manejo de la inseminación artificial

La baja eficiencia de la detección de estros limita la fertilidad global del hato. Este problema lo padecen todos los hatos de ganado lechero en todo el mundo. En México se detecta, en el mejor de los casos, el 60% de las vacas en estro y casos extremos en los cuales escasamente observan el 30% (Hernández, C. et al., 1994). Desde hace más de 50 años se ha aplicado el esquema de inseminación AM-PM y PM-AM, lo que significa que las vacas que presentan el estro en la mañana son inseminadas en la tarde y las de la tarde se inseminan en la mañana siguiente (Trimberger, G. 1948). Este esquema proporciona buenos resultados en fertilidad, siempre y cuando se cuente con una eficiente y precisa detección de estros. En condiciones deficientes en la observación de estros, no se sabe si la vaca observada en estro se encuentra en las primeras o en las últimas horas del periodo de aceptación. Si se programa la inseminación 12 h después, es probable que se realice demasiado tarde, cuando ya haya ocurrido la ovulación (Zarco, Q. y Hernández, C. 1996). Esta situación aumenta la probabilidad de encontrar óvulos viejos, ya que la viabilidad de estos es de 10 h. Así, el óvulo se fertiliza pero da origen a un embrión que muere en los siguientes días (Hunter, R. 1985).

Este error es el más frecuente en los hatos y contribuye con la baja fertilidad. Mejorar la fertilidad del hato, a través de un incremento del porcentaje de concepción, es una tarea muy difícil. Una posibilidad de mejorar la fertilidad es mediante el aumento de la tasa de preñez. Es decir, con el mismo porcentaje de concepción se puede aumentar el número de vacas gestantes por ciclo, sólo aumentando el número de vacas inseminadas. El único recurso para aumentar el número de vacas inseminadas es el incremento de la eficiencia en la detección de estros. Algunos de los factores que afectan la eficiencia en la detección de estros son el poco tiempo dedicado a esta actividad, la pobre capacitación del personal, la falta de motivación y las instalaciones con pisos de cemento mal diseñado. (Hunter, R. 1985).

2. Tratamientos hormonales para mejorar la fertilidad

a. Progesterona

Existe evidencia de que las vacas infértiles tienen una función lútea anormal, lo cual se refleja en concentraciones subnormales de progesterona. El tratamiento lógico consiste en la administración de progesterona; sin embargo, los estudios en los cuales se ha suplementado directamente con progesterona o en aquellos en los que se ha promovido el mejoramiento de la función lútea con GnRH o hCG, tienen resultados variables (Hernández, C. y Morales, R. 2001).

b. GnRH o hCG al momento de la inseminación

Son muy populares los tratamientos con GnRH o hCG al momento de la inseminación. Esta forma de enfrentar la falla en la concepción se fundamenta en el concepto de que estas hormonas sincronizan la ovulación con el momento de la inseminación, previenen problemas de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo.

Son muchos los estudios, y también la variabilidad de los resultados; el análisis de los resultados de 40 estudios publicados en 27 artículos, indica que el tratamiento

aumentó la probabilidad de gestación en los animales tratados, en particular en los animales repetidores, Sin embargo, en experiencias de nuestro grupo de investigación, no se ha observado un mejoramiento en la fertilidad (Hernández, C. y Morales, R. 2001).

c. GnRH o hCG en el día 5 o 6

Se han realizado evaluaciones de tratamientos que consisten en provocar la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y, con ello, el desarrollo de un cuerpo lúteo accesorio. El tratamiento con GnRH o hCG en los días 5 y 7, ha demostrado efectividad para desarrollar un cuerpo lúteo e incrementar los niveles de progesterona; sin embargo, los resultados de fertilidad no han sido consistentes.

En algunos de los estudios en los que se ha administrado hCG el día 5 posinseminación, se ha incrementado significativamente el porcentaje de concepción en vacas repetidoras y en aquellas con baja condición corporal; sin embargo en otros estudios el efecto ha sido nulo (Hernández, C. y Morales, R. 2001).

d. GnRH o hCG en los días 12 a 14 posinseminación

Para que ocurra la gestación, se debe establecer un diálogo estrecho entre el embrión en desarrollo y el ambiente materno. De esta forma, el embrión debe promover los mecanismos que evitan la regresión del cuerpo lúteo los días 16 a 18 posinseminación, lo cual consigue mediante la secreción de interferón tau, el cual bloquea la síntesis de la PGF2 α . Se ha propuesto que uno de los factores que contribuye con la falla en la concepción es la incapacidad del embrión para evitar la regresión del cuerpo lúteo. De esta forma, la inhibición de la cascada de la secreción de la PGF2 α , podría mejorar los porcentajes de concepción, ya que al embrión se le daría más tiempo para alcanzar el estado óptimo de desarrollo, que le permita establecer eficientemente el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación. Éste es el principio de los tratamientos con GnRH o hCG durante los días 12-14 posinseminación, los cuales buscan disminuir los niveles

de estradiol circulante mediante la ovulación, luteinización o atresia de los folículos. En la práctica, se han evaluado tratamientos con GnRH o hCG los días 12-14; sin embargo, los resultados en fertilidad también son muy variables (Hernández, C. y Morales, R. 2001).

e. Hormona del crecimiento bovina (bST)

En el ganado lechero es común el uso de la bST para incrementar la producción de leche. La utilización de esta hormona en forma periódica, aumenta la producción láctea de 10 a 20%. Algunos de los efectos de la bST en la producción de leche obedecen a la acción de esta hormona; sin embargo, el mayor efecto es provocado por el factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I), el cual se incrementa en respuesta al tratamiento con bST (Bauman, D. 1992).

La bST y el IGF-I también desempeñan funciones importantes en el control de la reproducción. Las dos hormonas, participan en la regulación del desarrollo folicular, en la función del cuerpo lúteo y, especialmente, en el desarrollo embrionario temprano. Estudios in vitro e in vivo, muestran efectos favorables del IGF-I en el desarrollo embrionario. El IGF-I evita el efecto negativo de algunas sustancias tóxicas para los embriones, presentes en el medio uterino. Nuestro grupo de investigación propuso, por primera vez, el uso de la bST para mejorar la fertilidad en vacas repetidoras.

Los primeros resultados de estos estudios demostraron que un tratamiento con 500 mg de bST el día de la inseminación y una segunda dosis 10 días después, incrementa el porcentaje de concepción en las vacas repetidoras. En un estudio posterior, en el cual se administró una sola inyección de bST al momento de la inseminación, también se observó un aumento de la fertilidad. En un trabajo paralelo, la misma inyección de bST el día de la inseminación, redujo la proporción de embriones con anomalías del desarrollo.

Estos experimentos permiten proponer que la administración de bST el día del servicio aumenta el porcentaje de concepción mediante el mejoramiento del desarrollo embrionario temprano. Cabe señalar, que los experimentos referidos se hicieron con vacas que no estaban en programas de bST y sólo recibieron la inyección de la hormona en los días indicados. Estos resultados, permiten recomendar el uso de una inyección de 500 mg de bST al momento del servicio, para mejorar la fertilidad en las vacas repetidoras (Hernández, C. y Morales, R. 2001).

D. LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL BOVINA

Ungerfeld, R., (2002), indica que la inseminación artificial es la biotecnología de la reproducción que mayor masificación ha alcanzado en bovinos de producción lechera. Vargas, J., (2003), manifiesta que la inseminación artificial, consiste en depositar el semen mecánicamente en el tracto reproductor de la hembra, sin necesidad de la cópula.

1. Ventajas de la Inseminación Artificial

Galina, C. y Saltiel, A., (1995), manifiesta las siguientes:

- Evita la transmisión de enfermedades venéreas.
- Facilita el transporte y la distribución del semen.
- Permite realizar un mejoramiento genético acelerado, mediante el uso de sementales probados.
- Evita la presencia del macho en el hato, gasto de su mantenimiento y elimina el peligro que representa.
- Facilita la implementación de programas de sincronización y cruzamientos.
- Posibilita la adquisición de animales valiosos por parte de ganaderos de escasos recursos.

