

01669



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

"EFECTO DE LA APLICACION DE LA HORMONA
LIBERADORA DE GONADOTROPINAS A VACAS
HOLSTEIN DURANTE LA FASE LUTEA EN
COMBINACION CON PROSTAGLANDINA F2 α
SIETE DIAS DESPUES SOBRE LA DINAMICA
FOLICULAR Y LA PRESENTACION DEL ESTRO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL:

REPRODUCCION

P R E S E N T A :

MVZ MIGUEL ANGEL QUIROZ MARTINEZ



ASESORES

MVZ MPA DPA JOEL HERNANDEZ CERON

MVZ MPA ANTONIO PORRAS ALMERAYA

MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mi esposa y a mi hijo, por que hemos formado una familia muy hermosa

A mis padres, por su apoyo y cariño

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis asesores Joel Hernández y Antonio Porras, por todo el tiempo invertido para la realización de este trabajo

A las Doctoras Clara Murcia y Susana Rojas por la realización de las pruebas de laboratorio

Al CONACYT por haberme apoyado con una beca para la realización de mis estudios

A los miembros del jurado revisor de tesis, Dr. Javier Valencia, Dr. Arturo Olguin, Dr. Luis Zarco, Dr. Joel Hernández y Dr. Salvador Romo, por sus acertados comentarios

Al Sr. Gabriel Suarez Marina, propietario del Rancho San Sebastian y al personal del CEPIER

A todos los que de una u otra forma colaboraron para mi formación y la culminación de este trabajo

LISTA DE CONTENIDO

	Página
Resumen.....	1
I Introducción.....	2
II Objetivos.....	4
III Revisión de literatura	
a) Ciclo estral.....	5
b) Desarrollo folicular.....	7
c) Control artificial del ciclo estral.....	10
IV Material y Métodos	
a) Experimento A.....	15
b) Experimento B.....	17
V Resultados.....	19
VI Discusión.....	22
VII Literatura citada.....	26
VIII Figuras.....	33

RESUMEN

QUIROZ MARTINEZ MIGUEL ANGEL. Efecto de la aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas a vacas Holstein durante la fase lútea, en combinación con Prostaglandina F2 α siete días después, sobre la dinámica folicular y la presentación del estro. Bajo la supervisión de MVZ MPA, DPA Joel Hernández Corón y MVZ MPA Antonio Porras Almeraya.

Con la finalidad de observar el efecto de la aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), seguida siete días después por la aplicación de prostaglandina F2 α (PGF2 α) sobre la población folicular y el tiempo a la presentación del estro, se realizaron dos experimentos: el experimento A tuvo como objetivo determinar el efecto del tratamiento con GnRH (Cystorelin, Lab. Sanofi, México) más PGF2 α (HormoPGF2 α , Lab. Sanofi, México) siete días después durante diferentes etapas del diestro, sobre el desarrollo folicular y la duración de la fase lútea. Se utilizaron 8 vaquillas Holstein, el tratamiento se llevó a cabo en los mismos animales durante tres ciclos estrales y en diferentes etapas del diestro (temprano: día 8, medio: día 12 y tardío: día 16). Se realizó un estudio ultrasonográfico de los ovarios cada tercer día a partir del momento de la administración de la GnRH hasta la presentación del estro. Se registró la presencia de los folículos grandes y su posterior cambio a consecuencia de la GnRH. De las 8 vaquillas, se encontraron 6 con folículos grandes en el diestro temprano, en 3 de ellos se produjo atresia (50%), en 2 luteinización (33.3%) y 1 formó un cuerpo lúteo secundario (16.6%). En el diestro medio se identificaron 3 vaquillas con folículos grandes, 2 sufrieron atresia (66.6%) y 1 se mantuvo sin cambios (33.3%), mientras que en el diestro tardío se detectaron 7 vaquillas con folículos mayores, de los cuales en 3 se provocó atresia (42.8%), 1 se luteinizó (14.2%), 2 formaron un cuerpo lúteo secundario (28.5%) y 1 se mantuvo sin cambios (14.2%). Además, cada 24 horas, a partir de la aplicación de la GnRH y hasta la aplicación de la PGF2 α , se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de los niveles plasmáticos de progesterona. Se encontraron concentraciones basales (<1ng/ml) en 3 vaquillas de diestro medio y en 4 del diestro tardío el día de la administración de la PGF2 α , las vaquillas restantes tuvieron un cuerpo lúteo funcional (P4>1ng/ml) lo que indica que este tratamiento no garantiza que las vacas seleccionadas solo por la presencia de un cuerpo lúteo a la palpación rectal y tratadas con GnRH tengan un cuerpo lúteo funcional siete días después. Para evaluar el efecto del tratamiento con la GnRH y de la PGF2 α sobre la proporción de vacas en estro y el tiempo de presentación del mismo, se realizó el experimento B donde se seleccionaron 149 vacas Holstein con 50 días postparto, clínicamente sanas y que presentaban un cuerpo lúteo a la palpación rectal. Al momento de la palpación del cuerpo lúteo las vacas se dividieron en dos grupos: el grupo tratado estuvo constituido por 67 vacas, las cuales recibieron 100 μ cg de un análogo de la GnRH y siete días después se les administraron 25 mg de PGF2 α natural. El segundo grupo estuvo formado por 82 vacas que fueron tratadas únicamente con PGF2 α al palpar un cuerpo lúteo, sirviendo como grupo testigo. Se detectó el estro en dos periodos de tres horas, uno en la mañana y otro en la tarde, durante las 144 horas siguientes a la administración de PGF2 α , se consideró el inicio del estro cuando la vaca se dejó montar por primera vez. No se observaron diferencias estadísticas (P >0.05) en la proporción de vacas en estro entre los grupos testigo y tratado (75 y 67% respectivamente). Asimismo, no se encontraron diferencias estadísticas (P >0.05) en el intervalo del tratamiento con PGF2 α a la presentación del estro en ambos grupos (69.6 \pm 3.82 h vs 72.96 \pm 2.65 h grupos tratado y testigo respectivamente [media \pm error estándar]). Se concluye que la administración de la GnRH durante el diestro elimina el folículo grande; sin embargo, no alarga la fase lútea en todos los animales tratados. Además, la administración de GnRH en combinación con PGF2 α siete días después no mejora el porcentaje de vacas en estro ni disminuye el intervalo a la presentación del mismo.

Palabras clave: GnRH, sincronización, bovinos

INTRODUCCION:

Las metas reproductivas contempladas para el ganado bovino lechero son, entre otras, el reinicio de la actividad ovárica dentro de la tercera semana posparto, para que las vacas queden gestantes antes de 90-100 días y así tener intervalos entre partos de 12 a 13 meses (Brown, 1985). Para alcanzar estas metas es necesario diseñar programas reproductivos eficientes, muchos de los cuales se basan en la regulación del ciclo estral y la ovulación, para así poder implementar sistemas de inseminación artificial (Belschner, 1986).

En general, se han desarrollado dos métodos para el control del ciclo estral en bovinos, uno de ellos consiste en acortar la vida media del cuerpo lúteo provocando su regresión mediante la administración de sustancias luteolíticas para lo cual se utiliza la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) o sus análogos sintéticos (Rowson *et al.*, 1972). El otro método es simulando la presencia de un cuerpo lúteo funcional mediante la administración de progesterona o análogos sintéticos de la misma (Kaim *et al.*, 1990).

Las prostaglandinas son derivados del ácido araquidónico compuestas por cadenas de veinte carbonos de ácidos grasos no saturados. La $PGF_{2\alpha}$ causa la lisis del cuerpo lúteo en el bovino, por lo que su administración exógena se usa principalmente para lograr la sincronización del estro y la posterior ovulación (Scaramuzzi *et al.*, 1980, Porras y Galina, 1991).

Aplicada entre los días 5 y 16 del ciclo estral, la $PGF_{2\alpha}$ ocasiona la regresión del cuerpo lúteo, conduciendo por lo tanto a una disminución de las concentraciones plasmáticas de progesterona, a menos de 1ng/ml durante las primeras 36 horas posteriores a la inyección (Odde, 1990, Coleman *et al.*, 1991). Se ha encontrado que entre el 50 y el 60% de las vacas tratadas manifiestan el estro dentro de los primeros cinco días posteriores a la aplicación (King *et al.*, 1982, Ortiz *et al.*, 1988, Odde, 1990, Méndez, 1995). Sin embargo, se ha visto que el tiempo de respuesta varía según el día del diestro en que se aplique la prostaglandina, encontrándose que esta variación depende principalmente de la población folicular presente en el momento de dicha aplicación (Refsal y Seguin, 1980, Tanabe y Hann, 1984, Stevenson *et al.*, 1984a). Esta variabilidad ha limitado en cierta forma la utilización de la inseminación artificial a tiempo fijo, ya

que algunas hembras bajo este esquema son inseminadas en forma temprana o tardía, disminuyéndose la fertilidad (Momont y Seguin, 1984a, Zarco, *et al.* 1985, Stevenson *et al.* 1987).

En estudios más especializados, se ha encontrado que las hembras tratadas con PGF2 α durante el diestro temprano presentan un tiempo promedio de respuesta más corto en comparación con las que fueron tratadas durante el diestro tardío. King *et al.* (1982) encontraron que novillas inyectadas en la etapa temprana del ciclo tuvieron un intervalo al estro más corto (47.6 ± 1.4 horas) que aquellas tratadas en la etapa tardía del diestro (59.7 ± 1.4 horas). De igual forma Momont y Seguin (1984b) observaron una mejor sincronización en vacas tratadas con PGF2 α en el diestro temprano, que en las tratadas en el diestro tardío. García *et al.* (1992) obtuvieron una mejor manifestación estral si al momento de aplicar la PGF2 α existía un folículo de 10 mm en promedio. En otro experimento, Zarco *et al.* (1985) encontraron que cuanto más avanzado sea el desarrollo folicular al momento del tratamiento con PGF2 α menor será el tiempo que transcurre hasta el inicio del estro y éste se presentará entre las 60 y 96 horas posttratamiento.

Lo anterior, ha motivado que se estudie la manera de manipular la población folicular con el fin de lograr una respuesta homogénea al aplicar la PGF2 α . Villa-Godoy *et al.* en 1981 observaron que durante el diestro, al hacer la eliminación física de los folículos mediante su cauterización, prolongaba la fase lútea, más adelante se vió que algunas hormonas modificaban la población folicular, como es el caso de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Lucy *et al.* 1992a, Bo *et al.* 1995). La administración parenteral de GnRH provoca un pico de hormona luteinizante (LH) en vacas adultas, ocasionando cambios en los folículos ováricos presentes en ese momento (Leslie, 1983, Sirois and Fortune 1988, McDougall *et al.* 1995). Se ha observado que al aplicar este tratamiento durante el diestro se reduce el número de folículos grandes, al provocarles luteinización, atresia u ovulación (Macmillan y Thatcher, 1991, Wolfenson *et al.* 1994). Esta inactivación de los folículos grandes provoca el reclutamiento de folículos de tamaño medio, lo que finalmente conduce a una mayor homogeneidad de la población folicular entre las vacas al momento de provocar la luteólisis con PGF2 α seis días después, de manera que la respuesta a la sincronización es más precisa,

presentándose los estros en un rango de tiempo menor (Kastelic *et al.* 1990, Macmillan y Thatcher, 1991; Bo *et al.* 1995).

Este método nuevo de sincronización también se basa en el efecto que tiene el tratamiento con GnRH sobre la longitud de la fase lútea; así se ha observado que la administración de la GnRH durante el diestro tardío (días 12-15) retrasa el inicio de la luteólisis. Esto se logra mediante la eliminación de la fuente de estradiol, al provocar luteinización de los folículos (Wolfenson *et al.*, 1994) Los resultados obtenidos por Twagiramungu *et al.*, (1992) coinciden con los anteriormente señalados, en este estudio la aplicación de la GnRH durante el diestro tardío resultó en la completa inhibición del estro y la ovulación durante los seis días siguientes a la aplicación de la GnRH; las vacas seleccionadas al azar solo por la palpación rectal de un cuerpo lúteo lo mantuvieron seis días después del tratamiento con GnRH y por lo tanto fueron sensibles al efecto de la PGF_{2α}. Así mismo obtuvieron una alta tasa de sincronización (83.3%), observándose que el tiempo a la presentación de estros se redujo, posiblemente por que al momento de aplicar la PGF_{2α} ya se había desarrollado un nuevo folículo dominante a raíz del tratamiento previo con GnRH.

