



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

**MANUAL DE BIOTECNOLOGÍAS
REPRODUCTIVAS, VOLUMEN I: TÉCNICA
DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y
ULTRASONOGRAFÍA EN LA HEMBRA
BOVINA.**

TESIS

Que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A

Sandra Eulalia Mejía Baños

ASESORES DE TESIS

Ph.D. David Alejandro Contreras Caro del Castillo
MVZ. Allan Arturo Páez Trejo



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2019



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 mis padres Margarita Baños y Manuel Mejía, por todo su amor, paciencia y apoyo, por ser mi sostén en momentos difíciles, por creer en mí y apoyarme siempre a pesar de los sacrificios y dificultades, por animarme a seguir mis sueños y alcanzar mis objetivos. Gracias por tomarme de la mano y ser guías de mi camino; los amo.

A mí hermano, por estar siempre a mi lado a pesar de la distancia, por todas las palabras de aliento y motivación, por aquellas largas horas de estudio que alguna vez compartimos; porque siempre has sido un gran ejemplo para mí, sigue adelante.

A mi amado esposo y mi pequeña Ixchel, por toda la paciencia y ayuda, por ser mi motor e inspiración para mejorar cada día, por motivarme a seguir adelante a pesar de todos los problemas, por demostrarme que con esfuerzo y perseverancia todo se logra.

A mis tíos Rubén y Leticia, mi abuelita y familia, por todas sus palabras de aliento y cariño, por cada uno de los abrazos que me recargaron de energía para continuar.

A ustedes les dedico todo el esfuerzo y dedicación presentes en este trabajo, mi primer gran logro académico.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que me han enseñado tanto y me han brindado miles de oportunidades.

Al proyecto UNAM-DGAPA-PAPIME 200615 titulado “Elaboración de manuales prácticos en 2 volúmenes de biotecnologías reproductivas en medicina veterinaria y zootecnia, para apoyo, guía y consulta de estudiantes de la licenciatura y áreas afines”, por el financiamiento del proyecto y la beca otorgada; fundamentales en el desarrollo de este proyecto.

A mi asesor David Alejandro Contreras Caro del Castillo, por todo el apoyo brindado a lo largo de este proceso, por todas las supervisiones, el interés, la paciencia y la confianza puesta en este trabajo; pero sobre todo, gracias por enseñarme e impulsarme a ser una mejor profesionista.

A mi asesor Allan Arturo Páez Trejo, por todo el apoyo, la confianza y la paciencia para la obtención de este trabajo. Gracias por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por el compromiso de enseñarme en mi formación práctica y por su amistad. Gracias por ayudarme a ser mejor profesionista y persona.

A Ricardo, Adriana, Gaby y mis “Bovs de Carn” que se convirtieron en mi familia, por su apoyo, cariño, comprensión, ayuda y motivación durante todo este tiempo, por jamás dejarme sola, Gracias.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO 1. Anatomía y Fisiología del aparato reproductor	4
1.1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra	4
1.2. Fisiología del ciclo estral	10
1.2.1 Etapas del ciclo estral	11
CAPÍTULO 2. Inseminación Artificial	14
2.1. Programas de sincronización del estro	14
2.2. Identificación de la vaca en estro	19
2.3. Técnica de inseminación artificial transrectal	23
2.3.1. Equipo y materiales	24
2.3.2. Descongelación y manejo del semen	30
2.3.3. Manipulación del tracto reproductivo durante la inseminación	35
2.4. Factores que pueden afectar la inseminación artificial	36
2.5. Recomendación de instalaciones y seguridad del usuario	40
CAPÍTULO 3. Ultrasonografía	47
3.1. Principios básicos de la ultrasonografía	47
3.2. Equipo y Transductores	50
3.3. Procedimiento de exploración transrectal con sonda del aparato reproductor de la hembra	53

	Pág.
3.4. Exploración de estructuras anatómicas del aparato reproductor	54
3.5. Diagnóstico de gestación por ultrasonografía	59
3.5.1. Gestación temprana	59
3.5.2. Seguimiento de gestación	60
3.5.3. Sexo del feto	61
3.5.4. Patología del útero	62
CONCLUSIONES	64
Literatura consultada	65

INDICE DE IMÁGENES Y CUADROS

	Pág.
Imagen.2 Aparato reproductor de la hembra	4
Imagen.3 Vulva	5
Imagen.4 Os externa y fornix	6
Imagen.5 Diferentes formas del cérvix	6
Imagen.6 Cuernos del útero	7
Imagen.7 Aparato reproductor	8
Imagen.8 Corte transversal de un ovario	9
Imagen.9 Cuerpo lúteo	9
Imagen.1 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario	11
Imagen.10 Protocolo Ovsynch	15
Imagen.11 Protocolo Cosynch	16
Imagen.12 Protocolo Select Synch	17
Imagen.13 Vaca en celo	20
Imagen.14 Características de vaca en celo	20
Imagen.15 Moco cristalino	21
Imagen.16 Vaca en Metaestro	21
Imagen.17 Vacas en celo	22
Imagen.18 Parche para detectar celos	23
Imagen.19 Pipeteo	24
Imagen.20 Contenedor de nitrógeno	24
Imagen.21 Canastilla	25

	Pág.
Imagen.22 Gobelet y porta Gobelet	25
Imagen.23 Pinzas para pajilla	26
Imagen.24 Cortador de pajilla	26
Imagen.25 Recipiente de descongelación eléctrico	27
Imagen.26 Termómetro digital	27
Imagen.27 Guantes de palpación	28
Imagen.28 Toallas desechables	28
Imagen.29 Fundas desechables	29
Imagen.30 Chemise	29
Imagen.31 Aplicador universal	30
Imagen.32 Diagrama con temperaturas del termo de nitrógeno	31
Imagen.33 Descongelación del semen	31
Imagen.34 Retracción del embolo	32
Imagen.35 Secado de pajilla	32
Imagen.36 Armado del aplicador	33
Imagen.37 Corte de pajilla	33
Imagen.38 Pajilla en el seguro de la funda	34
Imagen.39 Colocación de chemise	34
Imagen.40 Inseminación artificial	35
Imagen.41 Deposición del semen en IA	36
Imagen.42 Manejo incorrecto de la pajilla de semen	38
Imagen.43 Lugar de trabajo	39
Imagen.44 Instalaciones	40

	Pág.
Imagen.45 Corrales	40
Imagen.46 Pasillos	41
Imagen.47 Manga de Manejo	41
Imagen.48 Prensa de ganado	42
Imagen.49 Manga etológica	43
Imagen.50 Zona de fuga y punto de equilibrio	44
Imagen.51 Manejo de prensa ganadera	44
Imagen.52 Vaca en prensa	45
Imagen.53 Colocación de tranca	46
Imagen.54 Principios de la imagen	47
Imagen.55 Estructuras anecogénicos	48
Imagen.56 Estructura ecoico	49
Imagen.57 Estructura ecogénica	49
Imagen.58 Estructura hiperecoico	50
Imagen.59 Ecógrafos	51
Imagen.60 Transductor lineal	52
Imagen.61 Transductor convexo	52
Imagen.62 Imagen ultrasonográfica del cervix	54
Imagen.63 Útero gestante	55
Imagen.64 Folículo preovulatorio	56
Imagen.65 Imagen ultrasonográfica de folículos	57
Imagen.66 Cuerpo hemorrágico	57
Imagen.67 Cuerpo lúteo joven	58

	Pág.
Imagen.68 Cuerpo lúteo maduro	58
Imagen.69 Quiste folicular	59
Imagen.70 Cuerno uterino grávido	60
Imagen.71 Medición de la cuenca orbitaria	61
Imagen.72 Tubérculo genital	62
Imagen.73 Endometritis	62
Imagen.74 Mucometra	63
Cuadro 1	60

RESUMEN

MEJÍA BAÑOS SANDRA EULALIA. Manual de biotecnologías reproductivas volumen I: Técnica de inseminación artificial y ultrasonografía en la hembra bovina. (Bajo la asesoría de Ph.D. David Alejandro Contreras Caro del Castillo y MVZ Allan Arturo Páez Trejo).

Debido al creciente interés en el área de reproducción bovina el uso de tecnologías como la ultrasonografía y la técnica de inseminación artificial han aumentado, ya que se implementan con mayor frecuencia en condiciones de campo. La ultrasonografía además de ser complementaria ofrece una evaluación más eficaz y un diagnóstico más preciso.

El objetivo de la elaboración de este manual es contribuir a la explicación gráfica de las técnicas de inseminación artificial y ultrasonografía en bovinos, a través de imágenes y videos que puedan ayudar a los estudiantes a conocer e implementar estas biotecnologías. Se realizaron exámenes ecográficos en novillas diariamente durante tres meses para la obtención de imágenes de estructuras ováricas: cuerpo lúteo, folículos en diferentes estadios, y quistes. Se monitoreó ecográficamente a un grupo de vacas Angus previamente inseminadas para diagnóstico de gestación, tiempo de gestación y viabilidad del feto, con lo que se obtuvieron imágenes de la circunferencia torácica, diámetro de la cuenca orbitaria, longitud de la cabeza y sexo del embrión. Se capturaron imágenes para mostrar la técnica de inseminación artificial, la técnica de descongelación de semen, las instalaciones, la seguridad del usuario. Posteriormente se agrupó todo el material fotográfico por temas para su organización y edición final.

Palabras clave: Biotecnología reproductiva, técnica de inseminación artificial, ultrasonografía, bovino.

INTRODUCCIÓN

Se entiende como biotecnología al conjunto de conocimientos, técnicas y métodos a través de los cuales se hace uso de organismos vivos para la generación de nuevos productos, procesos y servicios aplicables a las áreas de la agricultura, ganadería, farmacia y alimentación, que constituyen un activo campo de investigación y generación de nuevos conocimientos (CIBA-IPN, 2010). En los últimos 60 años, uno de los productos más importantes en la investigación en biotecnología aplicada a la zootecnia en nuestro país han sido las tecnologías reproductivas como la ultrasonografía y la inseminación artificial (Astorga, 2008).

La ultrasonografía es una técnica que utiliza ondas de sonido de alta frecuencia, para producir imágenes de órganos internos y ha tenido un gran impacto como herramienta utilizada en la evaluación reproductiva, así como en biotecnologías desarrolladas en bovinos, especialmente en programas de superovulación, aspiración folicular y transferencia de embriones (Corredor & Páez, 2012). La ultrasonografía permite un examen del tracto reproductivo de la vaca para identificar patologías, ayuda a detectar una gestación temprana sin causar daño al embrión, así como el sexado del feto; maximizando así la efectividad de diagnósticos y tratamientos (Fernández, 2015).