- Se puede hacer pruebas de progenie de un semental más rápido que con monta natural, ya que permite cubrir un gran número de vacas de diferentes lugares al mismo tiempo.
- Pueden servirse vaconas y vacas de tamaño pequeño sin causar daños, que a veces se presentan cuando se sirven con monta natural utilizando toros muy pesados.
- La posibilidad de utilizar toros valiosos después de muertos y toros físicamente impedidos por la monta por problemas mecánicos o por peso.

2. Desventajas de la Inseminación Artificial

Galina, C. y Saltiel, A., (1995), manifiesta las siguientes:

- El costo inicial de un programa de inseminación artificial es alto. (Compra de equipo, construcción de instalaciones).
- Las enfermedades pueden difundirse cuando se utilizan sementales enfermos.
- La consanguinidad tiende a incrementarse cuando se utilizan sementales de una sola línea genética durante muchos años.
- Implica de un dominio de la técnica. Es necesario que el técnico inseminador sea entrenado en una empresa especializada que cuente con bastante experiencia.
- Requiere una muy buena detección del celo. (Capacitar al personal).

3. Momento óptimo para la inseminación artificial

Vargas, J., (2003), esta necesidad de actuar en el momento adecuado viene dada por las propias características de ambos gametos: mientras que la vida útil del óvulo tras la ovulación es de sólo 10 ó 12 horas, el esperma puede sobrevivir, una vez depositado en el tracto reproductor de la hembra, entre 24 y 48 horas. Aunque, por la larga vida del esperma, parece que el tiempo en el que se insemina no es un factor determinante, no hay que olvidar que el esperma debe permanecer en el tracto reproductor de la hembra entre 4 y 6 horas antes de ser

capaz de llevar a cabo la fertilización del óvulo. Esto explica porqué se obtienen mayores índices de concepción cuando se insemina en la mitad o en el final del celo que cuando se hace después del final de este.

E. PROCESO DE FECUNDACIÓN

Bearden, H. y Fuquay, J. (1982), registra que el proceso se inicia con la colisión entre el ovocito y el espermatozoide y termina con la con la fusión de su pronúcleo. La célula diploide resultante que contiene el código genético para un nuevo individuo es el cigoto. El primer paso en la fertilización incluye la penetración del espermatozoide a través de las células del cúmulo y de la corona radiada que golpea con su cabeza la zona pelúcida. Dos enzimas ayudan en este paso, la hialuronidasa y las enzimas penetrantes de la corona los dos se asocian con la cabeza del espermatozoide. La liberación de dichas enzimas es posible por la capacitación y la reacción del acrosoma. Galina, C. y Saltiel, A., (1995), indican que una vez que se ha producido la ovulación, el óvulo sale del ovario hacia el oviducto. La fecundación de este óvulo ocurre específicamente en la zona Ampulla-Istmo del oviducto. Galina, C. y Saltiel, A., (1995), después de la fertilización en la porción ampular del oviducto, el cigoto es transportado al útero. Este proceso tarda de 3 a 4 días en la mayoría de los mamíferos. El huevo fecundado pasa alrededor de tres días en el oviducto antes de migrar al útero. Esta migración se produce por contracciones del oviducto y por movimientos de los cilios que recubren su interior. Luego el embrión llega al útero, se implanta 30 días después de la fertilización en vacas, 60 días en yegua y 14-16 días en cerdas y ovejas para posteriormente comenzar su gestación.

F. PERIODO DE GESTACIÓN

Bearden, H. y Fuquay, J. (1982), describe que la gestación es el período de la preñez. Se inicia con la fertilización y termina con el parto. Existen diferencias tanto individuales como de raza. En las vacas, la gestación es un poco más prolongada cuando éstas producen machos que cuando producen hembras. La gestación es un poco más corta cuando producen gemelos. El período de

gestación de la vaca está entre 283 días, con una variación en más o en menos de 12 días (9 meses).

Ungerfeld, R., (2002), el reconocimiento materno de la preñez ocurre entre los días 16 – 19 y días en que se establece el vínculo físico 18-22. El embrión bovino produce varias proteínas entre las que se incluye el INF- τ (interferón τ) y que inhibe la producción de PGF2 α . La vía por la que la PGF2 α llega al ovario, es decir, la que es necesario bloquear, es muy similar a la de la oveja.

El endometrio de la vaca preñada no reacciona la producción uterina de PGF2 α inducida por el estradiol y oxitocina, debido a que tiene muy bajas concentraciones de receptores de oxitocina los días 14 a 21 comparadas con las que se observa durante el ciclo estral. Además el endometrio gestante bovino produce un inhibidor endometrial de la PG sintetizada (EPSI) que reduce específicamente la producción de PGF2 α . Los embriones bovinos también producen PGE2 la cual es posible que tenga una función protectora del CL. (Ungerfeld, R. 2002).

Para que la gestación sea posible y el embrión culmine su desarrollo es necesario que existan señales embrionarias para evitar la luteólisis y la disminución de los niveles de progesterona. De no ser suficientemente fuertes las mismas, se desencadenará la luteólisis interrumpiéndose la gestación. (Ungerfeld, R. 2002). Galina, C. y Saltiel, A., (1995), el feto en las especies domésticas se nutre básicamente de dos fuentes que, en orden cronológico son:

Histótrofe.- O leche uterina se compone de las secreciones de las glándulas endometriales, elementos de descamación o desechos del endometrio y cierta cantidad de sangre materna extravasada. Este histótrofe es importante para el embrión durante el período de pre-adhesión. (Galina, C. y Saltiel, A. 1995).

Hemótrofe.- Una vez que se efectúa de adhesión se establece la comunicación entre la madre y el feto mediante las membranas fetales y queda constituida la llamada Unidad Feto-Placenta-Madre. Desde este momento, el feto se nutre

directamente de materiales absorbidos de la circulación materna. (Galina, C. y Saltiel, A. 1995).

G. DIAGNÓSTICO DE LA PREÑEZ

Ungerfeld, R., (2002), manifiesta que los métodos más comunes para detectar la preñez incluyen no retorno al celo, palpación rectal, ultrasonografía y niveles de progesterona en la leche. Cada método posee ventajas y desventajas.

1. Ultrasonografía

Ungerfeld, R., (2002), la ultrasonografía utiliza ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de órganos internos y de tejido. La ultrasonografía comenzó a utilizarse como método fidedigno de diagnóstico de gestación temprano en la vaca en la década del 80.

El principal objetivo al realizar el diagnóstico de preñez en las vacas inseminadas en un rodeo, no es determinar que vacas estén preñadas, sino al contrario, que vacas están vacías con el fin de reinseminarlas o refugarlas del rodeo (Youngsguint, 1997). Es por ello que tradicionalmente se recomienda realizar el diagnóstico de preñez previamente al segundo celo luego de la inseminación (38 – 42 días; Momont, 1991).

Debido a los problemas de muerte embrionaria iatrogénica por realizar un diagnóstico de preñez temprano, y a la falta de exactitud y costo elevado en el diagnóstico de preñez mediante la cuantificación de progesterona, el diagnóstico de gestación temprano (día 25-28 post-inseminación) mediante el uso de ultrasonografía es una herramienta de diagnóstico muy útil para determinar en forma precisa los animales vacíos y rápidamente re-sincronizarlos. (Ungerfeld, R. 2002). En un estudio determinaron que el diagnóstico precoz de preñez mediante ultrasonografía en explotaciones comerciales posee un sensibilidad y especificidad del 95% y un valor predicho del 98%.(Ungerfeld, R. 2002).