OBJETIVOS

- 1.- Evaluar las modificaciones en la población folicular, a consecuencia de la aplicación de la GnRH en diferentes etapas del diestro, a través de un estudio ultrasonográfico, en vaquillas Holstein.
- 2.- Medir los niveles de progesterona para evaluar si el cuerpo lúteo es funcional el día de la administración de PGF_{2α} en vaquillas que fueron tratadas con GnRH siete días antes, durante el diestro tardío.
- 3.- Evaluar si se prolonga la vida funcional del cuerpo lúteo, al aplicar GnRH durante el diestro tardío, midiendo los niveles plasmáticos de progesterona.

4.- Evaluar el efecto de la GnRH, administrada a vacas Holstein seleccionadas por la palpación rectal de un cuerpo lúteo, más la aplicación de PGF 2α siete días después, sobre el porcentaje de vacas que presentaron calor y sobre el tiempo a la presentación del estro.

REVISION DE LITERATURA

Ciclo estral

El comportamiento del ciclo estral y su regulación endócrina, se ha descrito extensamente en el ganado bovino. Los ciclos estrales en vacas ocurren aproximadamente cada 21 días. Se ha dividido al ciclo estral de acuerdo a la morfología del ovario y a los cambios en la conducta en cuatro fases: estro, metaestro, diestro y proestro. Sin embargo debe considerarse que los cambios conductuales, funcionales y morfológicos durante el ciclo estral, son consecuencia de una regulación integral alcanzada entre el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el útero. (Morrow, 1986).

ESTRO: Se considera como el día cero del ciclo y se caracteriza por ser el periodo de receptividad sexual. Su duración aproximada es de 18 h en ganado europeo (Allrich, 1993) y 12 h en cebuino (Galina *et al*, 1987). En esta etapa la producción de estrógenos alcanza su nivel máximo, ocasionando la manifestación de los signos de celo, así como la turgencia y el tono uterino. Por otro lado aproximadamente 2 horas después de iniciado este periodo se alcanza el pico preovulatorio de la hormona luteinizante (LH) (Zarco y Hernández, 1996).

METAESTRO: Se inicia con el fin de la conducta estral, tiene una duración de 4 a 5 días y se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo (CL). El bovino es la única especie que ovula cuando se encuentra en la fase de metaestro, ocurriendo ésta aproximadamente 30 h después de iniciado el estro (Zarco y Hernández, 1996). Los niveles de estrógenos y LH descienden en forma rápida, a la vez que se incrementan los de la hormona foliculo estimulante (FSH), presentándose un segundo pico de FSH. Este aumento en los niveles de FSH, obedece a la supresión de la retroalimentación negativa ejercida por la inhibina y con esto se inicia el reclutamiento de los folículos que dará origen a la primera onda folicular. Conforme el CL alcanza su madurez, la

progesterona supera la concentración sanguínea de 1ng/ml y se considera finalizado el metaestro, iniciándose el diestro (Hansel y Convey, 1983).

DIESTRO: Tiene una duración promedio de 12 días. Durante este periodo se desarrolla la máxima actividad lútea. Además se caracteriza por presentar oleadas foliculares y por lo tanto incrementos y decrementos de FSH, estrógenos e inhibina. Aproximadamente, en el día 16 del ciclo se inicia la secreción pulsátil de la prostaglandina $F2\alpha$, lo cual ocasionará la regresión del CL y con ello la caída de la progesterona y la finalización de esta etapa (Cupps, 1991).

Para que se lleve a cabo la secreción pulsátil de prostaglandinas, se requiere una previa exposición del útero, por lo menos 10 días antes, a progesterona y a estrógenos (Hansel y Convey, 1983). A la vez, la cantidad de receptores de prostaglandinas en el cuerpo lúteo va en aumento hasta alcanzar su nivel máximo en el día 18 del ciclo (Wakeling y Green, 1981)

PROESTRO: Inicia cuando los niveles de progesterona descienden a menos de 1ng/ml y puede durar de 3 a 4 días. Se caracteriza por el crecimiento del folículo preovulatorio, ocasionado por el incremento en los niveles de LH y FSH (Day, 1984; Findlay *et al*, 1992).

Antes de la secreción preovulatoria de gonadotropinas, los estrógenos se empiezan a incrementar conjuntamente con el inicio y crecimiento acelerado del folículo preovulatorio. Los incrementos perceptibles y sostenidos de estrógenos no ocurren sino hasta que los niveles de progesterona han empezado a disminuir debido a que ésta ejerce una retroalimentación negativa en el hipotálamo y/o hipófisis que reduce la liberación de gonadotropinas (Peterson *et al*, 1975). La supresión de la retroalimentación negativa durante la regresión del cuerpo lúteo da como resultado que se eleven las concentraciones de LH (Chenault *et al*, 1975), con un patrón de secreción caracterizado por pulsaciones de alta frecuencia y baja amplitud (Rahe *et al*, 1980)

Aunque el crecimiento folicular puede ser estimulado por la hormona folículo estimulante (FSH), la combinación de FSH y LH ha mostrado inducir la máxima biosíntesis de estrógenos. Entonces ambas gonadotropinas influyen tanto en el crecimiento folicular como en la producción de estrógenos (Drost y Thatcher, 1992).

Los estrógenos son capaces de ejercer un efecto inhibitorio en la secreción de FSH, justo antes del flujo preovulatorio de gonadotropinas, cuando los niveles de estrógenos son más altos

(Morrow, 1986). La máxima producción folicular de estrógenos ocasiona el comportamiento estral y desencadena la liberación preovulatoria de LH Y FSH por la hipófisis anterior. Los estrógenos actúan incrementando la secreción pulsátil de la GnRH por el hipotálamo y aumentando la sensibilidad de la pituitaria a la GnRH (Benmrad y Stevenson, 1986). Ambos factores son esenciales para producir el pico preovulatorio de LH y FSH. Además, se deben mantener niveles basales de progesterona para que los estrógenos puedan ejercer una retroalimentación positiva (Hansel y Convey, 1983). Los niveles altos de progesterona eliminan la acción de los estrógenos sobre la inducción del estro y el pico de gonadotropinas.

El pico de LH y FSH ocurre cerca del inicio del estro y dura de 8 a 10 horas. Durante e inmediatamente después del pico preovulatorio, la producción folicular y los niveles circulantes de estrógenos declinan rápidamente mientras se lleva a cabo la luteinización del folículo ovulatorio. Durante el metaestro (días 1 a 3), las concentraciones plasmáticas de estrógenos, progesterona y LH permanecen bajos. Sin embargo una segunda elevación en la concentración de FSH de menor magnitud que las primeras, ocurre justo antes de la ovulación, como resultado de la reducción en la producción de inhibina durante el proceso ovulatorio. Esta FSH puede influenciar el reclutamiento de folículos preantrales (Hansel y Convey, 1983).

La ovulación ocurre en el primer día del ciclo estral, aproximadamente 24 a 30 horas después del pico preovulatorio de LH y FSH. Después de la ovulación, el CL se desarrolla y las concentraciones plasmáticas de progesterona se elevan de 1ng/ml en el día 5 después del estro, a un rango de 3 a 7ng/ml entre los días 7 al 18. Durante la fase lútea, la secreción de LH se vuelve a modificar en respuesta a las concentraciones de hormonas esteroides, presentándose pulsos de LH de baja frecuencia y alta amplitud (Rahe *et al*, 1980).

DESARROLLO FOLICULAR

Desde el punto de vista hormonal, el proceso de desarrollo folicular comprende dos etapas: la basal, que puede ser llevada a cabo aunque sea en parte en ausencia de gonadotropinas y la etapa tónica, la cual depende del aporte de gonadotropinas (Matton *et al*, 1981; Hirshfield, 1991).

En relación a la segunda etapa, las gonadotropinas pueden actuar sobre el crecimiento y la estructura folicular en cuatro formas: 1.- modificando la multiplicación celular. 2.- modificando el crecimiento del ovocito. 3.- induciendo el desarrollo del antro folicular. 4 - provocando que deje de ser un folículo de reserva e inicie su crecimiento (Mariana, 1980; Seidel y Niswender, 1980)

Se ha comprobado que las gonadotropinas intervienen en la formación antral, por ejemplo, en animales tratados con gonadotropinas se provoca que el antro folicular aparezca más temprano en el desarrollo y que estos folículos tengan un antro más desarrollado en comparación con los no tratados (Hirshfield, 1991; Adams, 1993a).

Las gonadotropinas provocan que los folículos con menos de cuarenta células continúen su desarrollo e inducen un incremento en el índice de crecimiento y en la protección de los folículos contra la atresia (Mariana, 1980).

El primer evento que ocurre es el reclutamiento, el cual consiste en la estimulación de un conjunto (onda) de folículos, de entre los cuales surgirá el que llegará a ovular (Ginther *et al.* 1989a; Savio *et al.* 1990; Adams, 1993b). Para que un folículo pueda ser reclutado y prosiga con su desarrollo, debe haber alcanzado la etapa de dependencia de gonadotropinas, la cual se obtiene cuando los folículos del bovino tienen aproximadamente 4-5 mm de diámetro (Driancourt, 1991). Se considera que en el caso de los bovinos se reclutan de 5 a 6 folículos, bajo niveles basales de gonadotropinas, en especial de FSH (Lucy *et al.* 1992b). Es importante considerar que la LH juega un papel importante en el reclutamiento folicular, como se ha demostrado al aplicar GnRH o sus análogos durante el diestro, modificándose la población folicular en los ovarios y aumentándose el número de folículos medianos presentes cinco días después del tratamiento (Macmillan y Thatcher, 1991).

Una vez reclutada cierta cantidad de folículos, se realiza la selección del folículo dominante, por interferencia del folículo más grande de ese grupo, sobre el aporte de gonadotropinas a los folículos pequeños. Se han descrito dos mecanismos posibles para que se desarrolle esta relación: el indirecto, en el que el folículo más grande inhibe el crecimiento del resto, produciendo sustancias como la inhibina y el estradiol, que actúan sobre la hipófisis reduciendo la secreción de FSH a niveles insuficientes para los folículos pequeños (Beard *et al.*

1989; Larson *et al*, 1991) y el directo, a través de la secreción de factores parácrinos que reducen la sensibilidad de los folículos pequeños a la FSH (Rothschuh *et al*, 1987). El factor de crecimiento epidérmico (EGF) actúa sobre los folículos pequeños, reduciendo la capacidad de aromatización de las células de la granulosa mientras que la activina y el EGF actúan sobre las células de la teca interna reduciendo la síntesis de andrógenos. Este folículo seleccionado ejercerá dominancia sobre el resto de los folículos. La dominancia se refiere al crecimiento selectivo de un folículo y a la atresia que éste provoca en los demás (Roche, 1991). El folículo dominante es más sensible a las gonadotropinas que los demás folículos, por lo que no sufre atresia a pesar de provocar con sus secreciones una reducción en la secreción hipofisiaria de FSH (Dufour *et al*, 1972). Esto puede ser debido a factores autócrinos, como por ejemplo en el caso del factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF1), el cual se encuentra en mayor concentración en los folículos grandes (Echterkamp *et al*, 1990). El efecto estimulador del líquido folicular, la FSH, el estradiol y la hormona del crecimiento sobre las células de la granulosa está mediado cuando menos en parte por el IGF1 (Mondschein, 1989). De hecho el IGF1 parece ser más importante en la diferenciación celular que en la multiplicación celular. Los estrógenos producidos por el folículo interactúan con la FSH para que se produzca más IGF1, ocasionando que este aumento aunado a la mayor receptividad de las células de la granulosa para IGF1, eleve el poder aromatizante, facilitándose la aparición de receptores para LH en las células de la granulosa. La ventaja de tener receptores para LH cuando hay bajos niveles de FSH circulantes, radica en que ambas hormonas actúan a través del AMP cíclico (Driancourt, 1991). Por otro lado, los niveles bajos de FSH ocasionados por la producción de inhibina en el folículo dominante, además de los efectos de la folistatina y otros factores parácrinos como las prostaglandinas y la angiotensina, sustancias con actividad parecida a la renina y pro-renina, actúan disminuyendo el flujo sanguíneo hacia los folículos menos desarrollados, provocando inevitablemente atresia en ellos (Murphy *et al*, 1991).

Hirshfield (1991) propone que la atresia se da en folículos menores que están en crecimiento, cuando las células de la granulosa se encuentran en la fase de mayor replicación y necesitan el mayor aporte de oxígeno y de nutrientes. Esta situación, aunada al engrosamiento de sus paredes, les causa una insuficiencia de oxígeno y el folículo no podrá superar esta fase a

menos que tenga el suficiente aporte de oxígeno para sobrellevar este momento crucial. Sin embargo puede ser que la FSH habilite a las células de la granulosa para sobrevivir en condiciones hipóxicas. Una vez que superó la fase hipóxica, el folículo dominante ya no requiere de niveles altos de FSH. Un mecanismo por el que el folículo puede sobreponerse a estas condiciones adversas es mediante la producción de factores mitogénicos y androgénicos por las células de la granulosa del folículo preovulatorio (Redmar *et al*, 1991).