Por otro lado, la inseminación artificial, es una biotecnología que permite la mejora genética y las ganancias económicas a través del uso de semen de toros de alto valor genético (Salgado, y col. 2015), teniendo como objetivos:

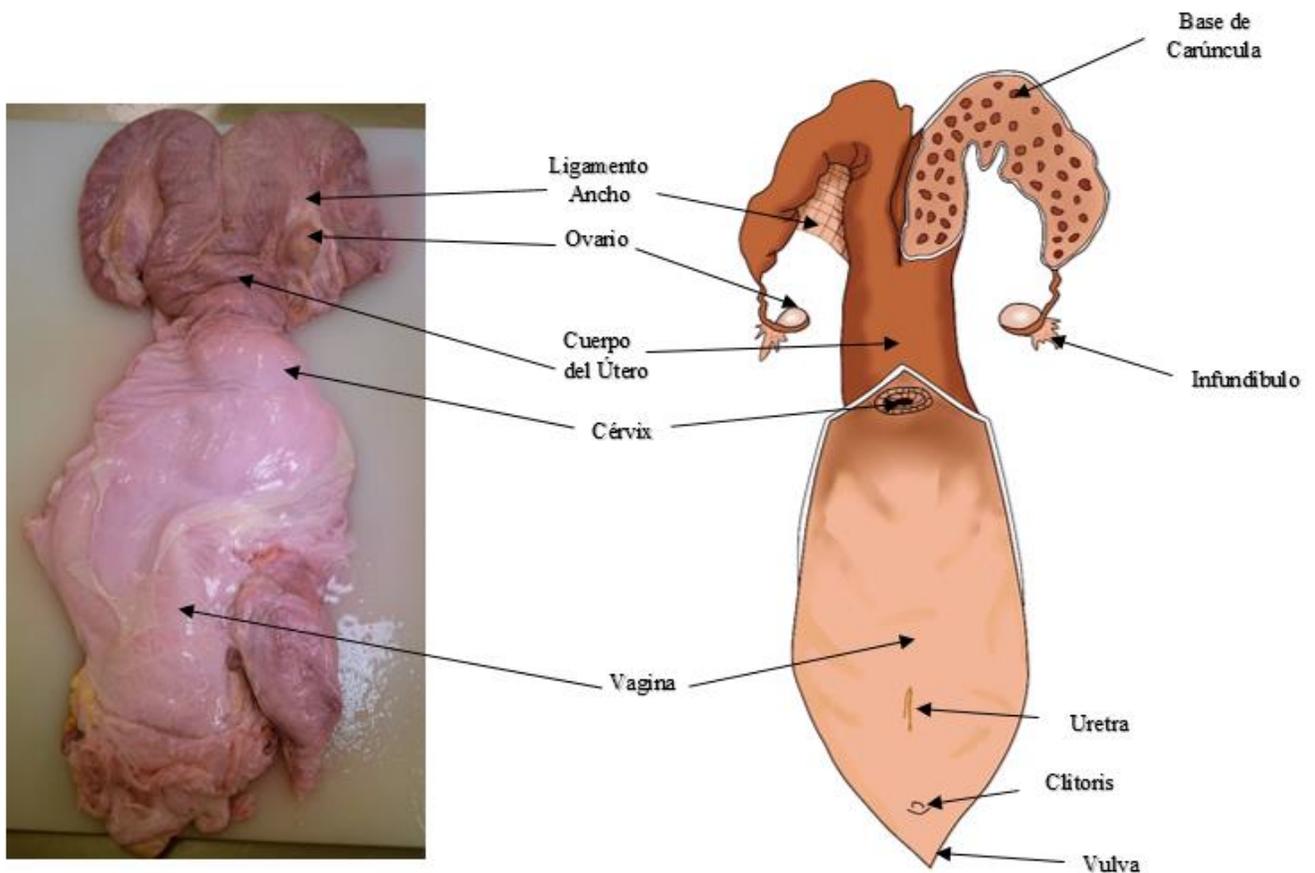
- Mejorar el aprovechamiento del macho: se pueden obtener de un solo eyaculado alrededor de 300 pajillas de semen; las cuales pueden criopreservarse y usarse con el paso del tiempo.
- Aumentar el número de crías genéticamente superiores.
- Mejorar la eficiencia reproductiva y productiva
- Aumentar el número de crías nacidas de IA

(Baruselli, y col. 2015)

CAPÍTULO 1. Anatomía y Fisiología del aparato reproductor

1.1. Anatomía del aparato reproductor de la hembra

El aparato reproductor de la vaca está constituido por genitales externos (vulva y clítoris), vagina, cérvix, útero, tubas uterinas y ovarios. Estas estructuras se encuentran en la cavidad pélvica, por debajo del recto. Para una evaluación diagnóstica (palpación) de las estructuras se hace a través el recto (Imagen 1).



*Imagen.1 Aparato reproductor de la hembra.
En la ilustración de la derecha se observan estructuras indicando sus nombres.*

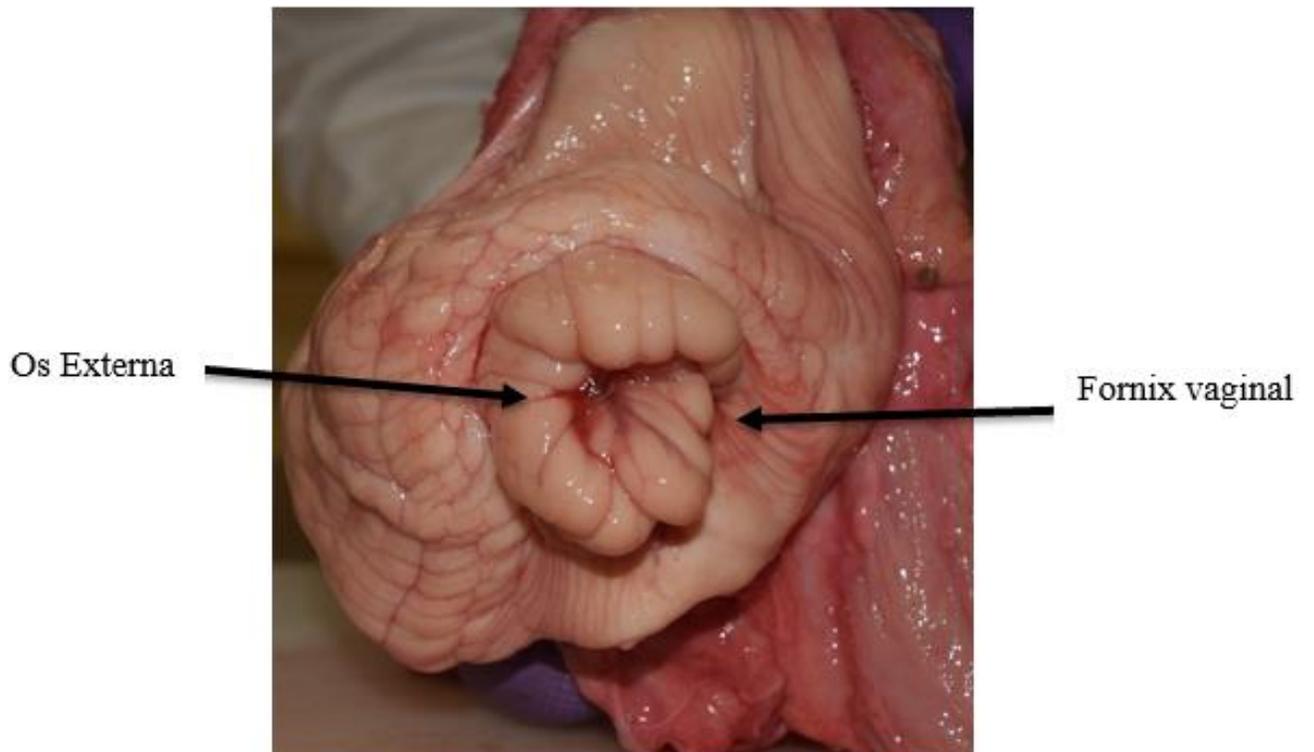
La **vulva** es la parte externa del aparato reproductor de la vaca, se compone de los labios vulvares; izquierdo y derecho, encontrándose en el centro de ambos, el clítoris (Imagen 2).



*Imagen.2 Vulva.
Órganos sexuales externos de la hembra.*

La **vagina** es un órgano tubular que se extiende desde el orificio externo del útero hasta la desembocadura de la uretra; es en donde se produce la copula. A la palpación la vagina se siente como una estructura de pared gruesa.

El **cérvix** es un órgano tubular que separa el útero de la vagina. El lumen del cérvix se denomina canal cervical, el cual comienza en el orificio interno del útero (os interna) en la cavidad del cuerpo uterino, pasando por al menos tres anillos cartilagosos y terminando en un orificio externo (os externa) este último forma parte de la vagina y allí es rodeado por el fornix vaginal (Erich, y col. 2005) (Imagen 3 y 4).