2. Palpación rectal

Ungerfeld, R., (2002), indica en un estudio reciente ha demostrado que vacas que fueron diagnosticadas preñas por palpación rectal entre los días 30 y 36 post-inseminación, tuvieron un intervalo entre partos 2 semanas mas largo que aquellas examinadas más tarde. En dicho trabajo, también se estudió la exactitud del diagnóstico de preñez por palpación rectal. Se observó que el 3,4% de las vacas supuestamente preñadas manifestaron el celo y fueron inseminadas, que otro 1.5% de las vacas eran encontradas vacías en un examen posterior, y que el 5% de las vacas diagnosticadas vacías parieron en el período correspondiente a la supuesta edad de preñez.

Si bien la muerte embrionaria es relativamente importante durante los estadios temprano de preñez, puede aumentarse iatrogénicamente durante el diagnóstico temprano de preñez por palpación. La mortalidad embrionaria luego de realizar el diagnóstico de preñez por palpación rectal antes del día 35 post-inseminación es de 5,8%, entre los días 35 y 45 es de 6% y luego del día 45 es menor al 1%. Otros autores confirmaron que la palpación rectal es una causa importante de muerte embrionaria y fetal. Ungerfeld R. (2002), reportaron una mortalidad embrionaria de 7,5% y 5,6% luego de realizar el deslizamiento de membranas como signo positivo de preñez antes y después del día 50 post-inseminación respectivamente.

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo en la Hacienda “SAN ANTONIO” ubicada en el km 10 vía a Misahualli, en el cantón Tena Provincia de Napo. Las condiciones meteorológicas imperantes en la zona se detallan en el cuadro 1.

Cuadro 1. CONDICIONES METEOROLÓGICAS EN LA CIUDAD DE TENA.

PARAMETRO	VALOR
Temperatura, °C	25°C
Clima	Cálido-Húmedo
Humedad relativa, %	90-100%
Precipitación, mm/año	600-650
Longitud(UTM)	190833
Latitud (UTM)	9885105
Altitud (msnm)	446

Fuente: Estación Meteorológica de la de Recursos Naturales. NAPO. (2012).

La investigación tuvo una duración de 120 días durante los cuales se evaluó la eficacia de los tres tratamientos hormonales, en vacas Brown Swiss mestizas.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Para el desarrollo de la siguiente investigación se empleó 24 vacas Brown Swiss mestizas vacías de 24 a 36 meses de edad, con un peso aproximado de 350 a 400 Kg, distribuyéndose en tres grupos uniformes de 8 vacas correspondientes a los tratamientos considerándose a cada vaca una unidad experimental.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

Los materiales, equipos e instalaciones que se utilizaron en el desarrollo de la presente investigación se distribuyeron de la siguiente manera:

1. Materiales

- Papelería y materiales
- Computadora
- Memoria USB
- Bolígrafos
- Libreta de apuntes
- Perforadora
- Grapadora
- Anillado
- Empastado
- Internet
- Implantes Hormonales
- (Norgestomet), 30 mg.
- Gonadotropina (eCG), 10000 UI.
- Prostaglandinas (PGF₂α), 15 mg.
- P4 Progesterona 40mg
- Aplicador de Implantes, marca Intervet.
- Jeringuillas, 40 de 5 ml.
- Registros, reproductivos individual para cada vaca.
- Desinfectantes, amonio cuaternario

2. Equipos

- Calculadora
- Termo y equipo de inseminación artificial
- Cámara de fotografías
- Ecógrafo.
- Computador, marca hp.

3. Instalaciones

Para el presente estudio se utilizó las instalaciones de la Hacienda “SAN ANTONIO” el área de establos, manga, brete y corrales.

D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estudió el efecto de tres tratamientos hormonales consistentes en la utilización de implantes Hormonales, en vacas Brown Swiss mestizas, a fin de evaluar los perfiles de LH plasmáticos y otras características relacionadas con la tasa de concepción. La distribución de los tratamientos fueron completamente al azar y no es necesaria la utilización de Diseño Experimental. Los tratamientos evaluados se detallan en el cuadro 2.

Cuadro 2. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

TRATAMIENTO	CÓDIGO	REP	TUE	REP/TRAT
Norgestomet + P4(40mg) + PgF2α + eCg	NPE	8	1	8
Norgestomet + P4(40mg) + PgF2α + GnrH	NPG	8	1	8
CIDER + PgF2α + eCg	CDE	8	1	8
TOTAL				24

TUE: Tamaño de la Unidad Experimental, Equivale a 1 animal.

Elaboración: Moyano, J. (2013)

NPE: (Norgestomet + P4 40mg) (0) + PgF2α (7) + eCG (9) ----IA 56 Horas

NPG: (Norgestomet + P4 40mg) (0) + PgF2α (7) + GnRH (9)----IA 24 Horas

CPE: CIDR (0) + PgF2α (7) + eCG (9) ----IA 56 Horas

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las mediciones experimentales efectuadas en la presente investigación fueron las siguientes:

- Perfil de LH plasmático (ng/ml)
- Presencia de vacas en celo a las 24, 36 y 48 horas post tratamiento hormonal, %
- Calidad de Cuerpo Lúteo, %
- Tasa de Concepción, %
- Indicador beneficio costo, USD

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Para el análisis de datos se utilizaron los siguientes procedimientos estadísticos:

- Estadística Descriptiva y distribución de Frecuencias.
- Prueba de hipótesis para variables categóricas, según Chi Cuadrado ($P < 0.05$).
- Prueba de hipótesis para variables continuas, según t Student al ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$).

Para la determinación de los límites de significancia se utilizaron procedimientos estadísticos correspondientes a la distribución t Student, como se describe a continuación:

$$t_{cal} = \frac{\bar{d}}{S_{\bar{d}}} = \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{S(\bar{X}_A - \bar{X}_B)}$$

$$S^2_{\bar{d}} = \frac{\sum D^2 - \frac{(\sum D)^2}{n}}{n(n-1)}$$

$$S_{\bar{d}} = \sqrt{S^2_{\bar{d}}}$$

DONDE:

t_{cal} : Valor calculado de "t – student"

\bar{d} : Diferencia entre medias.

$S_{\bar{d}}$: Desviación típica de la diferencia entre medias

A: Promedio con la utilización del Protocolo de Sincronización 1.

B: Promedio con la utilización del Protocolo de Sincronización

2. D: Diferencia entre Valores

Para la determinación de los límites de significancia de las variables categóricas se utilizaron procedimientos estadísticos correspondientes a la prueba X^2 , como se describe a continuación:

$$X^2_{cal} = \frac{(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(o_2 - e_2)^2}{e_2} + \dots + \frac{(o_n - e_n)^2}{e_n}$$

DONDE:

X^2_{cal} : Valor calculado de "Chi – cuadrado"

o_n : Valores observados.

e_n : Valores esperados.

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Descripción del experimento

La presente investigación se realizó en la hacienda "SAN ANTONIO" del Sr. Antonio Hidalgo que se encuentra ubicada en el Km 10 vía Misahualli, Parroquia Misahualli, Cantón Tena se emplearon 24 vacas vacías y se distribuyeron en tres grupos de 8 vacas correspondientes a cada tratamiento.

Se dio un manejo uniforme a todos los tratamientos. Se realizó un levantamiento de información, en el que constó la verificación de registro de identificación individual y areteo; registro reproductivo/productivo y registro sanitario y el manejo zootécnico. Seguido con un examen físico, diagnóstico diferencial enfermedades, tratamiento.

En la presente investigación se realizó, los siguientes procedimientos experimentales:

Selección de vacas Brown Swiss mestiza, con una edad de 24 a 32 meses y un peso aproximado de 350 a 400 Kg.