Durante el ciclo estral existen complejas interacciones hipotálamo-hipofisarias que pueden modificar el curso de la foliculogénesis. En el periodo proéstrico, las concentraciones de estradiol en la circulación general aumentan, alcanzando su pico en el estro. La LH aumenta después de la caída de la progesterona y del cese de la retroalimentación negativa que ésta ejerce (Hansel y Convey, 1983).

En el ganado bovino el crecimiento folicular está bien controlado, ocurriendo ovulaciones sencillas en el 95% de los casos (Macmillan y Henderson, 1984). Recientemente se demostró que ocurren tres ondas de crecimiento folicular durante cada ciclo estral. La primera onda folicular ocurre temprano en el ciclo y es la responsable del pico característico de estradiol que ocurre alrededor del día 8 del ciclo estral. La segunda onda folicular ocurre 15 a 17 días después del estro y es importante para iniciar la luteólisis. La tercera onda ocurre durante el proestro y es la que finalmente conduce al folículo ovulatorio (Fortune *et al*, 1991). La alteración experimental del desarrollo folicular durante la mitad de la fase lútea del ciclo, retrasa la regresión del cuerpo lúteo, debido probablemente a una disminución en la secreción de estrógenos, que son necesarios para la regulación de la secreción de prostaglandinas (Macmillan *et al*, 1985a; Bo *et al*, 1995).

CONTROL ARTIFICIAL DEL CICLO ESTRAL

Dentro de la reproducción de los bovinos, uno de los aspectos que ha recibido mucha atención es la regulación del control del estro y la ovulación para poder implementar programas más eficientes de inseminación artificial y así acelerar el mejoramiento genético e incrementar la productividad (Adams, 1994; Jöchle, 1995).

Primordialmente han sido dos los métodos utilizados para el control del ciclo estral en los bovinos. El primero de ellos se basa en la utilización de progestágenos, los cuales son sustancias que simulan la vida funcional del cuerpo lúteo, lo que ocasiona un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de las gonadotropinas (Porrás y Galina, 1992).

El segundo se refiere a la utilización de prostaglandinas o sus análogos sintéticos, las cuales reducen la vida media del cuerpo lúteo provocando su regresión. La PGF_{2α}, causa la lisis o regresión del cuerpo lúteo, por lo que ha sido utilizada extensamente para la sincronización del estro y la ovulación (Porrás y Galina, 1991).

La aplicación de la PGF_{2α} entre los días 5 y 16 del ciclo estral, generalmente provoca una disminución en la concentración de progesterona hasta menos de 1ng/ml durante las primeras 24 horas posteriores a su inyección (Hafs *et al*, 1975; Moreno *et al*, 1986). Esta reducción en los niveles de progesterona ocasiona un incremento en los niveles de estradiol y de LH, de manera que a los 2 a 5 días se presentará el estro y un pico de gonadotropinas que finalmente conducen a la ovulación (Beal *et al*, 1988; Thatcher *et al*, 1989; Méndez, 1995)

De esta manera, las vacas sincronizadas con prostaglandinas presentan el estro dentro de los cinco días siguientes a su aplicación (Porrás y Galina, 1991; Hernández *et al*, 1994). Sin embargo, el rango de respuesta es muy amplio ya que va desde 50 hasta 93% de las vacas presentando estro (Watts y Fuquay, 1985). Se han hecho numerosos estudios para conocer las causas de esta variación, encontrándose que intervienen uno o varios de los siguientes factores: la etapa del diestro en que se aplica la prostaglandina, ya que el cuerpo lúteo solo es susceptible a éstas después del día 6 del ciclo estral, cuando ya se han formado receptores específicos y hasta el día 16 del ciclo (Thatcher *et al*, 1989). De cualquier manera, aún aplicada entre estos días se ha observado cierta variación en la respuesta, debido a otros factores como la edad de las vacas, época del año, condición corporal, precisión al momento de palpar el cuerpo lúteo, etc. (Graves *et al*, 1985; Gaines *et al*, 1989). Un factor que ha sido estudiado intensamente es la etapa del diestro en que se aplica el tratamiento, situación que está íntimamente ligada al estado de la población folicular al momento de aplicar la prostaglandina (Zarco *et al*, 1985; Twagiramungu *et al*, 1992; Fortune *et al*, 1993).

La GnRH es un decapeptido sintetizado en los cuerpos celulares de las neuronas neurosecretoras localizadas en la zona mediobasal del hipotálamo y secretada por la red capilar primaria de la eminencia media (Stevenson *et al*, 1984b; Thibier, 1988). La GnRH es la responsable de la liberación de LH y de FSH por la pituitaria (Thatcher *et al*, 1993).

La administración de GnRH durante el ciclo estral sincroniza el desarrollo folicular debido a la ovulación y luteinización del folículo dominante presente en ese momento, ocasionando el subsecuente reclutamiento y selección de un nuevo folículo dominante en un lapso de 7 días (Twagiramungu *et al*, 1992). La inyección de GnRH en el diestro, seguida de la inyección de PGF 2α a los 6 ó 7 días parece ser un sistema de sincronización de estros en donde se sincronizan tanto el desarrollo folicular como la regresión del cuerpo lúteo, obteniéndose una buena fertilidad en el estro inducido.

Macmillan y Thatcher en 1991 encontraron que al aplicar GnRH durante el diestro, el efecto sobre la población folicular duraba de 4 a 6 días, produciendo luteinización u ovulación de los folículos presentes y por tanto sincronizando su desarrollo. La ovulación fue observada sobre todo cuando se encontraba un folículo mayor. Estos mismos autores evaluaron el efecto de una sola inyección de un análogo de la GnRH, sobre las características de los folículos ováncos en vacas y vaquillas, cuando se aplicaba entre los días 11 y 13 del ciclo. El número total de folículos no se alteró, sin embargo varios de ellos se luteinizaron. Estos cambios se detectaron desde el día 13, pero fueron mayores los días 14 al 16. La población folicular se normalizó para el día 18 a 20, indicando que el efecto del tratamiento dura de 4 a 6 días. Para el día 20 un folículo grande había crecido, convirtiéndose en el folículo ovulatorio en todas las vacas tratadas. Cuando al momento del tratamiento existían folículos mayores, en algunos se produjo la ovulación. Un comportamiento similar de la población folicular fue reportado por Guilbault *et al* en 1991.

Se tiene evidencia de que los estrógenos producidos primariamente por el desarrollo de un folículo antral, inician el proceso de regresión lútea durante el diestro tardío, a través de la inducción de la producción uterina de PGF 2α (Ginther *et al*, 1989b). La administración exógena de estrógenos inicia la luteólisis en las vacas, además de que estimula la producción uterina de PGF 2α , durante el diestro tardío (Thatcher y Collier, 1985). De manera inversa la remoción de los

foliculos ováricos ocasiona que se prolongue la fase lútea (Villa-Godoy *et al.*, 1981). El proceso de luteinización prematura puede alterar la integridad funcional de las células de la teca y de la granulosa en un folículo en desarrollo, incluyendo su potencial para producir estradiol (Macmillan y Thatcher, 1991). Rettmer *et al.* en 1992 demostraron que al inyectar GnRH entre los días 11 y 13 del ciclo estral, modificaban la producción de estradiol folicular durante 7 días. Al quitar los folículos y eliminar así la fuente de estradiol, la fase lútea se prolonga (Villa-Godoy *et al.*, 1981, Macmillan *et al.*, 1985b).

Estos resultados indican claramente que el desarrollo y la función folicular pueden ser alterados a través de la administración de GnRH o sus análogos sintéticos, durante la fase lútea del ciclo estral.

Al programar el desarrollo folicular con una aplicación de GnRH o sus análogos se dió la base para desarrollar un sistema de sincronización en el que se controlaba tanto el desarrollo folicular como la regresión del cuerpo lúteo (Thatcher *et al.*, 1989). En este experimento se trataron vaquillas con GnRH y siete días después se les aplicó una dosis de PGF 2α , observando que se incrementó el número y precisión en la presentación de estros de los animales sincronizados, cuando se comparó con vacas que solo recibieron PGF 2α . En otro experimento similar se observó que se obtenían mejores resultados si la aplicación de PGF 2α se hacía a los 7 días después de la aplicación de GnRH, comparándolo con la aplicación de PGF 2α , 8 días después. Durante los seis días siguientes a la aplicación de la GnRH, virtualmente toda la actividad estral permanece bloqueada debido ya sea a la luteinización o atresia de los folículos existentes, o a una inducción forzada de la ovulación. Para el día 7 después de la inyección de la GnRH, se encuentran nuevos folículos reclutados y un cuerpo lúteo sensible a las prostaglandinas (Thatcher 1993). Bajo este esquema se encontró que la tasa de concepción en vaquillas tratadas era de 61.9% contra 56.5% de las controles.

Muchos trabajos indican que un intervalo de 6 ó 7 días entre la aplicación de GnRH y la prostaglandina es un buen sistema de sincronización en el que se obtiene una mejor fertilidad (Coleman *et al.*, 1991; Guilbault *et al.*, 1991; Twagiramungu *et al.*, 1994a), comparándolo con la aplicación de dos inyecciones de PGF 2α con 11 días de diferencia. Guilbault *et al.* en 1991

reportaron que un programa GnRH-PGF2 α con un intervalo de 6 días fue eficiente y no se afectó la fertilidad. Así mismo Patterson *et al* en 1989, mencionan que la sincronización del estro con GnRH seguido de PGF2 α 6 ó 7 días después, es un buen método que reduce la posibilidad de que el estro inducido sea consecuencia de un folículo estrogénico que había sido retenido en el ovario por un periodo considerable de tiempo y que por consecuencia será poco fértil.

MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo el presente estudio se realizaron dos experimentos. el primero de ellos fue para seguir detalladamente, a través del uso de un aparato de ultrasonido los posibles efectos de la GnRH sobre la población folicular, situación que por su complejidad, motivó que se hiciera en un número reducido de animales. El segundo fue para observar el efecto de este tratamiento sobre condiciones reales de campo, pudiéndose realizar en un grupo considerable de vacas, para así poder valorar su posible aplicación práctica.

Experimento A

Se llevó a cabo en el Departamento de Producción Animal: Rumiantes, ubicado en Topilejo, D.F., con una latitud norte de 19°11' una longitud oeste de 99°1' y una altura sobre el nivel del mar de 2760 m. La zona cuenta con una precipitación pluvial anual de 800 a 1200 mm y una temperatura media de 13.7°C, considerándose un clima de tipo semifrío subhúmedo con lluvias en verano (García, 1981).

Se utilizaron 8 vaquillas Holstein con un peso promedio de 300 kg. las hembras se encontraban clínicamente sanas y ciclando regularmente. La alimentación que recibían estuvo integrada por alfalfa henificada, ensilado de maíz y concentrado comercial.

Con el objeto de preparar a las hembras para los tratamientos experimentales se sincronizaron con Norgestomet¹, bajo el siguiente esquema: aplicación de un implante con Norgestomet, subcutáneamente en la cara convexa de la oreja. Nueve días después se retiró el implante, se aplicaron 25 mg de PGF_{2α}² y se detectaron calores, considerándose como el día 0 del ciclo el inicio del estro.

A todas las vaquillas se les aplicó una dosis de 100 µcg de GnRH³ por vía intramuscular y siete días después se les aplicaron 25 mg de PGF_{2α}. Este tratamiento se repitió en los mismos animales en tres ciclos estrales consecutivos. En cada ciclo el tratamiento con GnRH se inició en

¹ SYNCROMATE B, LAB. SANOFI

² HORMOPGF_{2α}, LAB. SANOFI

una etapa diferente, es decir en el diestro temprano (día 8 del ciclo), diestro medio (día 12 del ciclo) y en el diestro tardío (día 16).

Para determinar la presencia y desarrollo de los folículos, se realizó un estudio ultrasonográfico de los ovarios cada tercer día a partir de la administración de GnRH y hasta la presentación del estro, para lo cual se utilizó un equipo de ultrasonido Tokio Keiki LS-1000 con transductor rectal de arreglo lineal y tiempo real de 5.0 Mhz, siguiendo la técnica descrita por Pierson *et al.* (1988). Las imágenes fueron grabadas con una reproductora de video, en formato VHS, para su posterior análisis detallado.

Las definiciones que se consideraron para este trabajo, de acuerdo a Savio *et al.* (1988) son:

- Folículo grande: Aquellos folículos mayores o iguales a 9 mm, presentes al momento de realizar el ultrasonido.
- Atresia: Disminución del tamaño del folículo grande a partir de la aplicación de la GnRH.
- Luteinización: Folículos que a consecuencia de la aplicación de la GnRH, se vuelven más densos, cambiando su ecogenicidad.
- Estructura lútea secundaria: Formación de un cuerpo lúteo secundario o accesorio, a partir de la ovulación de un folículo durante el diestro, debido a la aplicación de la GnRH.