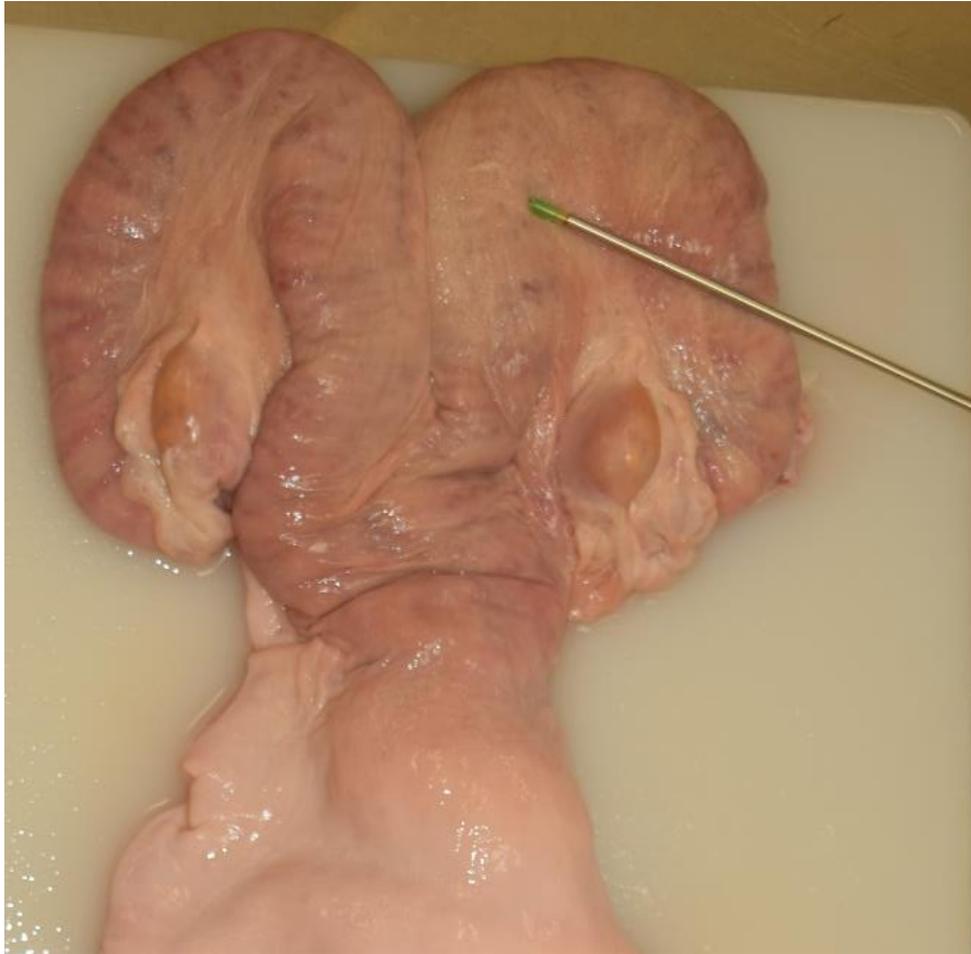


*Imagen.3 Os externa y Fornix.
Se aprecia parte de la vagina y el cérvix abierto.*



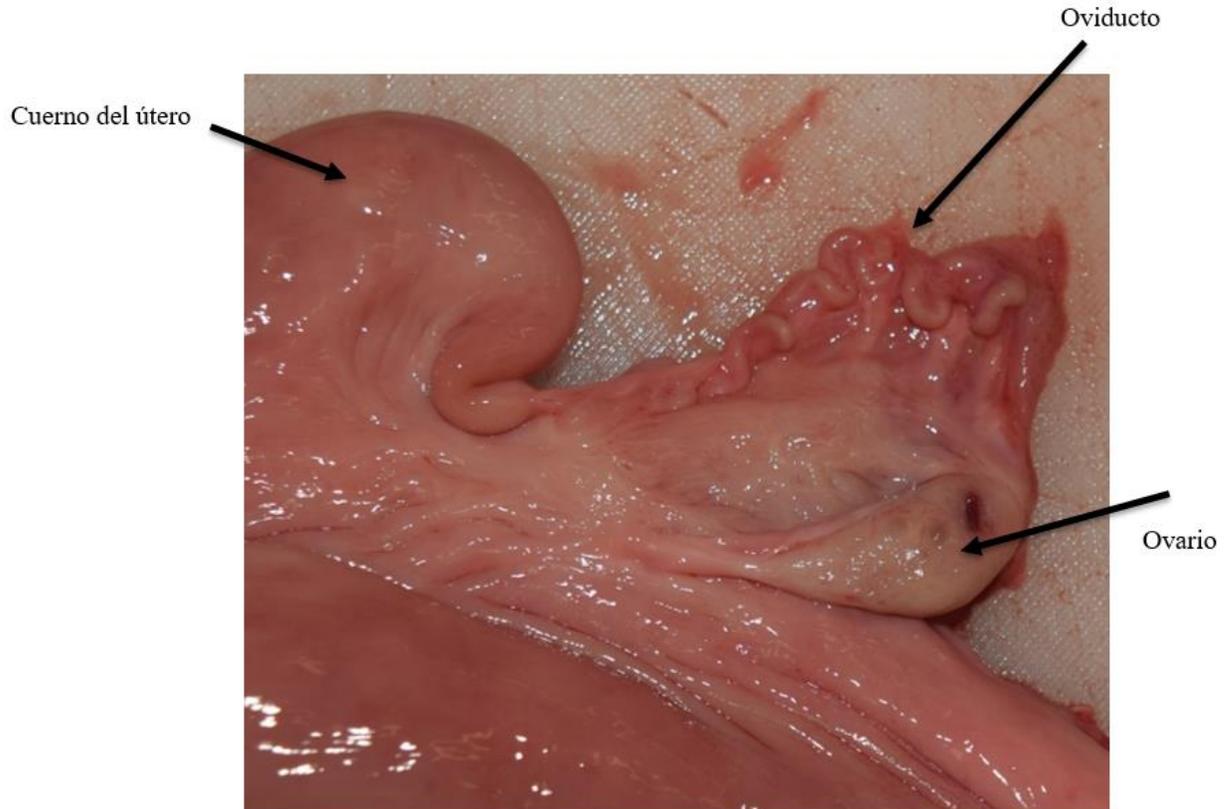
*Imagen.4 Diferentes formas del cervix.
En esta foto podemos observar que el cervix de la izquierda esta retorcido en forma de "S", y el cervix de la derecha esta recto.*

El **útero** posee un cuerpo y dos cuernos los cuales están enrollados, los extremos de éstos están situados en la cavidad abdominal por delante del hueso del pubis. (Imagen 5).



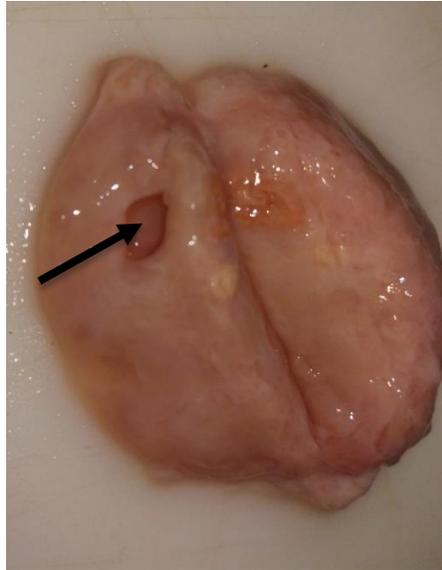
*Imagen.5 Cuernos del útero.
El aplicador nos indica una parte del útero.*

El **Oviducto** son estructuras de luz estrecha, compuesta por una capa serosa, una muscular y una mucosa. El extremo del lado del ovario del oviducto tiene forma de embudo (infundíbulo) y capta al ovulo. Después del infundíbulo se encuentra un segmento ligeramente dilatado del oviducto en donde tiene lugar la fertilización; después se transporta a través de una extensa, contorneada y estrecha porción del oviducto; el itsmo; hasta llegar al extremo del cuerno del útero (Galina, y col. 2008) (Imagen 6).



*Imagen.6 Aparato reproductor.
Las flechas señalan el oviducto, en los extremos el ovario y el cuerno del útero.*

Los **ovarios** son órganos pares suspendidos en la pared abdominal ventral, en posición craneal con respecto al pubis. Tienen forma ovoide, semejante a una almendra, son de consistencia firme y por lo general poseen folículos que se desarrollan en la corteza del ovario de la hembra sexualmente madura. Se diferencian los siguientes tipos de folículos: primordial, primario, secundario, terciario y de Graaf; este último está listo para desprenderse durante la ovulación, llegando a medir 2 cm de diámetro (Derivaux, y col. 1996) (Imagen 7).



*Imagen.7 Corte transversal de un ovario.
La flecha señala la fosa en donde estaba un folículo de Graaf.*

El **Cuerpo lúteo** se forma después de la ovulación; las células que han permanecido en el folículo se colapsan hacia la cavidad central, donde los espacios serán llenados por tejido conectivo y capilares sanguíneos (Imagen 8).



*Imagen.8 Cuerpo lúteo.
Se puede observar un ovario con un cuerpo lúteo maduro,
señalado con la flecha.*

1.2. Fisiología del ciclo estral

Las vacas son poliéstricas continuas, es decir que presentan ciclos estrales durante todo el año; dichos ciclos tienen una duración en promedio de 21 días. El ciclo estral está regulado a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Imagen 9); el cual actúa a través de un sistema de retroalimentación positiva y negativa. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida en el hipotálamo, es secretada de manera pulsátil; cuando los pulsos son de baja frecuencia y alta amplitud, se estimula la síntesis y secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y cuando los pulsos son de alta frecuencia y baja amplitud se libera la hormona luteinizante (LH), estas gonadotropinas son producidas en la hipófisis anterior y actúan directamente sobre los ovarios, la FSH induce el crecimiento y desarrollo folicular, la LH la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. El ovario sintetiza y libera inhibina, progesterona y estradiol; este último producido por el folículo tiene acciones sobre distintos órganos blancos como son las tubas uterinas, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central, el cual estimula la conducta de celo y tiene una retroalimentación positiva con el hipotálamo, haciendo que los niveles de GnRH aumenten. La progesterona, producida por el cuerpo lúteo prepara al útero para la implantación embrionaria y mantener la gestación; en el hipotálamo tiene una retroalimentación negativa, haciendo que los niveles de GnRH disminuyan. La inhibina es producida por el folículo ovárico y tiene una retroalimentación negativa en la hipófisis, produciendo una menor cantidad de FSH. También el útero participa en la regulación del ciclo estral, produciendo la prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$), la cual tiene un efecto luteolítico (Derivaux, y col. 1996).