Aplicación de programas de sincronización de celo e Inseminación Artificial de la siguiente manera:

NPE: (Norgestomet + P4 40mg) (Día 0) + PgF2 α (Día 7) + eCG (Día 9) ----IA 56 Horas

NPG: (Norgestomet + P4 40mg) (Día 0) + PgF2 α (Día 7) + GnRH (Día 9)----IA 24 Horas

CPE: CIDR (Día 0) + PgF2 α (Día 7) + eCG (Día 9) ----IA 56 Horas

Extracción de sangre al momento de la IA, las muestras se envió en tubos al vacío sin anticoagulante y se llevó al laboratorio para sus respectivos análisis. El diagnóstico de preñez se realizó a los 30 días posteriores a la inseminación, (ecografía para determinar la eficiencia de los tratamientos en los grupos experimentales).

2. Manejo sanitario

a. Desparasitación

Se realizó al inicio de la investigación mediante el uso de un antiparasitario de amplio espectro (Ivermectina) de larga duración.

b. Ginecología y obstetricia

Se realizó la verificación de gestación, identificación de patologías reproductivas diagnóstico y tratamiento, y la selección de vacas en óptimas condiciones para los tratamientos experimentales, para lo cual se utilizó un equipo de ultrasonografía, y palpación rectal.

3. Manejo de variables

a. Presencia de celos

Se evaluó tomando en cuenta el número de vacas en celo mediante observación de signos externos, para lo cual el investigador evaluó estos aspectos a las 24, 36 y 48 horas de la última aplicación hormonal y luego se determinó el % de vacas en celo en cada periodo de tiempo evaluado.

b. Perfil de LH

El examen de química hormonal en la sangre mide la cantidad de hormona luteinizante (LH), una hormona producida por la hipófisis que provoca la ovulación, las concentraciones normales en vacas es de 30 ng/ml de sangre. Para el efecto se utilizó la técnica de Eliza (Enzyme Linked Inmunoabsorvent Assay), la cual se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción, cuyo producto es una coloración que es espectrofométricamente medida, lo cual ha permitido elevar la sensibilidad a la obtenida en el RIA (Radioinmunoensayo). García, L. (1999).

c. Tasa de Concepción

Este indicador se evaluó de acuerdo al número de vacas Brown Swiss mestizas que han quedado gestantes, luego servicio y tratamiento hormonal. Este indicador fue evaluado a los 30 días post servicio mediante ultrasonido.

d. Calidad de Cuerpo Lúteo

La calidad del cuerpo lúteo es una evaluación subjetiva, determinada mediante palpación rectal o ultrasonografía, la cual permite clasificar a los cuerpos lúteos en tres calidades: Calidad 1 comprende a aquellos cuerpos lúteos superiores a un diámetro de 2.5 cm, la calidad de cuerpos lúteos 2 con un diámetro equivalente a 2 cm, y finalmente la calidad de cuerpos lúteos 3 son aquellos con medidas inferiores a 1.5 cm de diámetro.

e. Análisis económico

Se realizó al concluir el ensayo tomando en consideración la metodología de presupuestos parciales para el cálculo de la tasa beneficio costo.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. EVALUACION DEL PERFIL DE LH PLASMÁTICO Y CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

1. Perfil de LH plasmático

Al evaluar los perfiles de LH plasmático en vacas lecheras Brown swiss mestizas sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro se registró diferencias estadísticas de acuerdo con t Student ($P < 0.01$), así las vacas del tratamiento Norgestomet- GnRH. presentaron el mayor perfil de LH plasmático con 31,42 ng/ml, seguido por las vacas tratadas con Norgestomet- eCG ,con 29,70 ng/ml de LH plasmático y con menor perfil de LH plasmático se determinó a las vacas tratadas con CIDR- eCG con 27,63 ng/ml, cuadro 3, grafico 1.

Los resultados determinados en la presente investigación son mayores a los determinados por Vargas, J. (2012), quien al evaluar un protocolo de IATF mediante la adición de hormona de crecimiento (GH) para incrementar los niveles de LH en plasma sanguíneo en bovinos Brown Swiss, determinó un perfil de 29,87 ng/ml al aplicar Crestar (P4 y VE)+ Gestavec (P4) + Prostal (PGF2 α) y Lactotropina (GH) al día 7.

Al respecto de la utilización de GnrH en nuestra investigación, Hahn, J. (2003), indica que la GnRH posee un papel destacado en la iniciación, regulación y la supresión del desarrollo folicular, lo que se ve reflejado en los resultados obtenidos durante nuestra investigación, considerando que el pico más alto de la onda preovulatoria ocurre de 20 a 22 horas antes de la ovulación.

Por otro lado el mismo autor manifiesta que, el destino del folículo dominante, está determinado por la frecuencia de los pulsos de LH a los que está expuesto y ovulará en respuesta a un pulso de la LH cada hora, considerando además que

Cuadro 3. EVALUACIÓN DEL PERFIL DE LH PLASMÁTICO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS, SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

VARIABLES REPRODUCTIVAS	TRATAMIENTO HORMONAL				P (T < t)
	Norgestomet - eCG	Norgestomet - GnRH	CIDR- eCG	EE	
Perfil de LH Plasmático (ng/ml)	29,70 b	31,42 a	27,63 c	0,36	0,0001 **

Fuente: Análisis Perfiles de LH –Pruebas Hormonales Eliza-ANIMALAB (2013).

Elaboración: Moyano, J. (2013).

** : Diferencia altamente significativa entre promedios. Según t Student ($P \leq 0.01$).

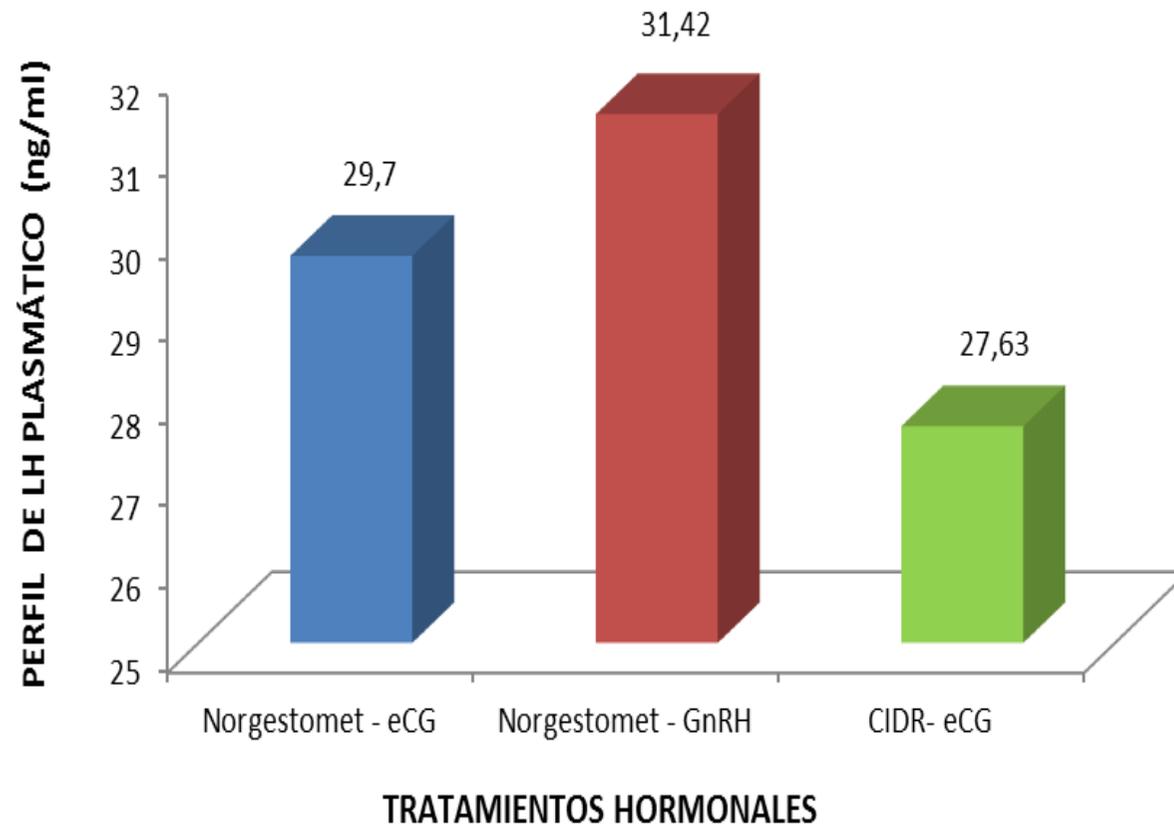


Grafico 1. Perfil de LH plasmático determinado en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.

las tres funciones más destacadas de la LH son, la inducción de la maduración final del folículo dominante mediante la estimulación de la producción de estradiol, la inducción de la ovulación y la estimulación de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, lo cual repercutirá sobre tasa de concepción y fertilidad.