En las tres diferentes etapas del diestro, se determinaron los niveles plasmáticos de progesterona obteniendo muestras de sangre cada 24 horas durante 8 días, a partir de la aplicación de GnRH y hasta la aplicación de PGF_{2α}. Cuarenta y ocho horas después de la aplicación de ésta última se obtuvo una muestra de sangre para determinar si había ocurrido la regresión del cuerpo lúteo. Todas las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción de la vena coccígea utilizando agujas para vacutainer y tubos al vacío con heparina como anticoagulante. Los tubos se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto, durante 10 minutos, para separar el plasma, el cual se envasó en alícuotas individuales y se conservó en congelación a -20°C hasta su análisis. Se utilizó la prueba de radioinmunoanálisis de fase sólida para cuantificar las concentraciones de progesterona, siguiendo la técnica descrita por Pulido *et al.* (1991).

³ CYSTORELIN, LAB. SANOFI

Se consideró que existía un cuerpo lúteo funcional cuando los niveles plasmáticos de progesterona fueron superiores a 1ng/ml al momento de tomar las muestras, y se estimó que hubo luteólisis si los niveles de progesterona plasmática antes de aplicar la PGF_{2α} eran mayores o iguales a 1ng/ml y descendieron a menos de 1ng/ml dentro de las siguientes 48 horas.

La detección de estros se hizo a través de la observación visual de la conducta homosexual de las vacas, considerando como inicio de éste cuando la vaca se dejó montar por primera vez.

En cada etapa del estudio se obtuvo el número de animales que tuvieron un folículo mayor o grande al momento del inicio del tratamiento. Posteriormente, se calculó la proporción de ellos en donde el folículo fue eliminado mediante ovulación, atresia o luteinización.

Experimento B

El segundo trabajo se llevó a cabo en el establo lechero "Ex-Hacienda San Sebastián", el cual se encuentra ubicado en el poblado de Tequixquiac, en el estado de México. El clima de la región es templado húmedo, con lluvias de junio a octubre, con una temperatura media anual de 18°C. La precipitación pluvial anual es de 617.91 mm (García, 1981).

El establo cuenta con 800 vacas aproximadamente, es de tipo intensivo, con las hembras alojadas en diferentes corrales de acuerdo a su producción o estado fisiológico. La alimentación estuvo integrada por alfalfa henificada, ensilado de maíz y concentrado.

Para este experimento, se seleccionaron 149 vacas de la raza Holstein-Friesian, de segundo parto en adelante y que tuvieran más de sesenta días postparto. Un requisito importante fue que tuvieran un cuerpo lúteo presente (etapa de diestro). Se formaron dos grupos, el grupo tratado se integró con 67 vacas que a la palpación rectal presentaron un cuerpo lúteo. A estas se les aplicó una dosis de 100 µcg de GnRH, por vía intramuscular y 7 días después se les aplicó una dosis de 25 mg de PGF_{2α} por la misma vía.

A las hembras del grupo testigo, formado por 82 vacas, se les aplicó únicamente una dosis de 25 mg de PGF_{2α} por vía intramuscular, previa detección de un cuerpo lúteo por vía rectal. Este tratamiento se consideró como testigo, ya que es el que se utiliza rutinariamente en el establo.

Después del tratamiento las vacas regresaron a sus respectivos corrales donde fueron observadas para detectar estros dos veces al día en periodos de 2 horas cada uno (7-9 am y 5-7 pm). Se consideró el inicio del estro cuando la vaca se dejó montar por primera vez.

Las variables de respuesta consideradas fueron: el intervalo entre la inyección de PGF_{2α}, el inicio del estro y el porcentaje de hembras en estro, realizándose un análisis estadístico de T de Student con estos datos (Steel y Torrie, 1980).

RESULTADOS

EXPERIMENTO A

En 6 de las 8 vaquillas que fueron tratadas durante el diestro temprano, al ultrasonido se encontró un folículo grande, con un diámetro promedio de 9.66 ± 1.49 mm. De éstos, en 3 se produjo atresia (50%), en 2 luteinización (33.3%) y en 1 se formó un cuerpo lúteo secundario (16.6%). Durante los siete días posteriores a la inyección de la GnRH en las 8 vaquillas se desarrolló un folículo preovulatorio diferente al folículo grande presente al inicio del tratamiento. En el diestro medio únicamente se identificaron 3 vaquillas con folículos grandes, cuyo diámetro promedio fue de 11.0 ± 1.41 mm, en 2 de ellos se indujo atresia (66.6%) y uno se mantuvo sin cambios (33.3%). Cuando las vaquillas se trataron en el diestro tardío, por la exploración ultrasonográfica se detectaron 7 vaquillas con folículos grandes, con un diámetro promedio de 11.0 ± 1.51 mm, de los cuales 3 sufrieron atresia (42.8%), uno luteinización (14.2%), 2 formaron un cuerpo lúteo secundario (28.5%) y 1 no mostró ningún cambio (14.2%).

En resumen, se encontraron 16 vaquillas con folículos grandes antes de la aplicación de la GnRH, durante los tres ciclos estrales estudiados. En 8 de ellos se produjo atresia (50%), en 3 luteinización (18.7%), en 3 se indujo la ovulación desarrollándose un cuerpo lúteo secundario (18.7%) y 2 no presentaron cambios (12.5%) (cuadro 1).

Al evaluar las diversas muestras de plasma, se observó que 3 vaquillas tratadas en el diestro medio así como 4 del diestro tardío tenían concentraciones basales (menores de 1ng/ml) de progesterona al momento de aplicar la $PGF_{2\alpha}$, indicando la ausencia de un cuerpo lúteo funcional. En las vaquillas restantes se observó que el cuerpo lúteo sí era funcional ($P_4 > 1$ ng/ml) (figuras 1-24)

Todas las vaquillas que tenían un cuerpo lúteo funcional, al aplicarles la $PGF_{2\alpha}$, sufrieron la regresión del cuerpo lúteo, después de dicha aplicación, como puede observarse en las figuras 1 a 24.

CUADRO 1: Efecto del tratamiento con la hormona liberadora de gonadotropinas sobre los foliculos grandes en diferentes etapas del diestro:

Etapas del diestro	No. de vacas con foliculos grandes	Diámetro de foliculos grandes	Atresia	Luteinización	Formación de un CL secundario	Sin cambios
Temprano	6	9.66 ± 1.49	3	2	1	0
Medio	3	11.0 ± 1.41	2	0	0	1
Tardío	7	11.0 ± 1.51	3	1	2	1
Total	16 (100%)		8 (50%)	3 (18.7%)	3 (18.7%)	2 (12.5%)

EXPERIMENTO B

En relación al porcentaje de vacas que presentaron estro en respuesta a la aplicación de la PGF2 α , se observó que en el grupo tratado (67 vacas) fue de 67%, mientras que en el grupo testigo (82 vacas) fue de 75%, encontrándose que bajo el análisis estadístico no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$).

El intervalo de tiempo transcurrido desde la aplicación de la PGF2 α hasta la detección de los signos de estro para el grupo tratado fue de 69.6 ± 3.82 horas, mientras que para el testigo fue de 72.96 ± 2.65 horas, sin que hubiesen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$).

CUADRO 2: Porcentaje de respuesta y tiempo de presentación del estro de vacas Holstein tratadas con la GnRH en combinación con PGF2 α siete días después.

	Grupos	
	Tratado	Testigo
Porcentaje de vacas en estro (vacas en estro/total)	67% (45/67)	75% (62/82)
Tiempo de presentación del estro (horas) *	69.6 ± 3.8	72.9 ± 2.6

* Media \pm error estándar.

No se encontraron diferencias significativas entre grupos ($P > 0.05$)

DISCUSION

En un principio, los programas de sincronización se habían enfocado solo a la terminación de la vida funcional del cuerpo lúteo o a la simulación de la vida funcional de éste, sin embargo, actualmente las técnicas están orientadas hacia la manipulación de la dinámica folicular a través del uso de métodos hormonales con la GnRH o hCG (Bo *et al.*, 1995, Thatcher *et al.*, 1995). En el presente trabajo usando GnRH como tratamiento, se logró modificar la dinámica folicular en las diferentes etapas del diestro, provocándose un cambio en los folículos grandes, es decir en aquellos iguales o mayores a los 9 mm de diámetro. En 1 folículo se ocasionó atresia, en 3 de ellos se produjo luteinización y en 3 la ovulación, situación que coincide con lo publicado por otros autores como Macmillan *et al.*, (1991). La modificación de los folículos grandes fue seguida por el reclutamiento de un folículo nuevo, encontrándose un folículo grande diferente en el día de la administración de PGF2 α . Estos resultados confirman lo encontrado por otros autores quienes eliminaron los folículos mayores con GnRH o con hCG y observaron que 6 ó 7 días después ya estaba presente un folículo nuevo (Bo *et al.*, 1995). La eliminación de los folículos grandes con GnRH no solo tiene aplicaciones en programas de sincronización de estros con PGF2 α , sino también en aquellos en los que se utilizan progestágenos, ya que se ha demostrado que algunas vacas presentan persistencia del folículo dominante (Thatcher *et al.*, 1995).

Si bien en el experimento A, el tratamiento con GnRH eliminó el folículo grande, esto no significó que todas las vacas tratadas en el diestro medio y tardío tuvieran un cuerpo lúteo funcional 7 días después, es decir al momento de la administración de la PGF2 α , ya que las concentraciones de progesterona se encontraban basales (<1ng/ml) en 3 vaquillas tratadas en el diestro medio y 4 en el tardío al momento de la aplicación de la PGF2 α , lo que indica que la administración de GnRH en estas etapas del diestro no siempre llega a ser capaz de prolongar la vida del cuerpo lúteo al eliminar el folículo dominante o preovulatorio, como lo señala Twagiramungu *et al.*, (1995). En varios trabajos se ha observado que estos tratamientos en ciertos casos pueden prolongar la vida del cuerpo lúteo en algunas vacas, pero no en todas. En los casos

en los que se ha logrado prolongar la duración de la fase lútea, ésta no ha sido de más de 2 días (Thatcher *et al*, 1993). Esta observación se confirmó en el presente trabajo, ya que solamente en 4 de las vacas inyectadas con GnRH en el diestro tardío se produjo una prolongación de la fase lútea (figuras 18, 19, 20 y 22). Estas observaciones tienen implicaciones prácticas, ya que las vacas que entran a los programas de sincronización o de inducción del estro se seleccionan solo por la presencia de un cuerpo lúteo diagnosticado a la palpación rectal y no según el día del ciclo en que se encuentren, lo que significa que en ese grupo se tendrán vacas de diestro temprano, medio o tardío. Bajo estas circunstancias, solo algunas de las vacas tratadas en el diestro medio o tardío tendrán un cuerpo lúteo funcional 7 días después, lo que afectaría el éxito en la implementación de esta nueva técnica. Si bien en los estudios de Twagiramungu *et al*, en 1992 es evidente el efecto de la GnRH sobre la eliminación de los folículos grandes y la estimulación del crecimiento de una nueva onda folicular, los perfiles de progesterona del presente estudio demuestran que esos cambios no prolongan la fase lútea en todas las vacas que son tratadas durante el diestro medio y tardío. La técnica propuesta por Twagiramungu *et al* en 1992 dan por hecho que las vacas seleccionadas solo por la presencia de un cuerpo lúteo a la palpación rectal tendrán un cuerpo lúteo funcional siete días después cuando se administra la PGF2 α ; sin embargo los resultados de este trabajo indican que no en todas las vacas se consigue prolongar la fase lútea.

En el segundo experimento el tratamiento con GnRH y PGF2 α 7 días después no incrementó el porcentaje de vacas en estro ni modificó el tiempo de respuesta ya que estos fueron similares estadísticamente, entre las vacas de este grupo (67%, 69.6 \pm 3.82 h) y el testigo (75%, 72.96 \pm 2.65 h). En este experimento, de 67 vacas tratadas con GnRH, 45 respondieron a la aplicación de PGF2 α presentando signos de estro antes de 96 horas. Del grupo testigo, de 82 vacas, 62 respondieron a la PGF2 α presentando estro en este mismo periodo. La distribución de los estros se presenta en la cuadro 2, en la que se observa una distribución muy similar entre ambos grupos.