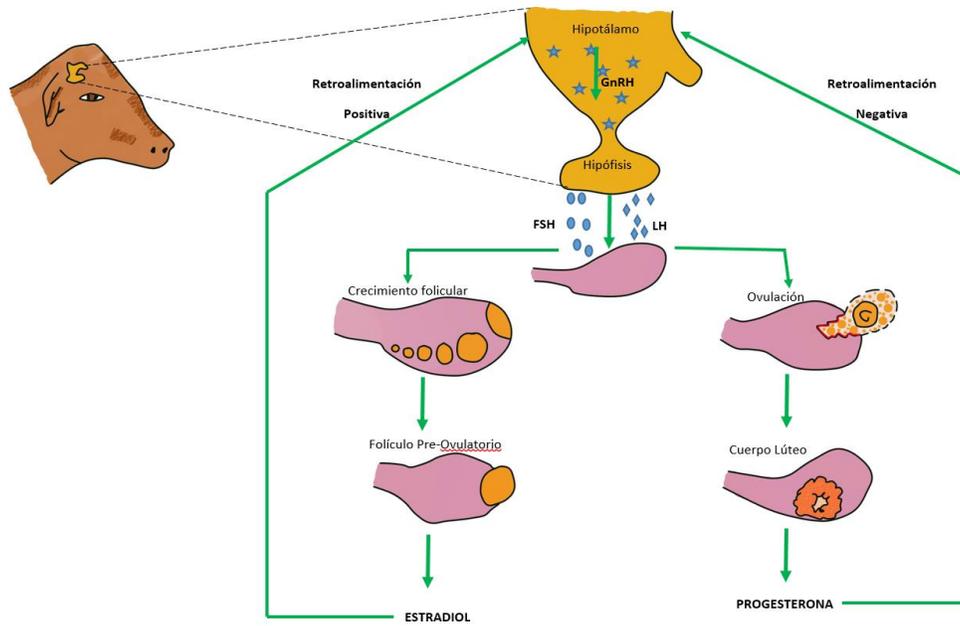


Imagen.9 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

1.2.1. Etapas del ciclo estral

El ciclo estral consta de dos fases y 4 etapas, dependiendo de las estructuras ováricas predominantes: fase folicular (proestro y estro) y fase lútea (metaestro y diestro) (Galina, y col. 2008). El proestro se inicia con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior; ocasionado por la acción de la $PGF2\alpha$; y termina con el inicio del celo. Los niveles de progesterona disminuyen y el efecto de retroalimentación negativa ejercido sobre la hipófisis desaparece, dando lugar a la secreción constante de la FSH, regulada por el estradiol y la inhibina folicular (Lamb, y col. 2009). La frecuencia de secreción de la LH incrementa, mientras que la amplitud de sus pulsos disminuye, provocando el incremento en la producción del estradiol; este estimula la formación de receptores para GnRH en la hipófisis y la secreción de GnRH por el hipotálamo, acelerándose la liberación pulsátil de LH (Galina, y col. 2008). Durante esta fase, ya existe un folículo o folículos dominantes que llegarán a

ser estructuras de 8 mm a 2 cm con la apariencia de una ampolla llena de líquido folicular que producirán estrógenos, iniciando la preparación del aparato reproductor para el apareamiento. Es aquí cuando comienza el estro, que es la etapa de receptividad sexual o celo, en donde el signo principal es que la hembra busca activamente al macho, acepta el apareamiento y la monta; También se observan otros signos de conducta sexual inducidos por los estrógenos, como inquietud, aumento de la locomoción, vocalizaciones, tumefacción vulvar, descarga de moco transparente de la vulva. El incremento en los niveles de estrógenos del folículo preovulatorio alcanza los centros nerviosos del hipotálamo que controlan las manifestaciones externas del celo; durante este periodo se ejerce una retroalimentación positiva entre el estradiol y la LH, produciendo el pico de LH que será responsable de la ovulación (Rippe, 2009). La ovulación ocurre durante el metaestro, que es el periodo de transición entre la predominancia estrogénica y el incremento en las concentraciones de progesterona, y en donde todas las manifestaciones de celo desaparecen. Los niveles de FSH aumentan unas horas después del pico de LH, relacionándose con el inicio de la primera oleada folicular. Después de la ovulación el folículo se llena de sangre, desarrollándose el cuerpo hemorrágico, bajo la influencia de la LH, posteriormente las células de la granulosa y de la teca del folículo comenzarán su luteinización; estos cambios ocurren entre el día 5 a 7 del ciclo estral (Galina & Valencia 2008). El diestro se caracteriza por la presencia de un cuerpo lúteo funcional hasta su total regresión y la producción de progesterona; además de ser la etapa más larga del ciclo estral. Durante esta fase, la progesterona alcanzará sus máximos niveles en torno al día 10 del ciclo estral y se mantendrá hasta el día 16 o 18 dependiendo si hay presencia de un embrión o no. La progesterona ejercerá un efecto negativo en la liberación de LH y un incremento en la liberación de FSH para aumentar el desarrollo folicular y las concentraciones plasmáticas de estradiol e inhibina (Galina, y col.

2008). Si durante este periodo no ocurre la fertilización, el útero casi al final del diestro comenzará la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$, la cual será transportada a través de un mecanismo de contracorriente por la vena útero-ovárica a la arteria ovárica, y de ahí al cuerpo lúteo para comenzar la luteolisis, con ésta los niveles de progesterona disminuyen; comenzando un nuevo ciclo (Lamb, et al. 2009).

CAPÍTULO 2. Inseminación Artificial

2.1. Programas de sincronización del estro

Existen varios protocolos disponibles para sincronizar estros en las vacas. Se han diseñado métodos que imitan o controlan el cuerpo lúteo en el ovario, así como métodos para controlar la ovulación y/o las olas foliculares que ocurren en el ovario durante los 21 días del ciclo estral.

- **Sincronización con PGF2 alfa**

La utilización de prostaglandinas es ampliamente utilizada para sincronizar las manifestaciones de celo de hembras y de esta manera mejorar la tasa de servicios en los hatos. La prostaglandina causa la regresión del cuerpo lúteo a partir del día 5 del ciclo estral y su efecto luteolítico es máximo entre los días 12 y 17; normalmente las vacas ciclando tendrán un cuerpo lúteo que responde a la PGF solamente en un 60% de las veces. En consecuencia, una sola inyección de PGF solamente provocará que el 60% de las vacas tengan un celo sincronizado y este ocurrirá entre los 2 y 7 días después de la inyección. En este protocolo se detectan estros cinco días seguidos y se inseminan a las hembras en calor. A las hembras que no mostraron calor durante este periodo se les aplicará una dosis de prostaglandina en el día 6. Se realiza la detección de estros de las vacas tratadas y se inseminan en los siguientes cuatro o cinco días (Mexicano, 2009).

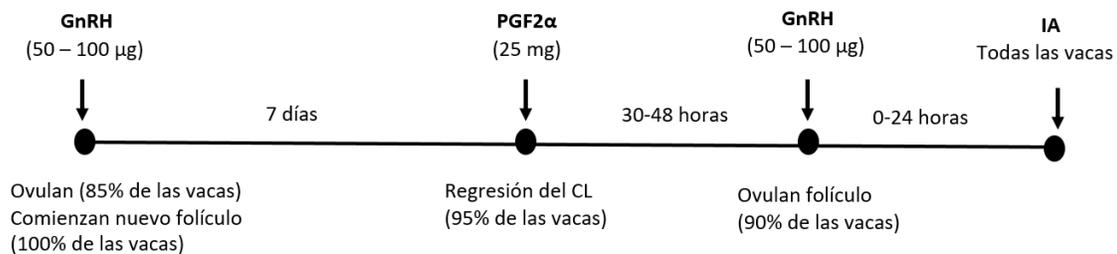
Se pueden utilizar dos aplicaciones de PGF con intervalos de 11 a 14 días, las cuales son efectivas cuando hay una gran proporción de hembras ciclando, pero cuando hay hembras en anestro, condición bastante común en animales en pastoreo en zonas tropicales, hay bajos índices de sincronización y tasa de preñez (Barucelli, y col. 2008).

Este protocolo consiste en aplicar una dosis de prostaglandinas a las vacas en el día 0, a partir de este día y hasta el día 7 se detectan celos e inseminan a las vacas que demuestren calor, las vacas que no demostraron celo se les aplicará una segunda dosis de prostaglandina en el día 12, a partir de este día y hasta el día 18 se detectan celos e inseminan a las vacas que presentaron calor, a partir del día 19 hasta el día 40 se volverán a inseminar a las vacas que demuestren celo (Mexicano, 2009).

- **Ovsynch**

La meta principal de este protocolo es disminuir la variación entre los animales en el momento de la ovulación luego del tratamiento con prostaglandina.

Este protocolo utiliza análogos de GnRH, seguidos de la aplicación de PGF2 α luego de 7 días, una segunda aplicación de GnRH a las 48 hrs. de la aplicación de PGF2 α y se realiza la inseminación artificial a las 15 a 24 h de la segunda aplicación de GnRH (Imagen 10).



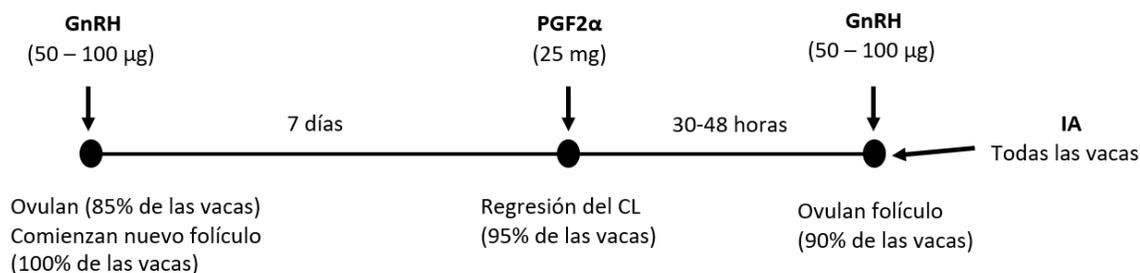
*Imagen.10 Protocolo Ovsynch.
Sincroniza la ovulación mejor en vacas lecheras que en novillas.*

Este programa solamente sincroniza la ovulación en alrededor de un 60-70% de las novillas en comparación con un 90% de las vacas lecheras en lactancia. Este protocolo permite un

manejo reproductivo más eficiente en las vacas lecheras en lactancia puesto que las vacas pueden ser servidas en tiempo correcto sin la necesidad de detectar el celo en forma continua (Jacomé, 2012). La primera GnRH causa un pico de LH y esta a su vez provoca la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, surgiendo una nueva onda de crecimiento folicular 2 a 3 días después. La PGF2 α a los 7 días lisa el cuerpo lúteo y la segunda GnRH sincroniza la ovulación.