2. Presencia de celo en diferentes periodos de tiempo

Para el contraste de frecuencias del celo en vacas Brown Swiss Mestizas se categorizó en tres periodos de tiempo, ya que las evaluaciones se realizaron cada 12 horas, de esta manera se determinó vacas con presencia de celo a las 24 , 36 y 48 horas.

A las 24 horas de evaluación, se determinaron diferencias estadísticas de acuerdo a X^2 ($P < 0.01$), estableciéndose una frecuencia del 100 % de celo en las vacas pertenecientes al tratamiento Norgestomet- GnRH, mientras que al utilizar los tratamientos Norgestomet- eCG y CIDR- eCG en vacas lecheras de la raza Brown Swiss Mestizas no presentaron celo, cuadro 4, grafico 2.

En los diferentes grupos de vacas la presencia de celo a las 36 horas de evaluación, presentó diferencias estadísticas según X^2 ($P < 0.01$), registrándose la mayor frecuencia de vacas en celo en el tratamiento CIDR- eCG con 50,0%, seguido por el tratamiento Norgestomet- eCG con 37,5 % y finalmente se reportó las vacas tratadas con Norgestomet- GnRH con un promedio de 12,5 %, cuadro 4, grafico 2.

En los diferentes grupos de vacas la presencia de celo a las 48 horas de evaluación, presentó diferencias estadísticas según X^2 ($P < 0.01$), determinándose la mayor frecuencia de vacas en celo en el tratamiento Norgestomet- eCG con 87,5%, seguido por las vacas tratadas con CIDR- eCG con 75,0% mientras que no se registraron vacas en celo en el tratamiento con Norgestomet- GnRH, cuadro 4, grafico 2.

Los resultados obtenidos en la presente investigación se hallan muy relacionados a lo expuesto por Ullah, A. et al. (1996), quien indica que se piensa que la

Cuadro 4. EVALUACIÓN REPRODUCTIVA EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS, SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

VARIABLES REPRODUCTIVAS	TRATAMIENTO HORMONAL			Promedio	Significancia (X^2)
	Norgestomet - eCG	Norgestomet - GnRH	CIDR- eCG		
<i>Presencia de Celo</i>					
Presencia de celo a las 24 Horas, %	0,0 b	100,0 a	0,0 b	33,33	P<0,01**
Presencia de celo a las 36 Horas, %	37,5 b	12,5 c	50,0 a	33,33	P<0,01**
Presencia de celo a las 48 Horas, %	87,5 a	0,0 c	75,0 b	54,17	P<0,01**
<i>Calidad de Cuerpo Lúteo</i>					
Cuerpo Lúteo 1 (>2,5 cm ϕ), %	37,5 b	87,5 a	25,0 c	50,00	P<0,01**
Cuerpo Lúteo 2 (2,0 cm ϕ), %	50,0 a	12,0 b	50,0 a	37,33	P<0,01**
Cuerpo Lúteo 3 (1,5 cm ϕ), %	12,5 b	0,0 c	25,0 a	12,50	P<0,01**
Tasa de Concepción, %	87,5 b	100,0 a	75,0 c	87,50	P<0,01**

Elaboración: Moyano, J. (2013).

** : Diferencia altamente significativa entre valores. Según X^2 ($P \leq 0.01$).

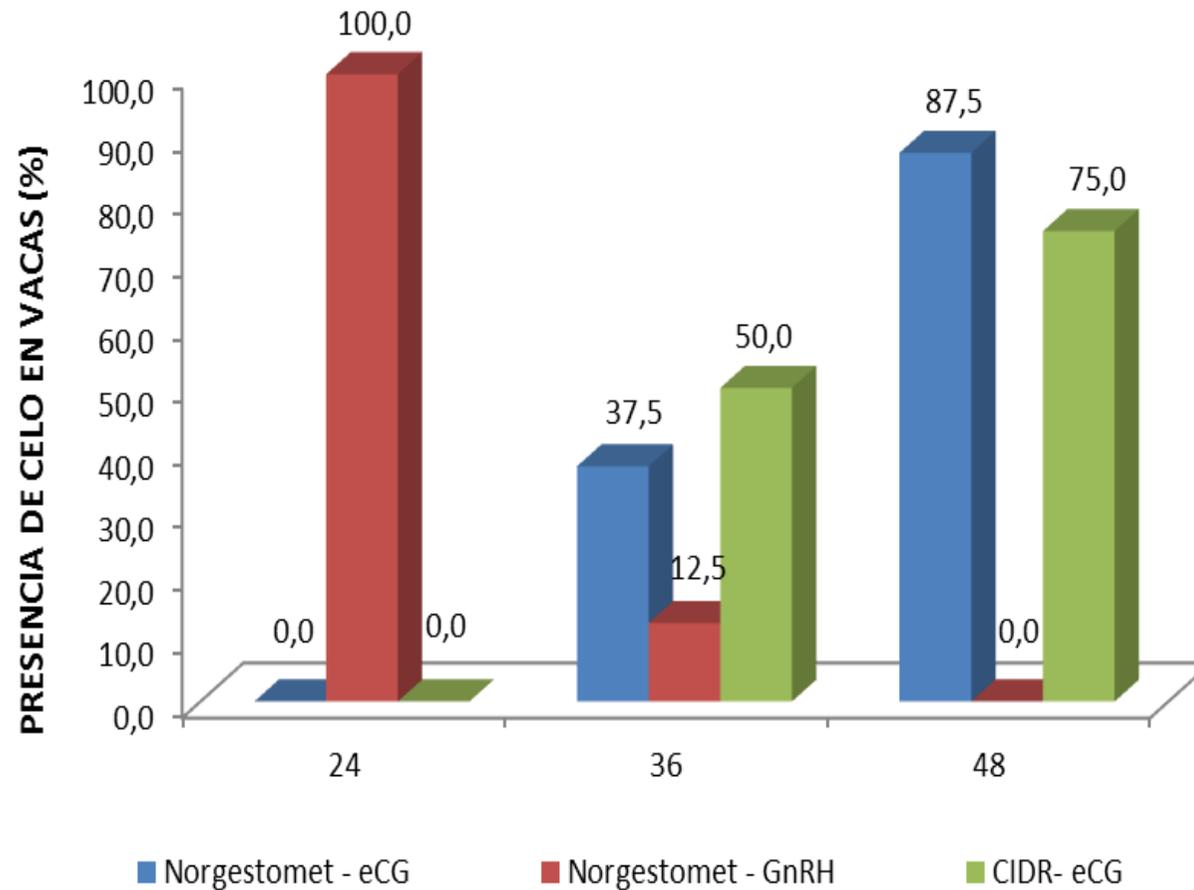


Grafico 2. Frecuencia de celo en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo, durante diferentes periodos de evaluación

administración de GnRH durante las primeras etapas del estro induce una mayor descarga de LH y mejora la sincronización de los intervalos de tiempo entre el estro, la descarga de LH, la ovulación y la inseminación. Inclusive la inducción de la ovulación mediante la administración de GnRH al momento del estro permite una reducción en la incidencia de ovulaciones retrasadas y la dominancia folicular prolongada, por lo que posiblemente exista mayor frecuencia de vacas con poca duración de celo, cuando se utiliza hormonas luego de la Inseminación artificial.