Estas observaciones contrastan con lo publicado por Twagiramungu *et al* en 1992. Estos autores obtuvieron una alta tasa de sincronización (83.3%) siguiendo el mismo tratamiento en

vacas productoras de carne. Así mismo, Twagiramungu *et al.* (1994b) mencionan que los niveles de progesterona se mantienen elevados en la mayoría de los animales hasta seis días después de aplicar GnRH, inhibiéndose el estro y la ovulación, a excepción de aquellas ocasiones en que las vacas estuvieran al final del diestro tardío y el estro ya fuera inminente. Guilbault *et al.*, en 1991 utilizaron el mismo esquema señalando que la GnRH permite una reducción significativa en el tiempo destinado a la detección de estros, sin que se afecten las tasas de concepción. Coleman *et al.*, también en 1991 sincronizaron vacas productoras de carne siguiendo este mismo tratamiento y no obtuvieron diferencia en el tiempo de presentación de estros, al compararlo con la doble aplicación de PGF2 α .

Los estudios citados se realizaron con vacas productoras de carne las cuales tienen necesidades metabólicas diferentes a las vacas productoras de leche. Estas últimas, durante las primeras semanas postparto invariablemente se encuentran en balance negativo de energía, situación que afecta el control neuroendócrino del ciclo estral (Butler y Elrod, 1992). Así, en estas vacas se afecta la función del cuerpo lúteo (Villa-Godoy *et al.*, 1988), el desarrollo folicular y la expresión del estro (Lucy *et al.*, 1994); motivo por el cual posiblemente los resultados del programa de sincronización de este experimento fueron diferentes a los encontrados en esos estudios. Si bien no se determinó el balance de energía de las vacas, éstas se encontraban en promedio en los días 50 a 60 postparto, cuando están saliendo de ese desbalance (Lucy *et al.*, 1994). Además, en este estudio las vacas fueron seleccionadas con base únicamente en la palpación rectal de un cuerpo lúteo, tal y como se realiza en condiciones prácticas, procedimiento que tiene una eficiencia que varía desde 75 hasta 90 % según la habilidad del palpador (Watson y Munro, 1980; Slenning, 1992; Méndez, 1995), lo cual determina el éxito de cualquier programa de sincronización.

Aunque los resultados de otros experimentos permiten ser optimistas sobre las posibilidades de esta técnica innovadora de sincronización, los resultados del presente experimento indican que en vacas Holstein en lactación la eficiencia de este método fue similar a la observada en vacas tratadas con PGF2 α inmediatamente después de la detección rectal del cuerpo lúteo.

Se concluye que la aplicación de la GnRH durante las diferentes etapas del diestro modificó la población folicular, eliminando al folículo dominante y permitiendo el desarrollo de uno nuevo. Sin embargo, no todas las vacas tratadas con GnRH tuvieron un cuerpo lúteo funcional al momento de aplicar la PGF_{2α}. El tratamiento con GnRH y PGF_{2α} siete días después, en vacas seleccionadas solo por la presencia de un cuerpo lúteo a la palpación rectal, produjo un tiempo de respuesta y un porcentaje de vacas en estro similar al de las vacas tratadas solo con PGF_{2α}, por lo que no se puede recomendar la aplicación de la GnRH como tratamiento previo a la inducción de la luteólisis con PGF_{2α}.

LITERATURA CITADA

- 1.- Adams, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization & superstimulation. Theriogenology 41:19-24 (1994).
- 2.- Adams, G. P., Kot, K., Smith, C. A. and Ginther, O. J. Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates in heifers. Can. J. Anim. Sci. 73:267-275 (1993a)
- 3.- Adams, G. P., Kot, K., Smith, C.A. and Ginther, O.J. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. Anim. Reprod. Sci. 30:259-271 (1993b)
- 4.- Allrich, R. D. Estrous behavior and detection in cattle. Veterinary Clinics of North America 9:249-262 (1993).
- 5 - Beal, W. E., Chenault, M. L., Day, M. L. and Corah, L.R. Variation in conception rates following synchronization of estrus with Melengestrol Acetate and Prostaglandin F_{2α}. J. Anim. Sci. 66:599-602 (1988)
- 6.- Beard, A. J., Savva, D., Glencross, R. G., McLeod, B. J. and Knight, P. G. Treatment of ovariectomized heifers with bovine follicular fluid specifically suppresses pituitary levels of FSH-β messenger RNA. J. Mol. Endocrinol. 3:85-92 (1989)
- 7 - Belschner, A. A breeding program for dairy cattle. Agri-Practice 7:7-12 (1986)
- 8.- Benmrad, M. and Stevenson, J.S. Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F_{2α} for postpartum dairy cows: estrous, ovulation and fertility traits. J. Dairy Sci. 69:800-811 (1986)
- 9.- Bo, G.A., Adams, G. P., Pierson, R.A. and Maplettoff, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology 43:31-40 (1995).
- 10.- Brown, M.D. Postpartum use of GnRH in dairy cows. Modern Veterinary Practice, U.S.A. January, pp 27-29 (1985).
- 11.- Butler, W.R. and Elrod, C.C. Reproduction in high yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake. Eighth International Conference on Production Diseases in Farm Animals Berne, Switzerland, (1992).
- 12.- Chenault, J.R., Thatcher, W. W. and Kalra, P. S. Transitory changes in plasma progesterone, estradiol and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. J. Dairy Sci. 58:709 (1975).
- 13 - Cupps, T.P. Reproduction in Domestic Animals. Academic Press, Inc. 4th ed. U.S.A (1991).
- 14.- Coleman, D.A., Bartol, F.F., Spencer, T.E., Floyd, J.G., Wolfe, D.F. and Brendemuehl, J.P. Effects of a potent GnRH agonist on hormonal profiles, Synchronization of estrus and fertility in beef cattle. J. Anim. Sci. 69 (suppl. 1): 396 (1991).
- 15.- Day, B.N.: Estrous cycle regulation. Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Urbana Illinois, 1984, 1-8. University of Illinois, Urbana-Champaign, Illinois (1984).
- 16.- Driancourt, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. Theriogenology 35: 55-79 (1991).
- 17.- Drost, M. and Thatcher, W.W. Application of gonadotropin releasing hormone as therapeutic agent in animal reproduction. Anim. Reprod. Sci. 28:11-19 (1992).

- 18.- Dufour, J., Whitmore, H. L., Ginther, O. J. and Casida, L. E. Identification of the ovulation follicle by its size on different days of the estrous cycle in heifers. J. Anim. Sci. 34:85-87 (1972).
- 19.- Echtenkamp, S. E., Spicer, L. J., Gregory, K. E., Canning, S. F. and Hammond, J. M. Concentrations of insulin-like growth factor-1 in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. Biol. Reprod. 43:8-14 (1990).
- 20.- Findlay, J.K., Robertson, D.M., Turzillo, A.M. and Lavoit, M. Follicle selection in domestic animals. J. Reprod. Sci. 28:319-328 (1992).
- 21.- Fortune, J. E. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle a limiting factor in improvement of fertility? Anim. Reprod. Sci. 33:11-125 (1993).
- 22.- Fortune, J. E., Sirois, J., Turzillo, A. M. and Lavoit, M. Follicle selection in domestic ruminants. J. Reprod. Fert. Suppl. 43:187-198 (1991).
- 23.- Galina, C.S., Orihuela, A., Duchateau, A. Reproductive physiology in Zebu cattle. Vet. Clin. North. Am. Food Animal Practice. 3:619 (1987).
- 24.- Gaines, J. D., Elcker, S. and Larson, P. Efectividad del tratamiento con prostaglandinas en vacas lecheras en anestro. The Bovine Practitioner 24. (1989).
- 25.- García, E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. 3ª ed. Offset Lanos, México, 1981.
- 26.- Gasca, G. S., Porras, A. A. y Lima T. V. Influencia del grado de desarrollo folicular al momento de la inducción del estro con prostaglandina F_{2α} sobre la respuesta al estro, en vaquillas Holstein. Memorias del XVII Congreso Nacional de Buiatría, Tabasco, México, (1992).
- 27.- Ginther, O. J., Kastelic, J. P. and Knopf, L. Composition and characteristics of follicular waves during the estrous cycle. Anim. Reprod. Sci. 20:187-200 (1989a).
- 28.- Ginther, O. J., Knopf, L. and Kastelic, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. J. Reprod. Fert. 87:223-230 (1989b).
- 29.- Graves, R. L., Lutz, R. G., Riesen, J. W., Hoagland, T. A. and Woody, C. O. Factors influencing estrus and conception in dairy heifers after prostaglandin F_{2α}. Theriogenology 23:733-742 (1985).
- 30.- Guilbault, L.A., Villeneuve, P., Laverdiere, G., Proulx, J. And Dufour, J.J. Estrus synchronization in beef cattle using a potent GnRH analog (buserelin) and cloprostenol. J. Anim. Sci. 69 (suppl.1): 419 (1991).
- 31.- Hafs, H.D., Manns, J.G. and Drew, B. Onset of oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with prostaglandin F_{2α}. Anim. Prod. 21:13-20 (1975).
- 32.- Hansel, W. and Convey E. M. Physiology of the estrous cycle. J. Anim. Sci. 57 (Suppl 2):404 (1983).
- 33.- Hernández, C. J., Porras, A. A., Salgado, A. A. y Lima, T. V. Inducción del estro con prostaglandina F_{2α}. Efecto del intervalo entre tratamiento y la presentación del estro sobre el índice de concepción de vaquillas Holstein. Vel. Méx. 25:19-22 (1994).

- 34.- Hirshfield, A. N. Development of follicles in the mammary ovary. Int. Rev. Cytol. 124:43-101 (1991)
- 35.- Jöchle, W. Forty years of control of the oestrous cycle in ruminants. Progress made, unresolved problems and the potential impact of sperm encapsulation technology. Memorias del VI Curso Internacional de Reproducción Bovina. México, D.F. (1995)
- 36.- Kaim, M., Rosenberg, M. and Folman, Y. Management of reproduction in dairy heifers based on the synchronization of estrous cycles. Theriogenology 34:537-547 (1990)
- 37.- Kastelic, J. P., Knopf, L. and Ginther, O. J. Effect of day of prostaglandin F_{2α} treatment on selection of the ovulatory follicle in heifers. Anim. Reprod. Sci. 23:169-180 (1990)
- 38.- King, M.E., Kiracofe, G. H., Stevenson, J. S. and Schalles, R. R. Effect of stage of the estrous cycle on interval to estrus after PGF_{2α} in beef cattle. Theriogenology 18:191-200 (1982)
- 39.- Larson, L. L. and Ball, P. J. H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. Theriogenology 38:255-267 (1992).
- 40.- Leslie, K. E. The effects of Gonadotropin Releasing Hormone administration in early postpartum dairy cows on hormone concentrations, ovarian activity and reproductive performance: a review. Can. Vet. J. 24:116-122 (1983)
- 41.- Lucy, M. C., Beck, J., Staples, C. R., Head, H.H., De La Sota, R. L. and Thatcher, W.W. Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. Reprod. Nutr. Dev. 32:331-341 (1992a).
- 42.- Lucy, M. C., Savio, J. D., Badinga, L., De La Sota, R. L. and Thatcher, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. J. Anim. Sci. 70:3615-3626 (1992b)
- 43.- Mariana, J. Some remarks on the long term trends and some short regulations in the follicular growth. IX Congreso Internacional de Reproducción. España, (1980)
- 44.- McDougall, S., Williamson, N. B. and Macmillan, K. L. GnRH induces ovulation of a dominant follicle in primiparous dairy cows undergoing anovulatory follicle turnover. Anim. Reprod. Sci. 39:205-214 (1995).
- 45.- Macmillan, K. L. and Thatcher, W. W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. Biol. of Reprod. 45:883-889 (1991)
- 46.- Macmillan, K. L., Day, A. M., Taufa, V. K., Gibb, M. and Pearce, M. G. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. I. Hormone concentrations and oestrous cycle length. Anim. Reprod. Sci. 8:203-212 (1985a).
- 47.- Macmillan, K. L., Day, A. M., Taufa, V. K., Peterson, A. J. and Pearce, M. G. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle. II. Interactions with injected prostaglandin F_{2α} and unilateral ovariectomy. Anim. Reprod. Sci. 8:213-223 (1985b)
- 48.- Macmillan, K. L. and Henderson H. V. Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F_{2α} to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 6:245-254 (1984).
- 49.- Matton, P., Adelakoun, V., Couture, Y. and Dufour, J. J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. J. of Anim. Sci. 52:813-820 (1981).