- **Cosynch**

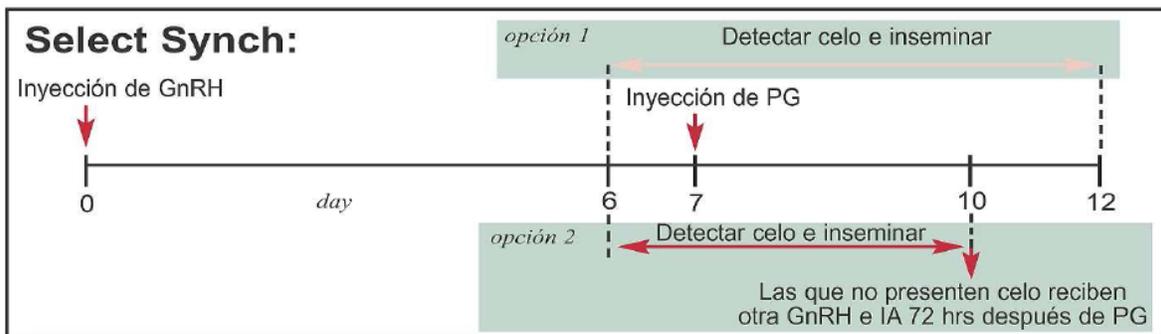
Es un protocolo en el cual las vacas reciben la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) inmediatamente después de la administración de la segunda inyección de GnRH. El uso de este protocolo permite a los productores que la manipulación de todas las vacas ocurra a la misma hora cada día (Jacomé, 2012) (Imagen 11).



*Imagen.11 Protocolo Cosynch.
Facilita la manipulación de las vacas a la misma hora.*

- **Select Synch**

El protocolo consiste en una inyección de GnRH seguida de una dosis de prostaglandinas 7 días después, se empezarán a detectar calor 24 hrs. antes de la aplicación de prostaglandinas (día 6) y durante siete días después. Las vacas detectas en estro serán inseminadas 12 hrs. después (Imagen 12). La ventaja de este protocolo en comparación con el ovsynch y el cosynch es el ahorro del costo de una inyección de GnRH y del trabajo requerido para manejar a los animales para esa inyección adicional (Mexicano, 2009).



*Imagen.12 Protocolo Select Synch.
Ahorro de tiempo y producto, comparado con los protocolos anteriores.*

- **MGA y PGF**

El acetato de melengestrol (MGA) es un progestágeno de administración oral, de bajo costo y de baja toxicidad; sin embargo, la sincronización con MGA ha tenido resultados buenos en cuanto a una buena sincronización de celos, pero baja fertilidad debido al desarrollo de un folículo persistente y la ovulación de un ovocito no viable. Por lo tanto se ha desarrollado un protocolo que consiste en la administración de 0.5 mg MGA/cabeza/día por 14 días en el alimento, seguido de una inyección de PGF_{2α} 17 días después de suspenderse la administración de MGA, entre el día 31 y el 36 se detectaran a las vacas que presentaron celo

para así inseminarlas, las vacas que no manifestaron celo se les dará una segunda inyección de prostaglandina el día 42, para que manifiesten celo entre los días 42 y 47, y así poder inseminarlas. El porcentaje de preñez será óptimo si se insemina artificialmente a las 12 hrs. de observado el celo (Barucelli, y col. 2008).

- **Norgestomet y Valerato de Estradiol**

Una de las bases hormonales que se utiliza para la manipulación de estros, son los implantes de progestágenos los cuales son colocados en forma subcutánea en la oreja por un periodo de 9 o 10 días. Actualmente en el mercado, los implantes de progestágenos contienen 3 mg de norgestomet; junto con la inserción del implante se coloca una solución oleosa por vía IM que contiene 5 mg de valerato de estradiol (estrógeno de vida media larga). El valerato de estradiol induce la luteolisis y se obtienen altos niveles de progestágeno con el norgestomet (Uribe, y col. 2012). En trabajos que utilizaron implantes de norgestomet y valerato de estradiol en bovinos, demostraron que más del 90% de los animales manifiestan celo después de retirado el implante, con tasas de concepción (a la IA 12 hrs pos celo) del 33 al 68% (Barucelli, y col. 2008).

- **MGA, GnRH y PGF**

El acetato de melengestrol (MGA) es un progestágeno de administración oral, el cual se proporciona durante 14 días en el alimento; entre el día 14 y el día 26 los animales tratados desarrollaran un celo sub-fértil, el día 26 se les aplicará GnRH y prostaglandina, para así poder detectar a los animales que entran en celo y poder inseminarlos (Mexicano, 2009).

- **CIDR**

Son las siglas inglesas de “Controlled internal drug release”; se trata de un dispositivo intravaginal en forma de T y está compuesto de silicona impregnada en 1.38 g de progesterona, que libera diariamente de 80 a 100 mg de la sustancia activa, unido a un hilo de nylon que permite retirarlo del fondo vaginal en el momento adecuado (Jacomé Silva, 2012). Resincronización del retorno al celo de vacas que después de inseminadas no quedan gestantes: inserción del CIDR del día 14 al 21 pos-inseminación, el día 21 se retira el CIDR y se presenta el celo en las vacas. Sincronización del celo en novillas: el día 0 se les coloca el CIDR, en el día 7 se retira el dispositivo intravaginal y se les aplica 5ml de Lutalyse (dinoprost-trometamina), del día 8 al 11 se inseminarán a las vacas que muestren celo (Mexicano, 2009).

2.2. Identificación de la vaca en estro

La detección del estro se vuelve una práctica muy importante, que nos permite la exclusión de vacas que aún no están listas para la inseminación. Las vacas pueden presentar tres niveles en la manifestación conductual del estro; atracción, proceptividad y receptividad. La atracción se mide en función del grado en que la hembra evoca respuestas sexuales al macho. La respuesta depende tanto de los olores que ella produce como de su proceptividad, es decir, la medida en la que manifieste comportamiento de invitación o solicitud, y la receptividad es la predisposición de la hembra a aceptar el cortejo y la cópula del macho (Sepúlveda, y col. 2003).

Las siguientes características observables, son típicas de una vaca en celo:

- Acicalamiento: Las vacas en celo se olfatean cerca de la cola, el acicalamiento mutuo aumenta; es por esto por lo que se puede encontrar saliva o lodo en sus flancos y espalda (Imagen 13).



*Imagen.13 Vaca en celo.
Las flechas indican el acicalamiento que la vaca ha tenido por parte de sus compañeras.*

- Monta: al inicio del estro las vacas suelen montarse una a la otra; sin embargo cuando una vaca se mantiene quieta permitiendo la monta de su compañera quiere decir que esta lista para ser inseminada. Muchas veces no logramos observar esta conducta por falta de tiempo; pero se puede observar el pelo de los flancos hirsuto o levantado en la base de la cola, signo de que se ha dejado montar (Imagen 14).

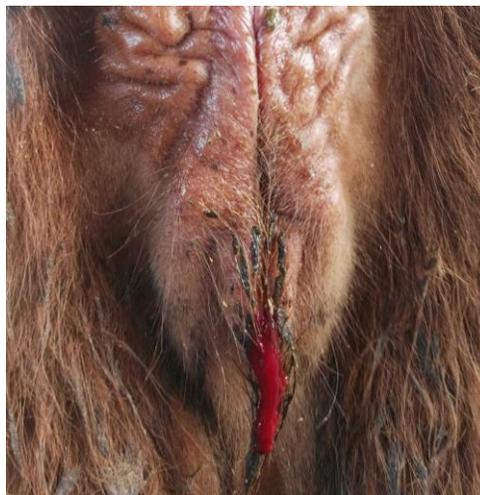


*Imagen.14 Características de Vaca en Celo.
Panel A, pelo levantado en base de la cola. Panel B, aceptación de monta.*

- Vulva: Los genitales también presentan cambios, tumefacción de la vulva, y al realizar masaje del cervix se observa que sale un moco cristalino abundante por la vulva (Imagen 15 y 16).



*Imagen.15 Moco Cristalino.
Característico de una vaca en celo, lista para inseminación o monta.*



*Imagen.16 Vaca en Metaestro.
Moco con un poco de sangre, indicativo de que el celo ya ha pasado.*

- Conducta: Las vacas en estro suelen estar más inquietas; caminan más e intentan montar o ser montadas por sus compañeras, se puede observar que su alimentación

y tiempo de rumia disminuyen, las vocalizaciones aumentan y suelen orinar con mayor frecuencia manteniendo la cola levantada (Imagen 17).



*Imagen.17 Vacas en celo.
Las vacas se mantienen activas interactuando con sus compañeras*

La duración del estro generalmente es de 10 a 18 h; Sin embargo, existe una variación considerable entre animales. Aunque ya se han mencionado algunos de los signos primarios del estro en el ganado, existen una serie de herramientas en la detección estral disponibles para ayudar a los productores, como son los parches para detectar celos o el marcaje del maslo de la cola con pintura o crayón (Imagen 18).



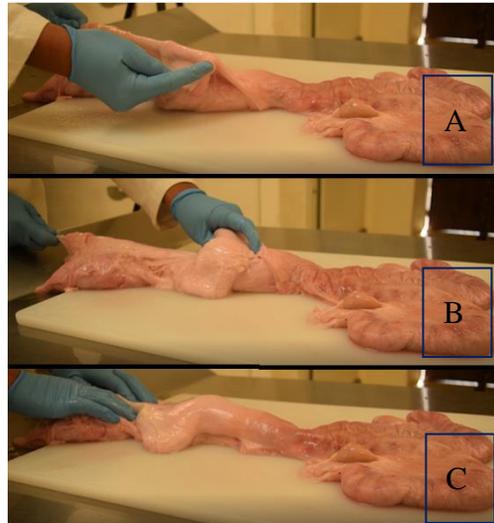
*Imagen.18 Parche para detectar celos.
Panel A, el parche nuevo es de color gris. Panel B, conforme la vaca permite la monta por parte de sus compañeras, el parche por frotación toma un color anaranjado; permitiendo al productor desde lejos la detección de las vacas listas para IA o monta natural.*

2.3. Técnica de inseminación artificial transrectal

La inseminación artificial en bovinos se desarrolló comercialmente a principios de los años 30 del siglo pasado, y continúa siendo una técnica fundamental para la difusión del material genético. La eficiencia de la inseminación dependerá de la deposición suficiente de espermatozoides viables en el lugar adecuado del tracto genital de la hembra y el momento justo del estro (Salgado, y col. 2015).

Se recomienda que antes de manipular el aparato reproductivo de una vaca viva, se empiece a practicar la identificación de estructuras del aparato reproductor con material de rastro. Esto para facilitar al alumno la distinción de las estructuras y la fuerza ejercida para no lastimar al animal (Imagen 19).