3. Calidad de cuerpo lúteo

a. Cuerpos lúteo 1

Esta calidad comprende a aquellos cuerpos lúteos superiores a un diámetro de 2,5 cm, determinándose diferencias estadísticas en la frecuencia de este tipo de cuerpos lúteos según X^2 ($P < 0.01$), alcanzándose una mayor frecuencia (87,5 %), en el grupo de vacas sometidas al tratamiento con Norgestomet- GnRH, seguida de la frecuencia de vacas tratadas con Norgestomet- eCG con una frecuencia de 37,5%, mientras que las vacas pertenecientes al grupo CIDR- eCG presentaron una frecuencia de 25,0 % de cuerpos lúteos de esta calidad, cuadro 4, grafico 3.

Los resultados obtenidos en esta variable se hallan directamente relacionados a la tasa de concepción y fertilidad obtenidos al final de la presente investigación, ya que de acuerdo a Mann, G. y Lamming, G. (1999), la función lútea se ha asociado con la baja fertilidad, algunos estudios muestran que las vacas subfértiles tienen afectada la función del cuerpo lúteo. Se ha observado en las vacas altas productoras, menores concentraciones séricas de progesterona, lo cual se asocia con la baja fertilidad. Lo anterior posiblemente esté relacionado a una mayor producción de P4 que es la hormona encargada del mantenimiento de la gestación, en los cuerpos lúteos de mejor calidad determinada por el tamaño de los mismos.

Por su parte Hahn, J. (2003), indica que a mayores niveles de Hormona Luteinizante (LH), existe mejor transformación de las células de la granulosa y tecas, a células luteicas incrementando el tamaño del cuerpo lúteo y secreciones

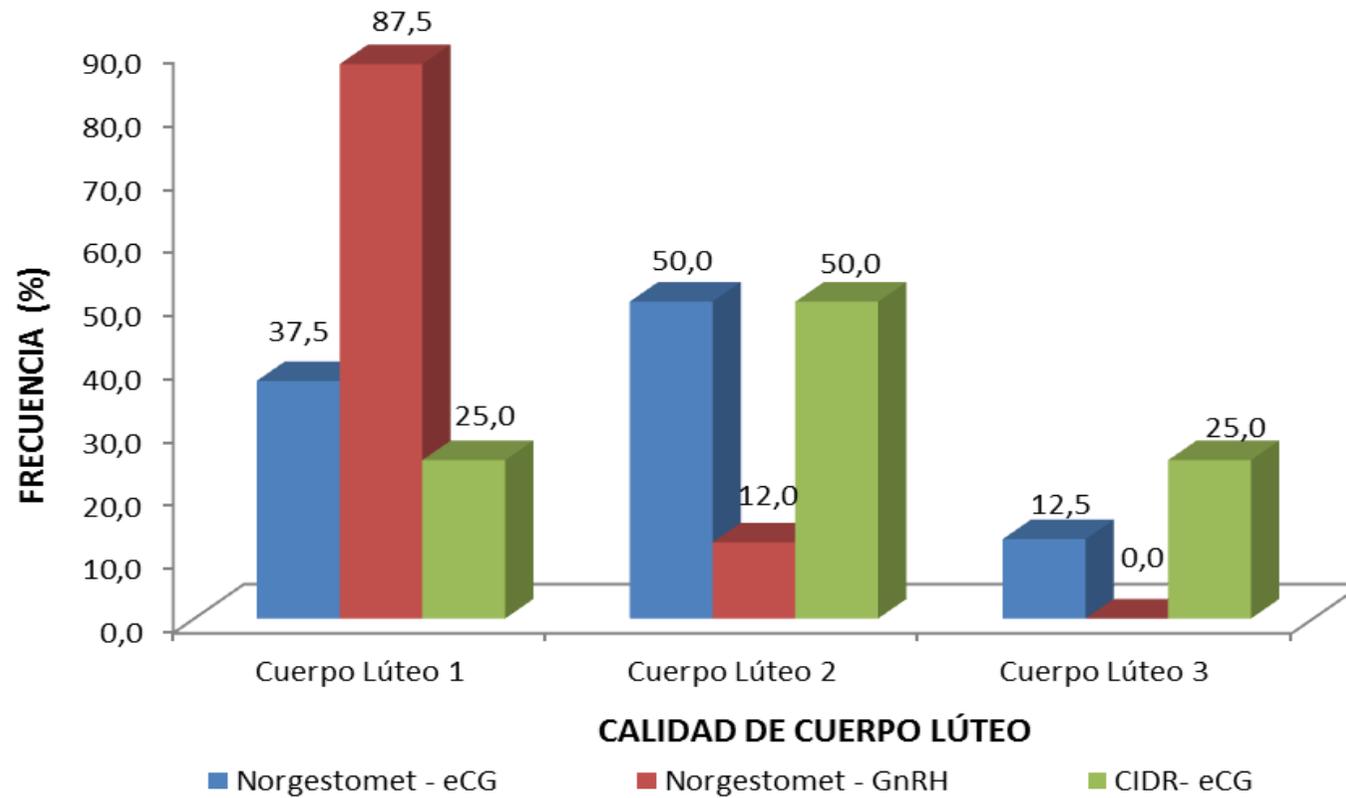


Grafico 3. Distribución de la calidad de cuerpo lúteo en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo

de progesterona, lo que se halla directamente relacionado con los resultados obtenidos al utilizar GnRH, ya que alcanzó el mayor perfil de LH y consecuentemente la mayor frecuencia de vacas con calidad de cuerpo lúteo 1.

b. Cuerpos lúteo 2

Se registraron diferencias estadísticas X^2 ($P < 0.01$) en la frecuencia cuerpos lúteos con un diámetro de 2 cm, registrándose la menor frecuencia (12,0%), en el grupo de vacas tratadas con Norgestomet- GnRH mientras que las vacas tratadas con Norgestomet- eCG y CIDR- eCG presentaron una frecuencia de 50,0% respectivamente, cuadro 4, grafico 3.

Al respecto Hernández, C. y Morales, R. (2001), manifiestan que son muy populares los tratamientos con GnRH o hCG posteriores a la inseminación. Esta forma de enfrentar la falla en la concepción se fundamenta en el concepto de que estas hormonas sincronizan la ovulación, previenen problemas de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo.

c. Cuerpos lúteo 3

La frecuencia de la calidad de cuerpos lúteos inferiores a 1,5 cm, presentaron diferencias significativas de acuerdo con X^2 ($P < 0.01$), determinando mayor frecuencia en las vacas pertenecientes al tratamiento CIDR- eCG con 25,0%, seguido por el grupo de vacas sometidas al tratamiento con Norgestomet- eCG presentó una frecuencia de 12,5% de cuerpos lúteos, mientras que no se registró frecuencia de este tipo de cuerpos lúteos en las vacas tratadas con Norgestomet- GnRH, cuadro 4, grafico 3.

De acuerdo a estos resultados Hernández, C. y Morales, R. (2001), manifiestan son muchos los estudios, y también la variabilidad de los resultados; el análisis de los resultados de 40 estudios publicados en 27 artículos, indica que el tratamiento aumentó la probabilidad de gestación en los animales tratados, en particular en los animales repetidores.