- 50.- Méndez, M. M. Factores que afectan la presentación del estro inducido con prostaglandina F2 α en vacas Holstein. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, (1995).
- 51.- Momont, H. W. and Seguin, B. E. Influence of day of estrous cycle on response to PGF2 α products: Implications for A.I. programs for dairy cattle Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. Art. Insem. III. Urbana-Champaign, Illinois, pp 336-338 (1984a).
- 52.- Momont, H. W. and Seguin, B. E. Interval to estrus after prostaglandin treatment of dairy heifers is independent of rate of luteolysis. Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. Art. Insem. III. Urbana-Champaign, Illinois, pp 448-450 (1984b).
- 53.- Mondschein, J., Canning, S., Miller, D. and Hammond, J. Insulin-like growth factors (IGFs) as autocrine/paracrine regulators of granulosa cell differentiation and growth studies with a neutralizing monoclonal antibody to IGF-1. Biol. Reprod. 40:79-85 (1989)
- 54.- Moreno, I.Y.D., Galina, C.S., Escobar, F.J., Ramirez, B. and Navarro, R. Evaluation of the lytic response to PGF2 α in Zebu cattle based on serum progesterone. Theriogenology, 25:413-421 (1986).
- 55.- Morrow, D. Current Therapy in Theriogenology 2. 2 $^{\circ}$ ed. W.B. Saunders, U.S.A. (1986)
- 56.- Murphy, M. G., Boland, M. P. and Roche, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. J. Reprod. Fert. 90:523-533 (1990)
- 57.- Odde, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J. Anim. Sci. 68:817-830, (1990).
- 58.- Ortiz, O., Zarco, Q.L. y Suárez, L. Determinación de los factores que afectan la respuesta de un programa de sincronización de estros con PGF2 α . XII Congreso Nacional de Buiatría, México pp 748-752 (1988).
- 59.- Patterson, D. J., Kiracofe, G. H., Stevenson, J. S. and Corah, L. R. Control of the bovine estrous cycle with melengestrol acetate (MGA): a review. J. Anim. Sci. 67:1895-1906 (1989).
- 60.- Peterson, A. J., Fairclough, R. J., Payne, R. J. and Smith, J. F. Hormonal changes around bovine luteolysis. Prostaglandins 10: 675 (1975).
- 61.- Pierson, R. A., Kastelic, J. P. and Ginther, O. J. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. Theriogenology 29:3-20 (1988).
- 62.- Porras, A. A. y Galina H. C. Utilización de prostaglandina F2 α y sus análogos para la manipulación del ciclo estral bovino. Vet. Méx., 22:401-405 (1991).
- 63.- Porras, A. A. y Galina, H. C. Utilización de los progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. Vet. Méx. 23:31-36 (1992).
- 64.- Pulido, A., Zarco, L., Galina, C. S., Murcia, C., Flores, G. and Posadas, E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology 35:511-521 (1990).
- 65.- Rahe, C. W., Owens, R. E. and Fleeger, J. L. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. Endocrinology 107:498 (1980).
- 66.- Redmar, D. A., Kirsh, J. D. and Reynolds, L. P. Production of mytogenic factors by cell types of bovine large estrogen active and estrogen-inactive follicles. J. Anim. Sci. 69:237-245 (1991).

- 83.- Thatcher, W. W. and Collier, R. J. Effects of climate on bovine reproduction en Morrow D. Current Therapy in Theriogenology, 2nd ed. Philadelphia, W. B. Saunders, (1985).
- 84.- Thatcher, W. W., Macmillan, K.L., Hansen, P. J. and Drost, M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology 31:149-163 (1989).
- 85.- Thatcher, W. W., Drost, M., Savio, J. D., Macmillan, K. L., Entwistle, K. W., Schmidt, E. J., De la Sota, R. L. and Morris, G. R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. Anim. Reprod. Sci. 33:27-49 (1993).
- 86.- Thibier, M. Le recours a la gonadolibérine (GnRH) ou analogues en médecine vétérinaire. Analyse pharmacologique et thérapeutique chez les bovins. Ann. Rech. Vet. 19 153-167. (1988)
- 87.- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. G., Ramkumar, R. and Dufour, J. J. Buserelin overcomes the effect of the corpus luteum on ovarian follicular development in postpartum cycling cows. Anim. Reprod. Sci. 39:183-192 (1995).
- 88.- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J., Ramkumar, R. and Dufour, J. J. Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of gonadotropin-releasing hormone. J. Anim. Sci. 72 192-200 (1994a).
- 89.- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. G. and Dufour, J. J. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with Buserelin and Cloprostenol. J. Anim. Sci. 72 1796-1805 (1994b).
- 90.- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. G., Villeneuve, P. and Dufour, J. J. Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. J. Anim. Sci. 70:1904-1910, (1992).
- 91.- Villa-Godoy, A., Ireland, J. J. and Wortman, J. A. Luteal function in heifers following destruction of ovarian follicles in three stages of diestrus. J. Anim. Sci. 52 (Suppl 2) 372, abstract 603, (1981).
- 92.- Villa-Godoy, A., Hughes, T. L., Emery, R. S., Chapin, L. T. and Fogwell, R. L. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 71 1063-1072 (1988).
- 93.- Wakeling, A. E. and Green, L. R. Corpus luteum prostaglandin receptors and luteolysis. Acta Vet. Scand. Suppl. 77:131-142 (1981).
- 94.- Watson, E. D. and Munro, C. D. A reassessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. Br. Vet. J. 136:555-560 (1980).
- 95.- Watts, T. L. and Fuquay, J. W. Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin f2 α during early, middle or late diestrus. Theriogenology 23:655-661 (1985)
- 96.- Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Savio, J. D., Badinga, L. and Lucy, M. C. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. Theriogenology 42:633-644 (1994).
- 97.- Zarco, Q. L. y Hernández, C. J. Momento de ovulación y efecto del intervalo entre el inicio del estro y la inseminación artificial sobre el porcentaje de concepción en vaquillas Holstein. Vet. Méx., 27:4 (1996).

98.- Zarco Q. L., Morán, E. y Galina, C. S. Influencia del desarrollo folicular sobre la respuesta al tratamiento con prostaglandina $F2\alpha$ en ganado Holstein. Reunión de Investigación Pecuaria en México, pp 185, (1985).