Imagen.19 Pipeteo.
 Esta técnica ayuda al alumno a tener una imagen mental de todo el proceso que debe realizar al momento de inseminar. Panel A, ubicación de la pipeta en vagina. Panel B, localización de la entrada al cérvix. Panel C, movimiento libre de la pipeta al pasar por el cérvix y llegar a útero.



2.3.1. Equipo y materiales

Para implementar la técnica de inseminación artificial, se debe de contar con el material y equipo necesario a la mano para prevenir contratiempos y un mal manejo del semen.

El contenedor de nitrógeno provee al semen un ambiente extremadamente frío para su conservación (-196°C); a pesar de su apariencia robusta está lejos de ser indestructible, su duración es a veces de 20 años o más (Hernández, y col. 2002) (Imagen 20).

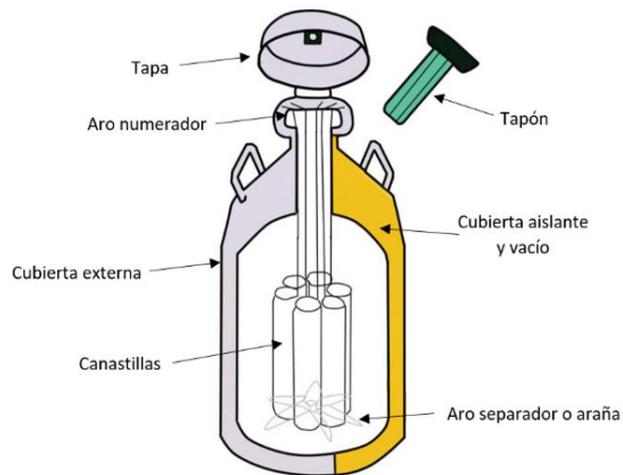


Imagen.20 Contenedor de nitrógeno.
 Izquierda: foto del contenedor en campo. Derecha: la ilustración muestra las partes que lo componen.

Dentro del contenedor se pueden encontrar canastillas y dentro de estos gobeletes que son pequeñas canastillas para las pajillas de semen. Los gobeletes ayudan a mantener un orden con las diferentes pajillas de semen, según el toro (Hernández & Ortega, 2009) (Imagen 21 y 22).



*Imagen.21 Canastilla.
Dentro de esta se colocan los
gobeletes.*



*Imagen.22
Gobelete y porta Gobelete. El
recipiente anaranjado es el
gobelete, que está dentro de una
porta gobelete.*

Las pinzas están diseñadas para poder extraer las pajillas del interior de las canastillas del termo y de esta manera evitar el contacto directo con el material congelado (Imagen 23).



*Imagen.23 Pinzas para pajilla.
Evitan el contacto directo con la pajilla de semen.*

El cortador o las tijeras ayudan a hacer un corte transversal en la pajilla para que se pueda expulsar en el momento adecuado en el útero de la vaca (Imagen 24).



*Imagen.24 Cortador de pajilla.
Permite la apertura de la pajilla de
semen.*

El recipiente de descongelación servirá para mantener agua en la temperatura de descongelamiento de las pajillas (37°C), de manera constante y por un tiempo suficiente (Imagen 25).



*Imagen.25 Recipiente de descongelación eléctrico.
Ayuda a mantener el agua en una temperatura constante.*

El termómetro nos ayudará a saber en qué momento el agua ha alcanzado la temperatura ideal para la descongelación de las pajillas; así mismo nos ayudará a saber si la temperatura se mantiene dentro del límite deseado (Imagen 26).



*Imagen.26 Termómetro digital.
Nos indicara la temperatura del agua para descongelar las pajillas.*

Los guantes de inseminación deben de ser desechables y de preferencia de un plástico delgado, es recomendable utilizar un guante por cada vaca (Imagen 27).



*Imagen.27 Guantes de palpación.
Se debe de utilizar uno por animal.*

Las toallas deben ser desechables y absorbentes, nos servirán para secar las pajillas después de su descongelación y para la limpieza de la vulva antes de la introducción del aplicador de semen (Imagen 28).



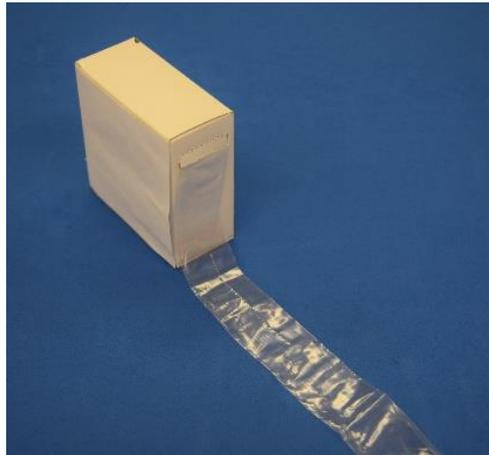
*Imagen.28 Toallas desechables.
Servirán para la limpieza de la vulva en la IA.*

Las fundas, son unas estructuras cilíndricas de plástico que irán por encima de la pajilla y del aplicador, se utiliza una por vaca (Imagen 29).



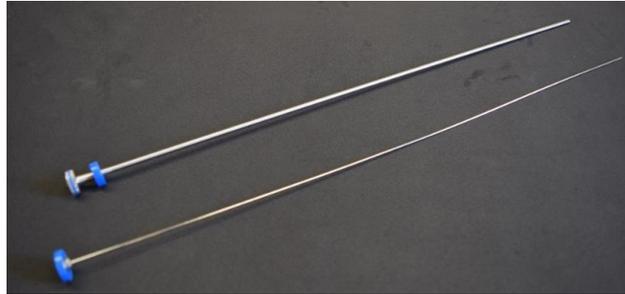
*Imagen.29 Fundas desechables.
Se utiliza una por animal.*

La camisa sanitaria o Chemise, es una envoltura de plástico que ayudaran a que la funda llegue limpia hasta la entrada del cérvix; esto ayuda a prevenir la metritis y ayuda a mejorar las tazas de fertilidad (Imagen 30).



*Imagen.30 Chemise.
Protege la funda de las impurezas que se encuentran en la vagina.*

El aplicador o pistola de inseminación es un equipo de acero inoxidable que se emplea para sujetar las pajillas y de esta manera se pueda depositar el semen sin que se derrame o contamine. Existen diferentes tipos de aplicadores según el diámetro de las pajillas de semen, hoy en día el más usado es el aplicador universal, que tienen en cada extremo un diámetro interno diferente, los cuales son 0.25cc y 0.50cc (centímetros cúbicos) (Imagen 31).



*Imagen.31 Aplicador universal.
Tiene dos diámetros de 0.25 cc y 0.50 cc.*

2.3.2. Descongelación y manejo del semen

En el momento a descongelar el semen, se debe ser cuidadoso para evitar dañarlo; por lo que se recomienda seguir los siguientes pasos:

- Seleccionar la canastilla para sacar de esta una pajilla, tomándola con unas pinzas y teniendo cuidado de que la canastilla no sobrepase el cuello del contenedor, ya que se estaría exponiendo a la temperatura ambiente, perjudicando el esperma (Imagen 32).

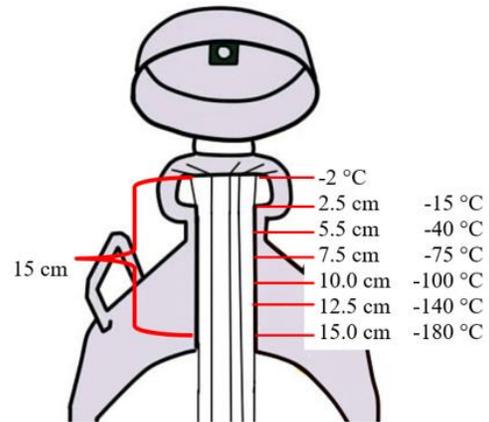


Imagen.32 Diagrama con temperaturas del contenedor de nitrógeno. Se observa el método de cómo sacar una pajilla de semen, respetando que las demás pajillas permanezcan dentro del contenedor.

- Colocar la pajilla en un recipiente con agua a 35-37°C durante 45 segundos, para su descongelación, permitiendo la movilidad de los espermatozoides (Imagen 33).



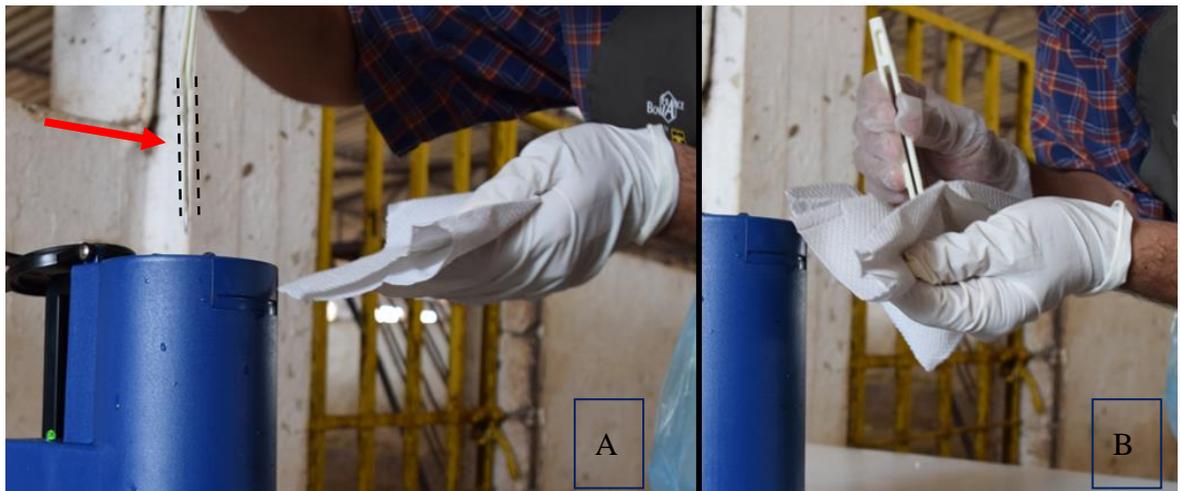
Imagen.33 Descongelación del semen. Se debe de colocar durante 45 segundos en el recipiente eléctrico.

- El embolo del aplicador se retrae, para poder colocar la pajilla en esta, colocando después la funda para que se proteja la pajilla (Imagen 34).