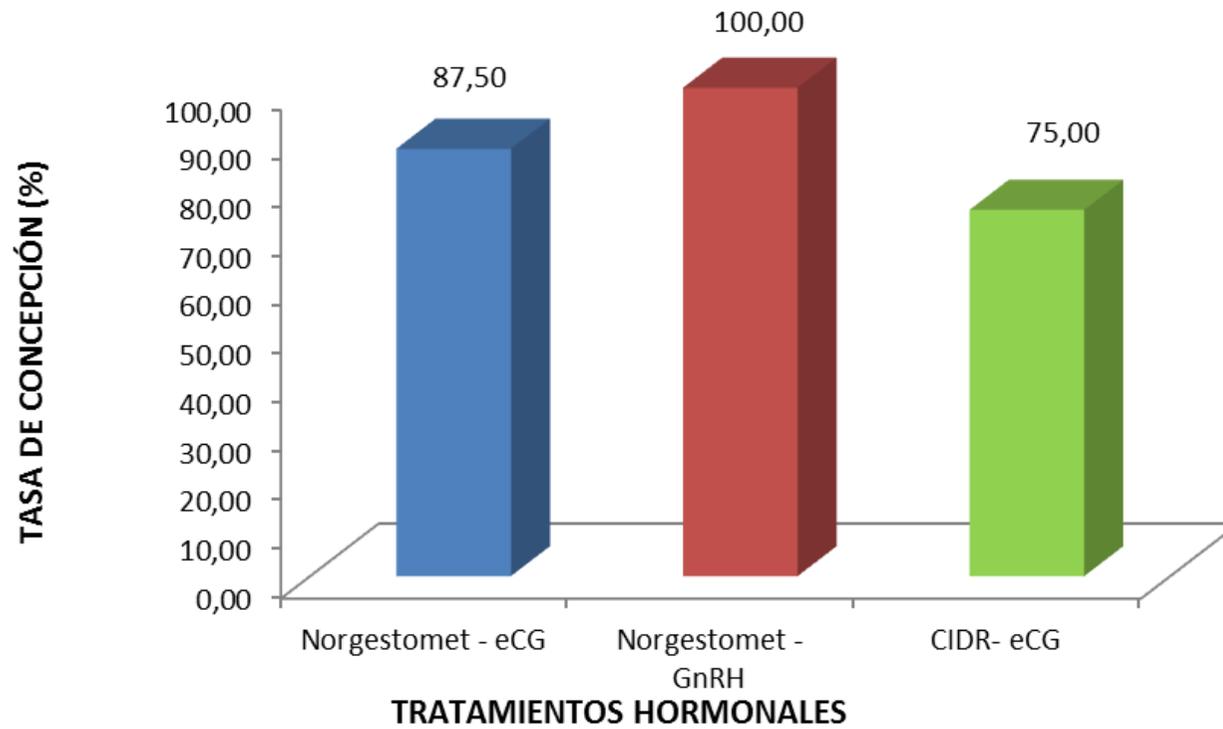


Grafico 4. Tasa de concepción determinado en vacas lecheras Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para Inseminación Artificial a Tiempo Fijo

4. Tasa de concepción

Para esta variable se determinaron diferencias estadísticas según X^2 ($P < 0.01$), de tal manera que la tasa de concepción más alta se registró en las vacas tratadas con Norgestomet- GnRH, con un promedio de 100%, seguido por las vacas tratadas con Norgestomet- eCG (87,5 %), mientras que para las vacas pertenecientes al tratamiento CIDR- eCG se registró una menor tasa de concepción con 75,0%, cuadro 4, grafico 4.

Estos resultados se hallan relacionados a lo descrito por Hernández, C. y Morales, R. (2001), quienes manifiestan que estas hormonas sincronizan la ovulación con el momento de la inseminación, previenen problemas de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo. Lo que posiblemente se halle relacionado a la calidad del cuerpo lúteo y los niveles de progesterona producidos por los mismos lo que asegura la implantación del embrión y por ende la concepción.

B. EVALUACIÓN ECONÓMICA EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS MESTIZAS SOMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO.

Los egresos determinados por los costos incurridos en los diferentes grupos experimentales durante la investigación ascendieron a 10586,4 USD para el tratamiento Norgestomet - eCG, 10536,8 para el grupo Norgestomet - GnRH y 10587,2 USD para el grupo tratado con CIDR- eCG, mientras que los ingresos fueron determinados mediante la cotización de las reproductoras, terneros y leche producida durante el periodo de gestación, obteniéndose el mejor indicador de beneficio costo en los animales del grupo tratado con Norgestomet - GnRH alcanzando un índice de 1,244 USD, lo que quiere decir que por cada dólar invertido se tiene un beneficio neto de 0,244 USD, posteriormente el índice de beneficio costo en el grupo de vacas tratadas con Norgestomet - eCG que obtuvo un índice de 1,227 USD, con un beneficio neto de 0,227 USD, lo que indica que la inversión en los dos casos es representativa en términos económicos. Cuadro 5.

Cuadro 5. ANALISIS ECONÓMICO DE LA UTILIZACIÓN DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO PARA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN VACAS LECHERAS BROWN SWISS.

CONCEPTO Y DETALLE	TRATAMIENTOS		
	Norgestomet - eCG	Norgestomet - GnRH	CIDR- eCG
A. EGRESOS			
Cotización Vacas ¹	8000,0	8000,0	8000,0
Inseminación Artificial ²	160,0	160,0	160,0
Tratamiento Hormonal ³	263,6	214,0	264,4
Alimentación ⁴	1792,8	1792,8	1792,8
Servicios Básicos ⁵	30,0	30,0	30,0
Mano de Obra ⁶	300,0	300,0	300,0
Chequeo Ginecológico ⁷	40,0	40,0	40,0
<i>Total Egresos, USD</i>	<i>10586,4</i>	<i>10536,8</i>	<i>10587,2</i>
B. INGRESOS			
Cotización Vacas ⁸	8000,0	8000,0	8000,0
Producción de Leche ⁹	4147,2	4147,2	4147,2
Cotización Crías ¹⁰	840,0	960,0	720,0
<i>Total Ingresos, USD</i>	<i>12987,2</i>	<i>13107,2</i>	<i>12867,2</i>
<i>Índice de Beneficio/Costo, USD</i>	<i>1,227</i>	<i>1,244</i>	<i>1,215</i>

Elaboración: Moyano, J. (2013).

1. Reproductoras: \$ 1000/Vaca

2. Inseminación: \$ 20/Servicio

3. Hormonas: \$ NPE: 32,95/Animal; NPG: 26,75/Animal; CPE: 33,05/Animal

4. Alimentación: \$ 0,83/día

5. Servicios Básicos: \$ 10/mes

6. Costo de Mano de Obra: \$ 100/Mes

7. Chequeo Ginecológico: \$ 40/Tratamiento

8. Reproductoras: \$ 1000/Vaca

9. Costo de Leche en finca: \$ 0,32/litro

10. Cotización de Crías: \$ 120/ Ternero

CAPITULO V. CONCLUSIONES

1. El mayor perfil de LH plasmático fue identificado en las vacas tratadas con Norgestomet – GnRH, con 31,42 ng/ml, mientras que perfiles inferiores fueron determinados en las vacas tratadas con Norgestomet- eCG y CIDR- eCG, con 29,70 y 27,63 ng/ml de LH plasmático correspondientemente.
2. Se determinó el 100,0 % de presencia de celo en las Brown swiss mestizas tratadas con Norgestomet - GnRH a las 24 horas de evaluación, en tanto que el 87,5 y 75,0 % de vacas pertenecientes a los tratamientos Norgestomet – eCG y CIDR - eCG respectivamente, permanecieron con signos de celo hasta las 48 horas de evaluación.
3. La mayor frecuencia de calidad de cuerpo Lúteo 1, fue determinada en las vacas Brown Swiss mestizas tratadas con Norgestomet – GnRH, alcanzando un valor de 87,5 %, mientras que menores resultados para esta característica fueron determinados en las vacas pertenecientes a los tratamientos CIDR - eCG y Norgestomet – eCG, con 50,0 y 37,5 % respectivamente.
4. El mayor porcentaje de tasa de concepción fue determinado en las vacas Brown swiss mestizas tratadas con Norgestomet - GnRH, con 100,0 %, mientras que en las vacas pertenecientes a los tratamientos Norgestomet- eCG y CIDR- eCG se determinaron tasas de concepción menores con 87,5 y 75,0% en su orden.
5. Se estableció una mayor rentabilidad en el grupo de vacas tratadas con la utilización de Norgestomet – GnRH, obteniéndose el indicador de beneficio costo de 1,244 USD, lo que representa un beneficio neto de 0,244 USD en relación a la inversión.