Figura 1

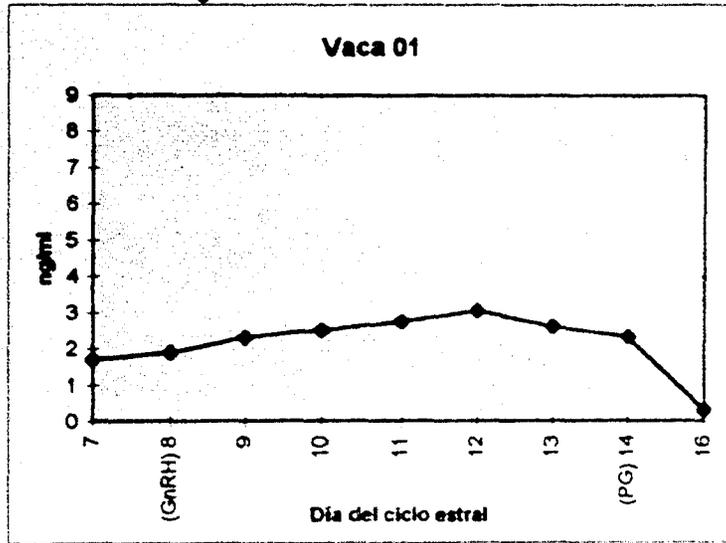


Figura 2

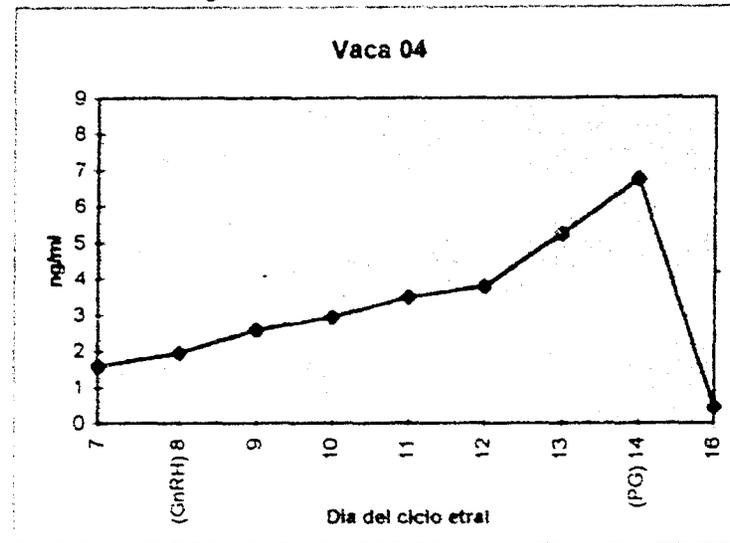


Figura 3

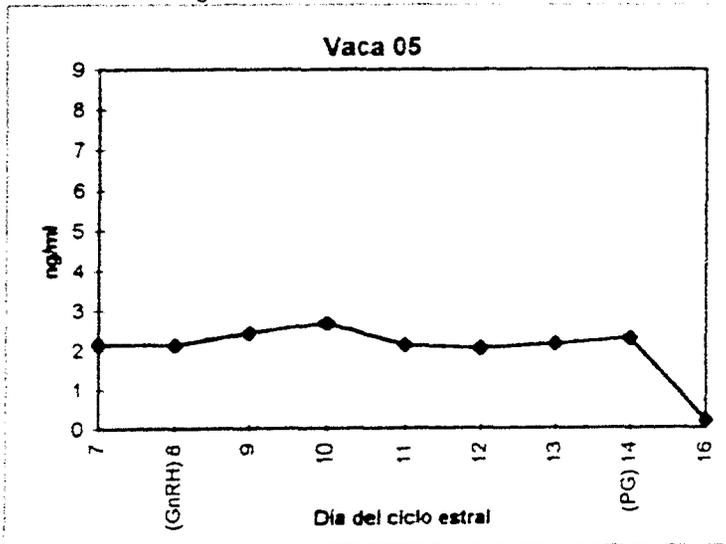


Figura 4

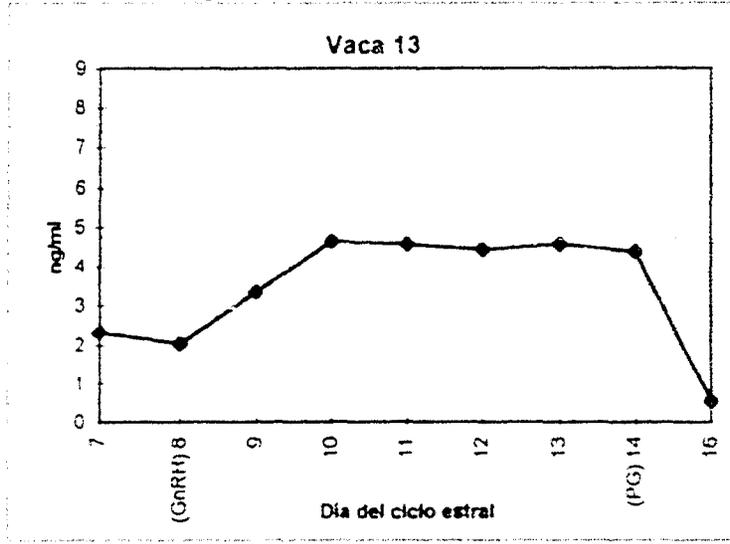


Figura 5

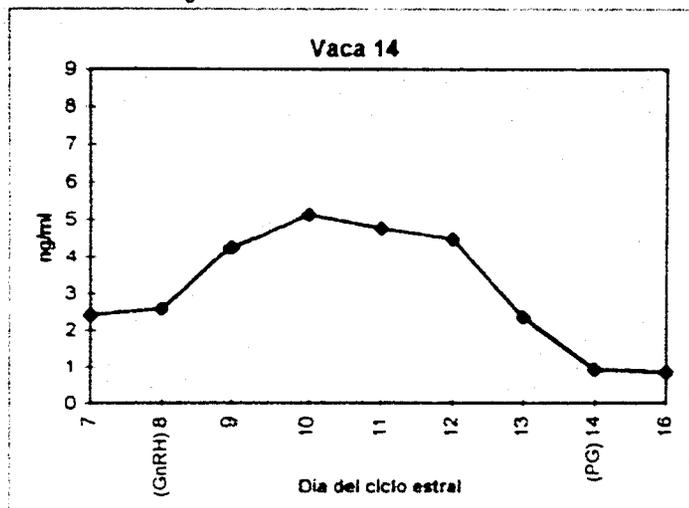


Figura 6

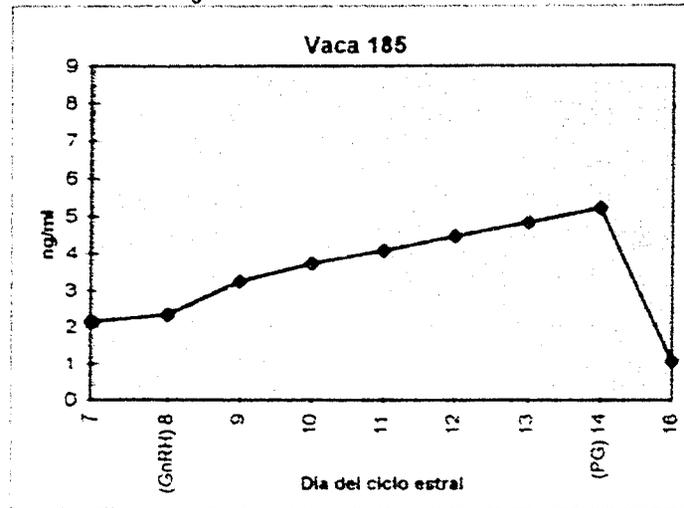


Figura 7

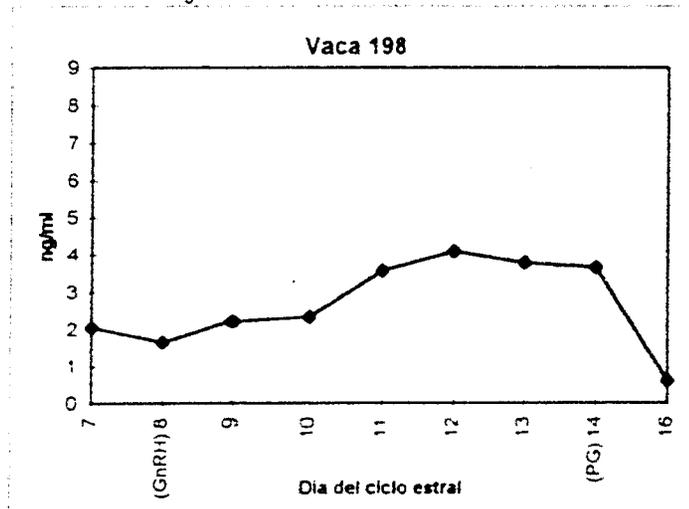
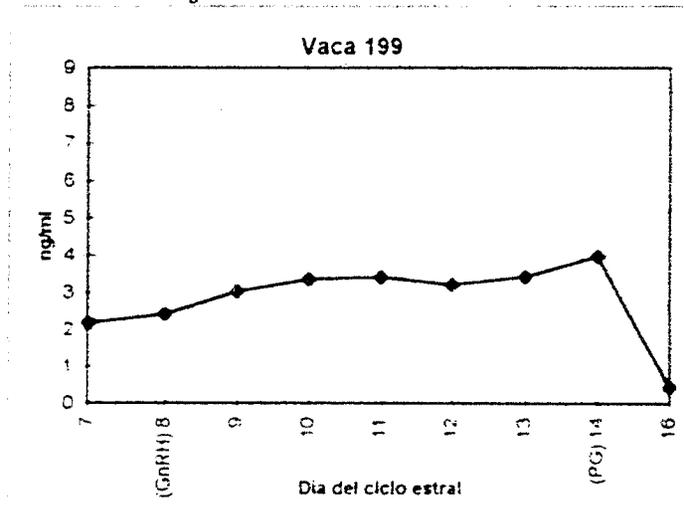


Figura 8



Figuras 1 a 8 Concentraciones de progesterona (ng/ml) en vacas tratadas durante el diestro temprano, con GnRH más PGF2alfa siete días después.

Figura 9

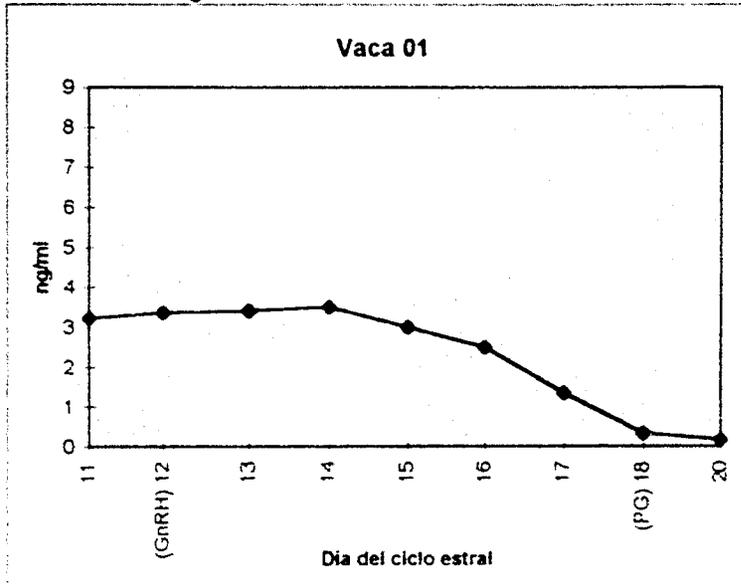


Figura 10

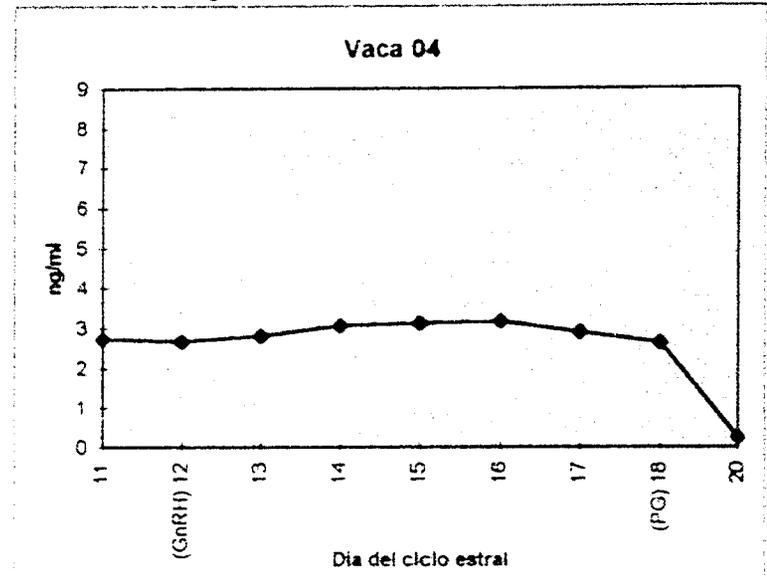


Figura 11

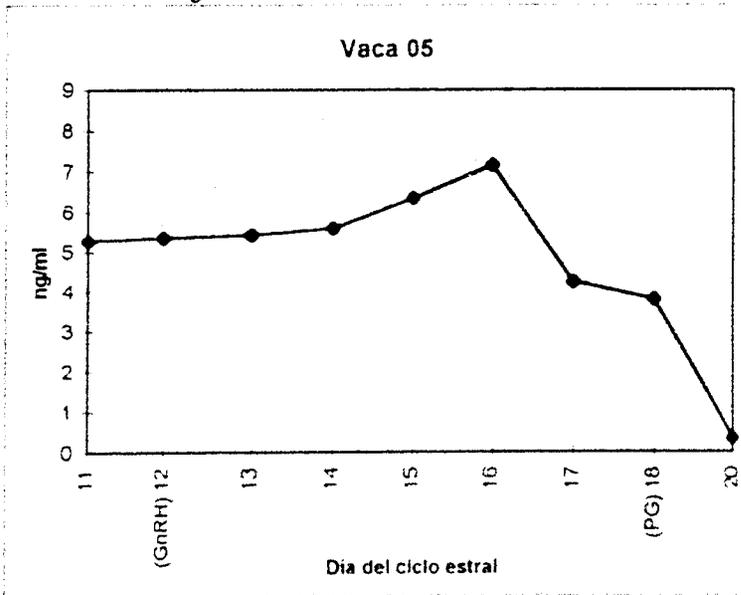


Figura 12

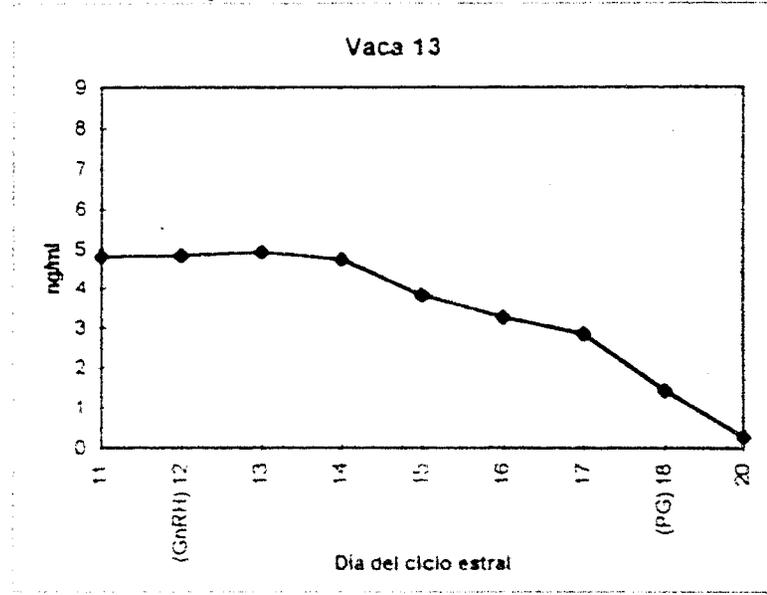


Figura 13

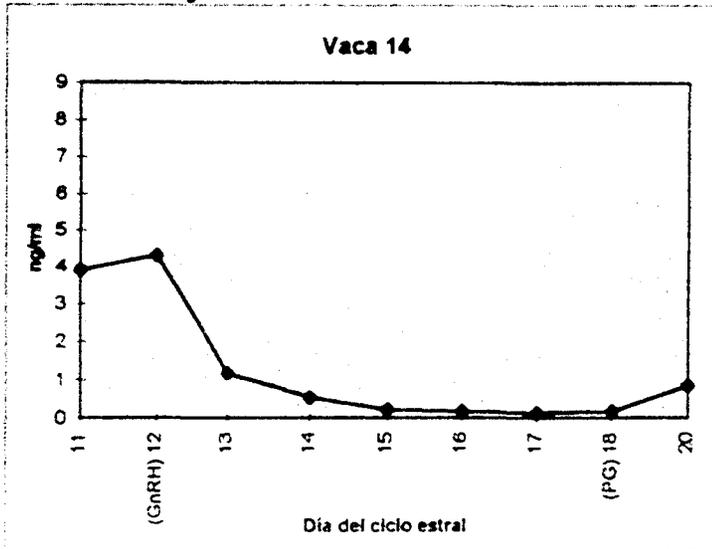


Figura 14

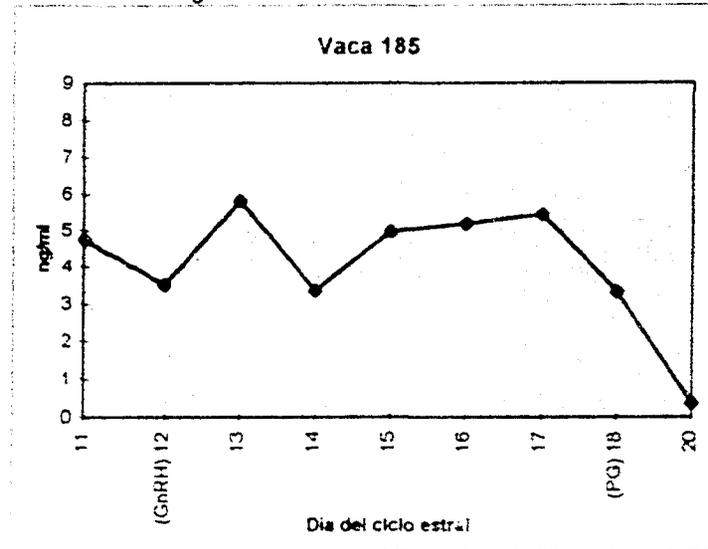


Figura 15

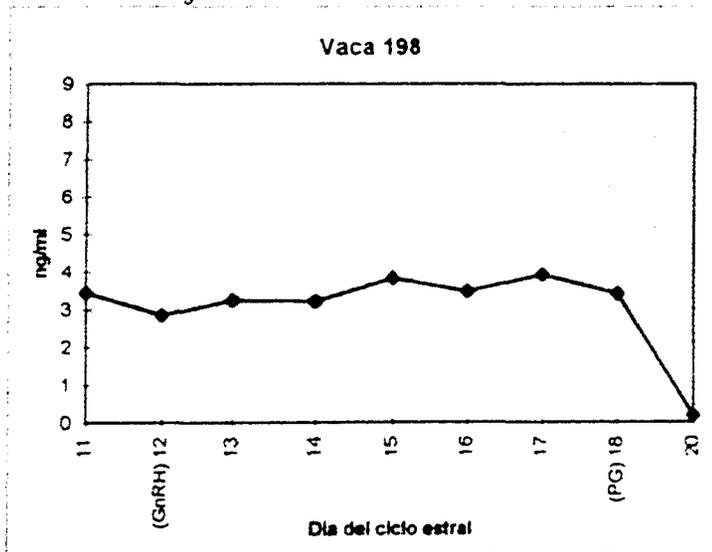
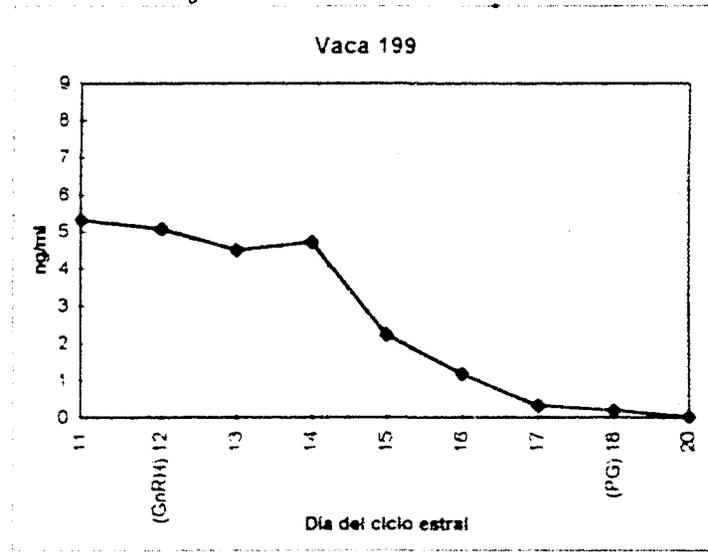


Figura 16



Figuras 9 a 16 Concentraciones de progesterona (ng/ml) en vacas tratadas durante el diestro medio, con GnRH más PGF2alfa siete días después.