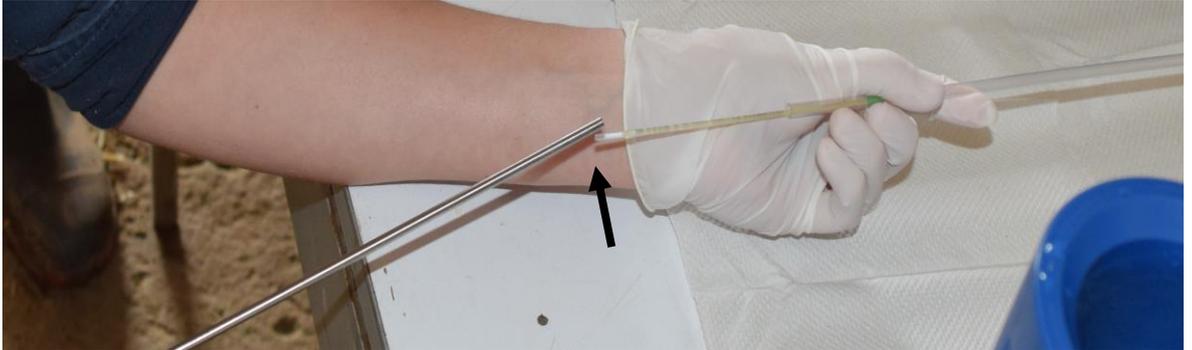
*Imagen.34 Retracción del embolo.
Es importante hacer esta acción para que la pajilla
entre en el aplicador.*

- Una vez descongelada la pajilla, se debe secar perfectamente con un pedazo de papel limpio, ya que el agua es espermaticida (Imagen 35).



*Imagen.35 Secado de pajilla.
Panel A, la flecha señala la pajilla justo en el momento que es sacada del termo;
panel B, se observa la forma en que es secada.*

- Se coloca la pajilla en la pistola, teniendo cuidado que el taponcillo de algodón quede hacia el sentido del embolo (Imagen 36).



*Imagen.36 Armado del aplicador.
La flecha señala la posición de la pajilla al ser introducida
en la pistola o aplicador.*

- Se corta el extremo opuesto de la pajilla con unas tijeras, para después colocarla en la pistola o estando en la misma (Imagen 37).



*Imagen.37 Corte de pajilla.
Es necesario para que el semen pueda salir.*

- La colocación de la funda en la pistola de inseminación se hace después de haber puesto la pajilla en la misma, teniendo cuidado de que el seguro que viene dentro de la funda, embone con la pajilla para que no se derrame el semen antes de introducirlo en el tracto reproductivo de la vaca (Imagen 38).



*Imagen.38 Pajilla en el seguro de la funda.
La flecha señala la pajilla embona con el seguro de la funda.*

- Una vez colocada la funda en la pistola, se asegura con una arandela, y de esta manera se puede evitar que se salga de su lugar con el movimiento brusco; y se coloca el chemise (Imagen 39).



*Imagen.39 Colocación del chemise.
Panel A, la flecha amarilla señala la arandela que debe de ser asegurada; panel B, se observa cómo debe de ser colocado el chemise.*

- Utilizar el semen inmediatamente después de descongelar la pajilla y armar el aplicador (Imagen 40).



*Imagen.40 Inseminación Artificial.
Panel A, se muestra el aplicador después de su armado; panel B, se observa la técnica de inseminación artificial en una vaca.*

La pajilla tiene un tiempo máximo de uso de 10 minutos una vez descongelada (mientras siga en el agua a la temperatura adecuada), la pajilla que exceda este tiempo ya no deberá usarse (Kurykin, y col. 2006).

2.3.3. Manipulación del tracto reproductivo durante la inseminación artificial

Se debe realizar una inspección del tracto reproductor antes de inseminarla; se introduce la mano protegida con un guante de palpación y lubricante, con los dedos formaremos un cono para entrar al recto del animal. Una vez dentro no debemos de forzar contra los movimientos propios del recto (peristalsis), para evitar desgarrar las paredes. Localizaremos el cérvix con ayuda de movimientos de la mano alrededor del piso de la pelvis, una vez localizado se sujeta y se comprueba su movilidad. Logrado esto, se introduce el aplicador evitando tocar los labios vulvares y las paredes de la vagina, llevándolo hasta la entrada del cérvix, una vez ahí se rompe la camisa sanitaria para poder ingresar al cérvix y comenzar la manipulación de

este, con la finalidad de que los anillos se acomoden y el aplicador pueda pasar a través de ellos.

El semen debe de depositarse en el cuerpo del útero, sabremos que hemos llegado a él una vez que se toque nuevamente la punta de la pipeta (Imagen 41).



*Imagen.41 Depósito del semen en IA.
La flecha señala el lugar correcto a depositar el semen, el cuerpo del útero.*

2.4. Factores que pueden afectar la inseminación artificial

Son muchos los factores involucrados para que una gestación por inseminación artificial no sea viable, incluyendo la nutrición, factores ambientales y manejo (Zobel, y col. 2011).

Alteraciones anatómicas de la hembra:

- Alteraciones anatómicas hereditarias que afectan la actividad ovárica: atrofia e hipoplasia bilateral ovárica, freemartinismo y la aplasia segmentaria, entre otras.
- Alteraciones del aparato genital: manipulación incorrecta o traumática de los ovarios, infecciones severas como hidrosalpinx que se caracteriza por la acumulación de moco claro o ligeramente turbio en la luz del oviducto, salpingitis que es una inflamación

del tubo uterino, piosalpinx que es la presencia de exudado purulento dentro del oviducto.

- Los quistes ováricos tienen relevancia en este aspecto, debido a que influyen de una manera determinante en la eficiencia de la reproducción, se determina como enfermedad quística ovárica, que es causa importante de comportamiento anormal e infertilidad (Perry, 1991).

Factores ambientales:

- Esfuerzo físico, manejo excesivo y maltrato animal: dolor, en este aspecto se puede mencionar el transporte del ganado en camión, exposiciones, lactación, cirugía, enfermedades, etc.
- Hacinamiento: espacios insuficientes por animal, en donde sufren estrés.

Factores de manejo:

- Nutrición inadecuada: las vacas no reciben los nutrientes necesarios en la dieta, como para satisfacer plenamente todos sus requerimientos, dependiendo de la etapa fisiológica en que se encuentre, como etapa de crecimiento, pubertad, gestación y lactancia; de las vitaminas más esenciales en la reproducción podemos mencionar la vitamina A, vitamina E y minerales como calcio, el fosforo y el magnesio (Hafez, 2002).
- Fallas en la detección del celo: esto se puede deber a que hay vacas que no manifiestan los signos del celo (calores silenciosos), fallas de las personas encargadas de la observación del ganado que tienen que detectar los celos, ya sea por aburrimiento o

por falta de conocimientos, o bien, que las vacas no tengan identificación (Rutter, 2006).

- Fallas en el manejo del termo: En este aspecto se pueden identificar algunos errores frecuentes en el manejo, falta de nitrógeno en el termo, que este tenga fugas, que lo coloquemos en lugares no apropiados para su almacenamiento, que se golpee en el transporte (Hidalgo, 1986).
- Fallas en el manejo de la pajilla: los principales errores son, descongelamiento a temperaturas elevadas, sacar la pajilla y regresarla al termo, hacer el corte en el lado opuesto al indicado, y tardar en realizar la inseminación (Imagen 42).



*Imagen.42 Manejo incorrecto de la pajilla de semen.
(A) Toma del semen con la mano.
(B) Descongelación del semen a temperatura no apropiada.
(C) Manipulación de la funda sin higiene.
(D) Colocación incorrecta de la pistola ya armada para
“conservar la temperatura”.
(E) Manejo de la pipeta e Inseminación de la vaca sin
guantes.*

- Fallas en el momento de la inseminación: En este aspecto se toma en cuenta que la reproducción o fertilización se ve afectada, si la inseminación se realiza antes de que haya ovulación o después de la misma (Salisbury, 1978, López-Gatius, 2011).

Durante la inseminación artificial se debe de proporcionar a los animales un ambiente tranquilo, para evitar que se alteren y se dificulte realizar adecuadamente nuestro procedimiento. En cuestiones de la preparación del semen se debe de manejar bajo un lugar con sombra en donde la luz no incida directamente, para evitar daños a los espermatozoides (Imagen 43).



*Imagen.43 Lugar de trabajo.
Debe de tener sombra y ser amplio.*

2.5. Recomendación de instalaciones y seguridad del usuario

Las instalaciones de cualquier unidad de producción pecuaria, deben de estar diseñadas adecuadamente para evitar accidentes, que afecten la integridad física de los animales y del personal (Imagen 44). Por tal motivo, se deben de tener en cuenta diferentes aspectos: corrales o potreros deberán de estar delimitados con materiales que no dañen o lastimen a los animales (Imagen 45).



Imagen.44 Instalaciones.

Panel A, rampa de recepción. Panel B, pasillo de manga etológica. Panel C, Bascula. Panel D, prensa ganadera.



Imagen.45 Corrales.

Se aprecian diferentes tipos de corrales que dan confort a los animales.

Los pasillos internos deberán de ser lisos, sin salientes filosas y con pisos antiderrapantes (Imagen 46).



*Imagen.46 Pasillos.
Movilización de ganado a través de pasillos internos antiderrapantes.
Panel A, pasillo de tierra. Panel B, pasillo de cemento con estriaciones.*

- En la manga de manejo, es importante tener en cuenta la conducta animal, de tal manera que el ganado mire solamente hacia enfrente, para disminuir su visión panorámica (Imagen 47).



*Imagen.47 Manga de manejo.
Observe la fluidez con la que el ganado avanza.*

- La prensa debe de ser de fácil manejo, para evitar accidentes y lesiones hacia el ganado (Imagen 48).



*Imagen.48 Prensa de ganado.
Es importante que solo un operador pueda manejarla, para evitar accidentes.*

La adecuada planeación de instalaciones de manejo, ayuda a facilitar el trabajo y la seguridad tanto de animales como del personal. Para el manejo de ganado bovino, es indispensable comprender el comportamiento de éste; así se facilitará el trabajo, se reducirá el estrés y se mejorará la seguridad del usuario y del animal (Imagen 49).



Imagen.49 Manga etológica.

Las flechas nos indica el movimiento que debe de seguir el usuario para que el o los animales avancen sin problemas.