CAPITULO VI. RECOMENDACIONES

1. Aplicar el tratamiento Norgestomet – GnRH, en los protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo en vacas, a fin de mejorar la calidad del cuerpo lúteo y tasa de concepción, como ha ocurrido en la presente investigación.
2. Difundir los resultados obtenidos a nivel de ganadería lechera, con el objetivo de incrementar la fertilidad bovina y por ende mejorar los rendimientos económicos de los productores.
3. Realizar otras investigaciones que permitan evaluar estos compuestos hormonales sobre el perfil de LH basal, antes durante y después del celo, así como el desarrollo del cuerpo lúteo en otras especies de interés zootécnico, recolectando las muestras sanguíneas directamente de la vena caudal, a fin de evitar el estrés del animal.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFÍA

1. **ARÉCHIGA, F. y HANSEN, P.**, Effect of injection of B-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows., 2a. ed., Nueva Orleans- EEUU., Edit. Theriogenology., 2000., P.p. 65-76.
2. **ARÉCHIGA, F.**, Efectos adversos del estrés calórico en la reproducción del ganado bovino., 1a. ed., Chihuahua- México. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria., 2000., P.p.135-150.
3. **AYALON, N.**, A review of embryonic mortality in cattle. 3a. ed., Wisconsin- EEUU., Edit. Reprod Fertility., 1978., P.p. 483-493.
4. **BAUMAN, D.**, Bovine somatotropina Review of an emerging animal technology., 2a. ed., Jersey-Inglaterra., Edit. Dairy Science., 1992., P.p. 3432- 3451.
5. **BEARDEN, H. y FUQUAY, J.**, Reproducción Animal Aplicada., 2a. ed. México – México,. Edit. El manual moderno., 1982., P. 171.
6. **BUTLER, W.**, Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle., 2a. ed., Jersey-Inglaterra., Edit. Animal Reprod. Sci., 2000., P.p. 60-61,449-457.

7. **BUTLER, A.**, Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle., 3a. ed., Amsterdam-Holanda., Edit. Dairy Sci., 1998., P.p. 2533-2539.

ANEXOS

Anexo 1. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de la presencia de celo post tratamiento hormonal, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.

Ha: La Frecuencia de vacas en celo en diferentes periodos de tiempo, no se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales.

Ho: La Frecuencia de vacas en celo en diferentes periodos de tiempo, se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales

a. Presencia de celo a las 24horas

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	0,00	33,33	100,00	66,67				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	100,00	33,33	0,00	66,67				
<i>CIDR- eCG</i>	0,00	33,33	100,00	66,67	300,00	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

b. Presencia de celo a las 36horas

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	37,50	33,33	62,50	66,67				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	12,50	33,33	87,50	66,67				
<i>CIDR- eCG</i>	50,00	33,33	50,00	66,67	32,81	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

c. Presencia de celo a las 48horas

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	87,50	54,17	12,50	45,83				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	0,00	54,17	100,00	45,83				
<i>CIDR- eCG</i>	75,00	54,17	25,00	45,83	180,42	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

Anexo 2. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de frecuencias de la calidad de cuerpo lúteo, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.

Ha: La calidad de cuerpo lúteo, no se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales.

Ho: La calidad de cuerpo lúteo, se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales.

a. Calidadde Cuerpo Lúteo 1

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	37,50	50,00	62,50	50,00				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	87,50	50,00	12,50	50,00				
<i>CIDR- eCG</i>	25,00	50,00	75,00	50,00	87,50	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

b. Calidadde Cuerpo Lúteo 2

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	50,00	37,50	50,00	62,50				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	12,50	37,50	87,50	62,50				
<i>CIDR- eCG</i>	50,00	37,50	50,00	62,50	40,00	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

c. Calidadde Cuerpo Lúteo 3

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	12,50	12,50	87,50	87,50				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	0,00	12,50	100,00	87,50				
<i>CIDR- eCG</i>	25,00	12,50	75,00	87,50	28,57	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

Anexo 3. Prueba de hipótesis según X^2 , para el contraste de la Tasa de Concepción, en vacas Brown Swiss, sometidas a diferentes protocolos de sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo.

Ha: La tasa de concepción, no se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales.

Ho: La tasa de concepción, se distribuye equitativamente en los diferentes grupos experimentales.

TRATAMIENTO HORMONAL	POSITIVOS		NEGATIVOS		X^2 Calc	GL	X^2 Tab 0,05	X^2 Tab 0,01
	VO	VE	VO	VE				
<i>Norgestomet - eCG</i>	87,50	87,50	12,50	12,50				
<i>Norgestomet - GnRH</i>	100,00	87,50	0,00	12,50				
<i>CIDR- eCG</i>	75,00	87,50	25,00	12,50	28,57	5	11,1 *	15,1**
CONCLUSION:	Ho: Rechazada							

Anexo 4. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-eCG* versus *Norgestomet-GnRH*.

a. Perfiles de LH plasmático

PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN PARA IATF		
<i>Norgestomet - eCG</i>	<i>Norgestomet - GnRH</i>	<i>CIDR- eCG</i>
30,59	31,51	26,68
26,45	30,59	27,37
30,13	32,20	26,45
30,36	31,28	27,60
30,36	31,97	27,37
30,13	31,74	28,06
29,67	30,36	27,83
29,90	31,74	29,67

b. Contraste Student

<i>Estadístico</i>	<i>Norgestomet - eCG</i>	<i>Norgestomet - GnRH</i>
Media	29,70	31,42
Varianza	1,81	0,42
Observaciones	8	8
Coeficiente de correlación	0,59	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	-4,47	
P(T<=t) una cola	0,00	**
Valor crítico de t (una cola)	1,89	
P(T<=t) dos colas	0,00	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36	

Anexo 5. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-eCG* versus *CIDR-eCG*.

a. Perfiles de LH plasmático

PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN PARA IATF		
<i>Norgestomet - eCG</i>	<i>Norgestomet - GnRH</i>	<i>CIDR- eCG</i>
30,59	31,51	26,68
26,45	30,59	27,37
30,13	32,20	26,45
30,36	31,28	27,60
30,36	31,97	27,37
30,13	31,74	28,06
29,67	30,36	27,83
29,90	31,74	29,67

b. Contraste Student

<i>Estadístico</i>	<i>Norgestomet - eCG</i>	<i>CIDR- eCG</i>
Media	29,70	27,63
Varianza	1,81	0,97
Observaciones	8	8
Coeficiente de correlación	-0,012	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	3,49	
P(T<=t) una cola	0,01	**
Valor crítico de t (una cola)	1,89	
P(T<=t) dos colas	0,01	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36	

Anexo 6. Contraste t Student, para los perfiles de LH plasmático, en vacas Brown Swiss, sometidas a sincronización del estro para inseminación artificial a tiempo fijo, con el uso de *Norgestomet-GnRH* versus *CIDR-eCG*.

a. Perfiles de LH plasmático

PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN PARA IATF		
<i>Norgestomet - eCG</i>	<i>Norgestomet - GnRH</i>	<i>CIDR- eCG</i>
30,59	31,51	26,68
26,45	30,59	27,37
30,13	32,20	26,45
30,36	31,28	27,60
30,36	31,97	27,37
30,13	31,74	28,06
29,67	30,36	27,83
29,90	31,74	29,67

b. Contraste Student

<i>Estadístico</i>	<i>Norgestomet - GnRH</i>	<i>CIDR- eCG</i>
Media	31,42	27,63
Varianza	0,42	0,97
Observaciones	8	8
Coefficiente de correlación	-0,078	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	8,77	
P(T<=t) una cola	0,00	**
Valor crítico de t (una cola)	1,89	
P(T<=t) dos colas	0,00	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36	