Figura 17

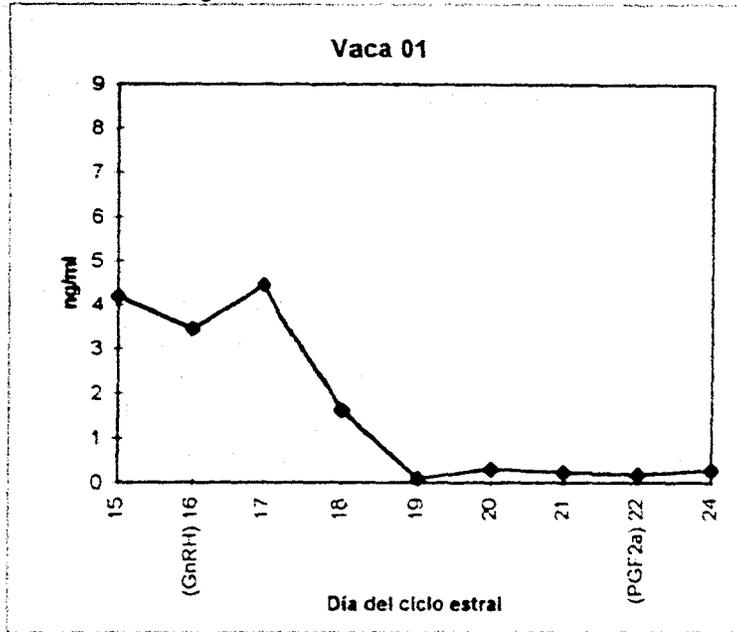


Figura 18

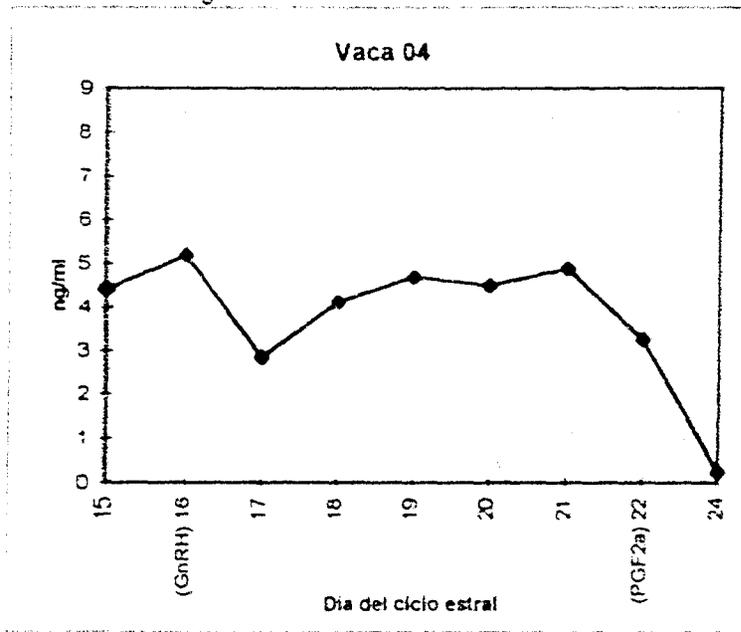


Figura 19

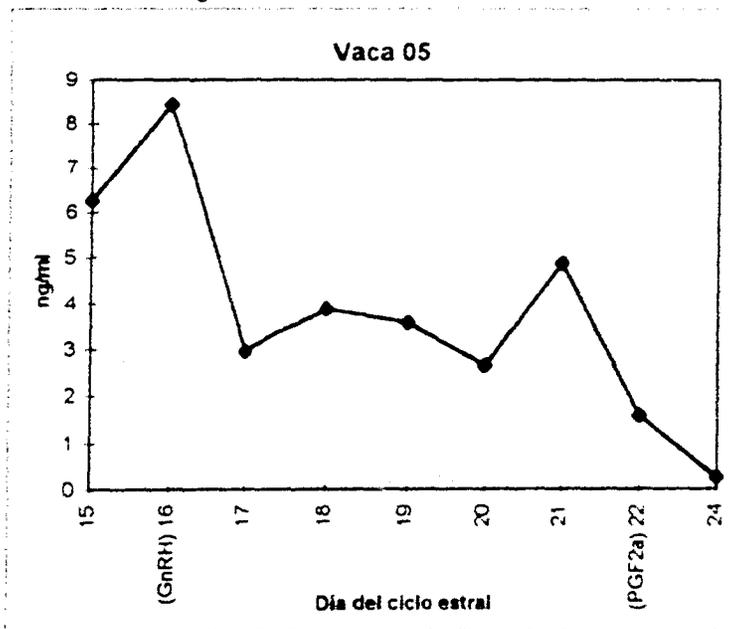


Figura 20

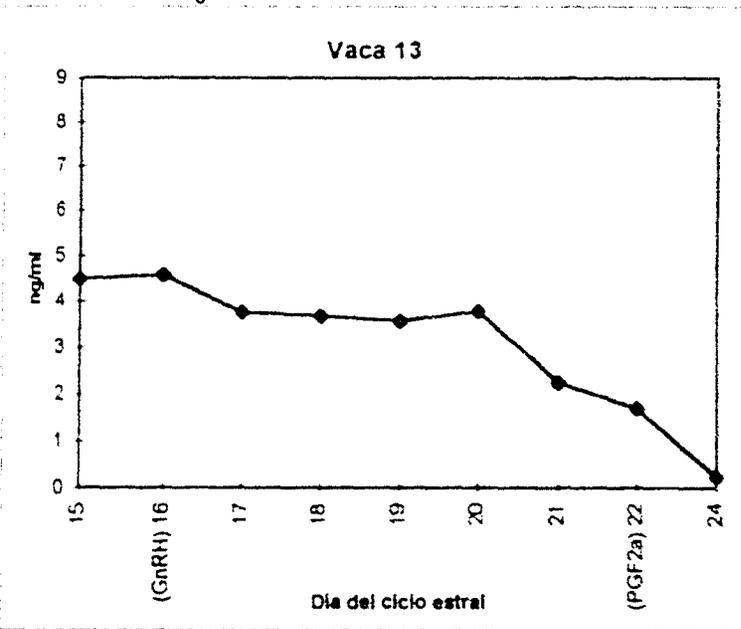


Figura 21

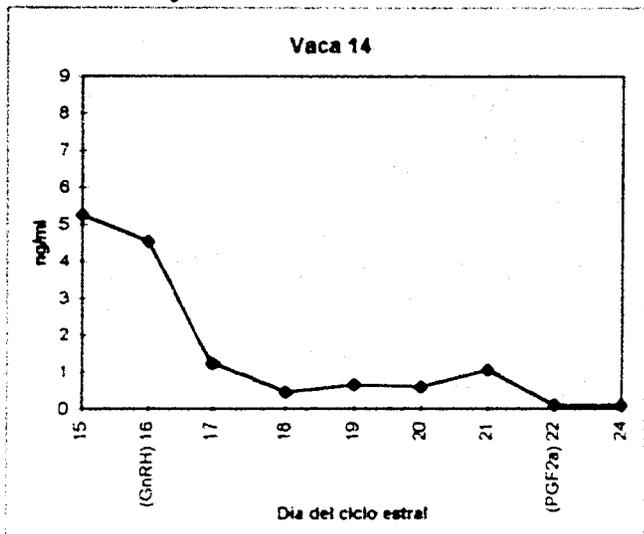


Figura 22

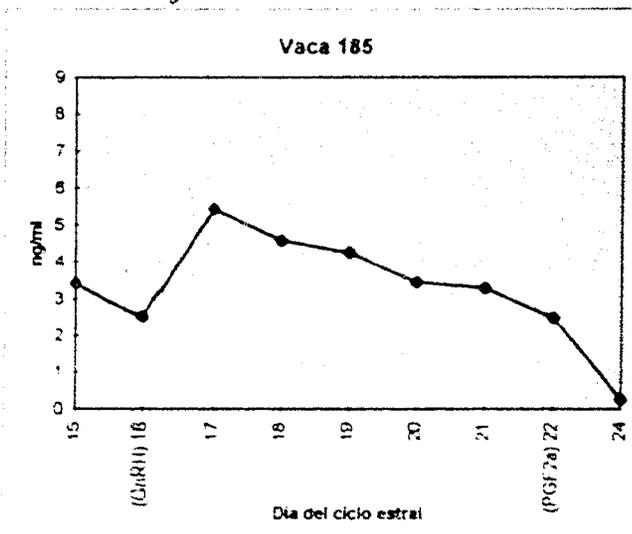


Figura 23

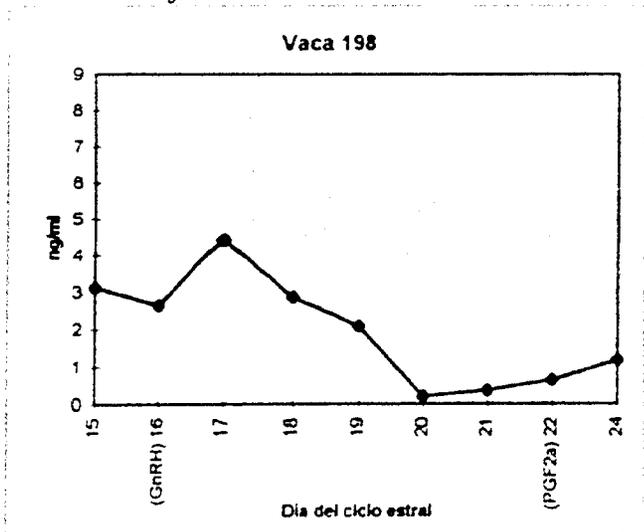
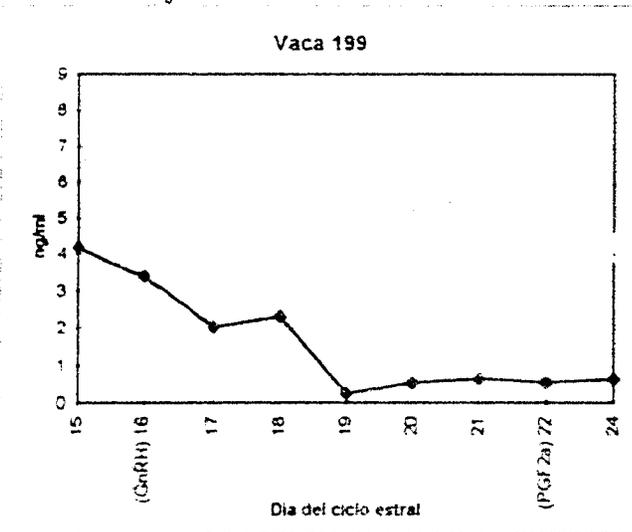


Figura 24



Figuras 17 a 24 Concentraciones de progesterona (ng/ml) en vacas tratadas durante el diestro tardío, con GnRH más PGF2alfa siete días después.