Para entender la imagen de arriba recordemos lo siguiente; el ganado tiene un zona de fuga y un punto de equilibrio (Imagen 50), si en una zona abierta, el usuario se coloca delante del punto de equilibrio, los animales retrocederán; sin embargo cuando el ganado se encuentra contenido tienen una tendencia a moverse en la dirección opuesta al usuario, cuando este entra en su zona de fuga y cruza el punto de equilibrio (Grandin, 2015).

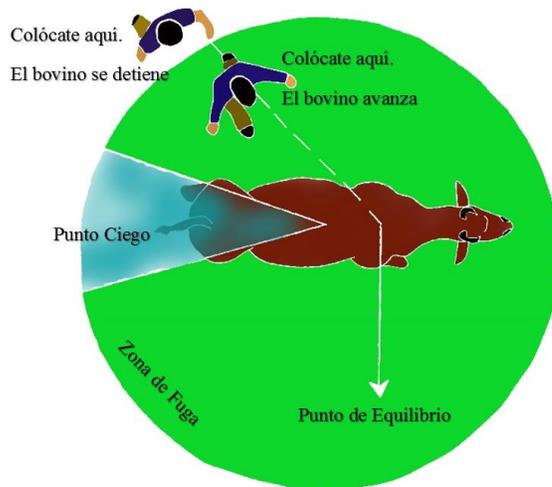


Imagen.50 Zona de fuga y punto de equilibrio. Adaptado de Grandin, 2015.

Una vez que el ganado avanza hacia la prensa ganadera, se debe de tener cuidado en la manipulación de esta; para evitar accidentes.

Para el manejo de la prensa ganadera, si el usuario aún no está familiarizado con esta, se recomienda que sean dos personas las que la manejen; cada una en su respectivo puesto para evitar alguna lesión (Imagen 51), sin embargo, siempre es recomendable que una sola persona la maneje para evitar confusiones y de esta manera hacer más seguro y eficaz el trabajo.



Imagen.51 Manejo de prensa ganadera. Estudiantes que empiezan a familiarizarse con la instalación.

Cuando el bovino se encuentra dentro de la prensa; se debe de verificar que el animal este apretado, esto le ayudará a tranquilizarse (Imagen 52); cuando el animal no se muestra tranquilo se debe de reducir la presión ejercida, y esto se debe llevar a cabo antes de iniciar el manejo.



*Imagen.52 Vaca en prensa.
La prensa contiene a la vaca para que el usuario pueda realizar su trabajo sin riesgo aparente.*

También se debe de verificar que exista la colocación de una tranca en la parte trasera de la prensa; a la altura del corvejón de la vaca, esto para evitar una posible patada durante el manejo. Estas trancas pueden ser de cualquier tipo de material siempre y cuando sean resistentes y puedan proteger al usuario. Durante la colocación de la tranca; el usuario debe colocarse siempre dando la espalda a la cabeza de la vaca; ya que si el animal se mueve el usuario no será aprensado por la tranca (Imagen 53). En caso de que este colocado “detrás”

de la tranca, puede sufrir un accidente, ya que la tranca funcionaria como una palanca, dejando atrapado entre la tranca y la prensa al usuario (Goddard, 1995).



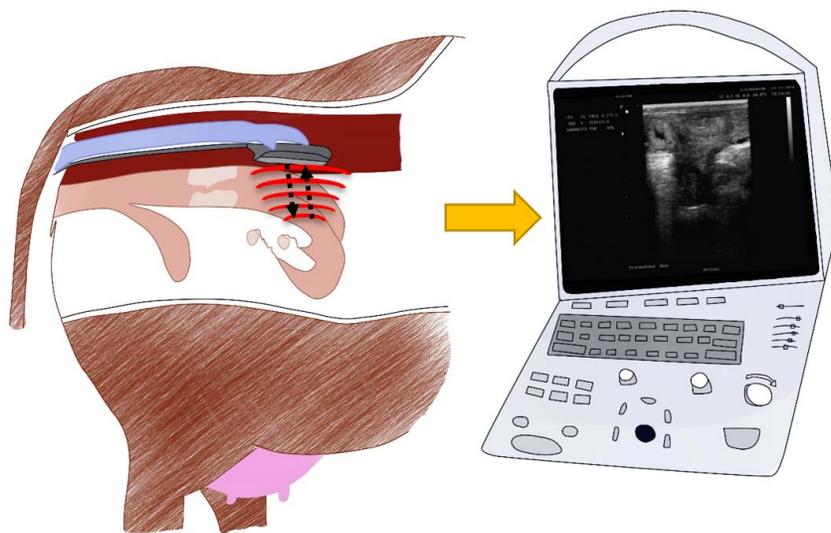
*Imagen. 53 Colocación de tranca.
La flecha nos señala el lado en el que el usuario debe posicionarse durante la colocación de la tranca.*

CAPÍTULO 3. Ultrasonografía

3.1. Principios básicos de la ultrasonografía

Las ondas de ultrasonido tienen características en común con las ondas sonoras audibles, aunque son de una frecuencia más alta y no pueden ser percibidas por el oído humano, de ahí el término ultrasonido (Kidd, y col. 2014). La generación del ultrasonido se da gracias al efecto piezoeléctrico del cristal situado en el transductor; haciendo que los cristales vibren. Las vibraciones son transformadas en una señal acústica, que se propagará a través de los diferentes tejidos que atraviesa, produciendo ecos; estos ecos que regresan chocan con los cristales del transductor convirtiéndolos en una imagen que aparecerá en la pantalla (Goddard, 1995) (Imagen 54).

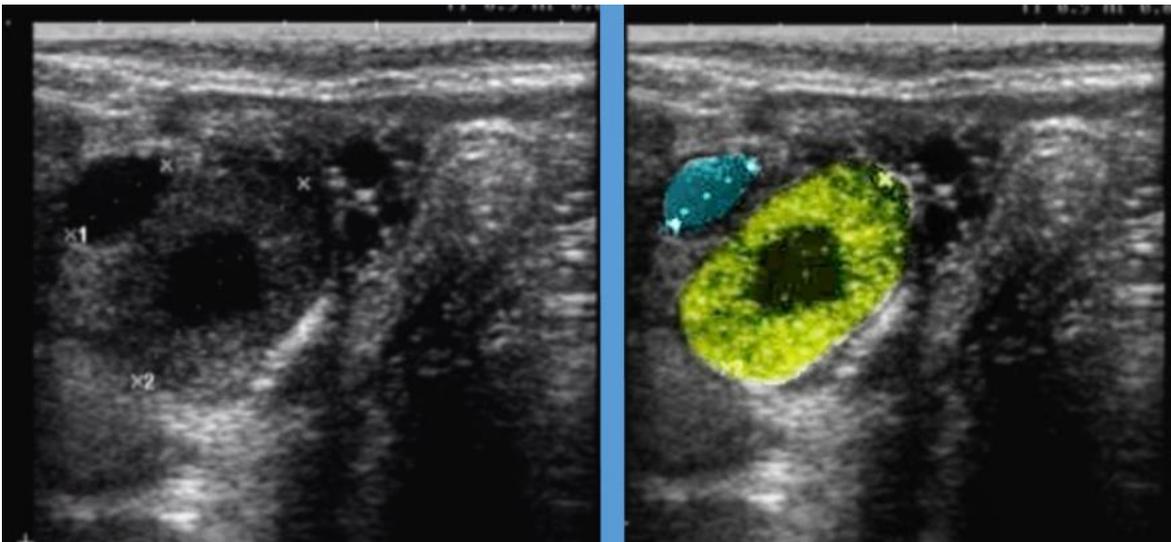
Un cristal será transmisor durante un lapso muy breve, casi 1 microsegundo, y receptor durante un periodo más extenso, cercano a 1 milisegundo (Martinat-botté, y col. 2005).



*Imagen.54 Principios de la imagen.
Ilustración de cómo se forma la imagen ultrasonográfica.*

La producción de la imagen ultrasonográfica depende de la información detallada de la localización y naturaleza de las estructuras, siendo esta última la que nos dará diferentes tipos de propagación de las ondas sonoras, refiriéndonos a esto como la ecogenicidad de los tejidos:

- Anecogénico o Anecoico: estructuras que no reflejan las ondas de ultrasonido, están llenas de líquido y se aprecian de color negro en la pantalla; por ejemplo, la vejiga o los folículos ováricos (Giraldo, 2003) (Imagen 55).



*Imagen.55 Estructuras anecogénicos.
Folículo resaltado en azul; cuerpo lúteo joven resaltado en
amarillo.*

- Ecoico o Ecogénico: estructuras que no reflejan la onda, pero permiten que una parte regrese hacia el transductor, se aprecian en diferentes tonalidades de grises dependiendo el tejido, que comúnmente es blando; por ejemplo, el cuerpo lúteo y el estroma ovárico (Gregory, 2014) (Imagen 56 y 57).

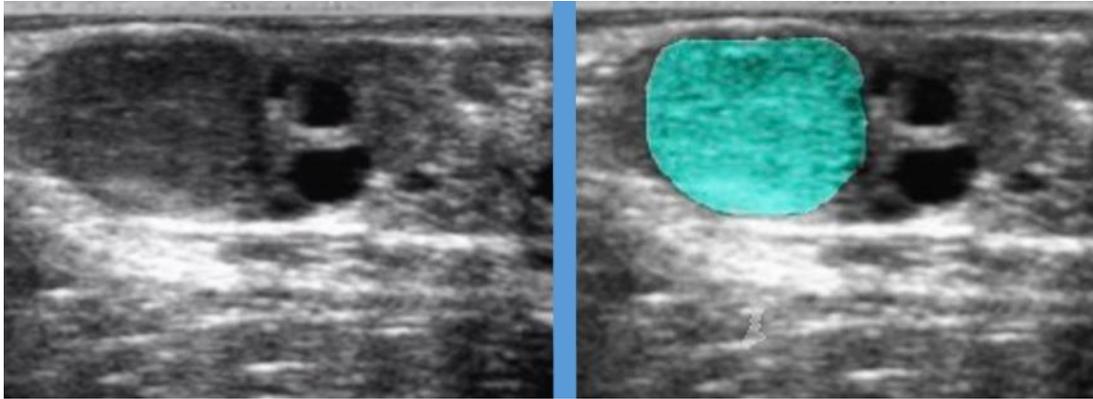


Imagen.56 Estructura ecoico.
Un cuerpo lúteo que abarca gran parte del ovario, resaltado en azul.

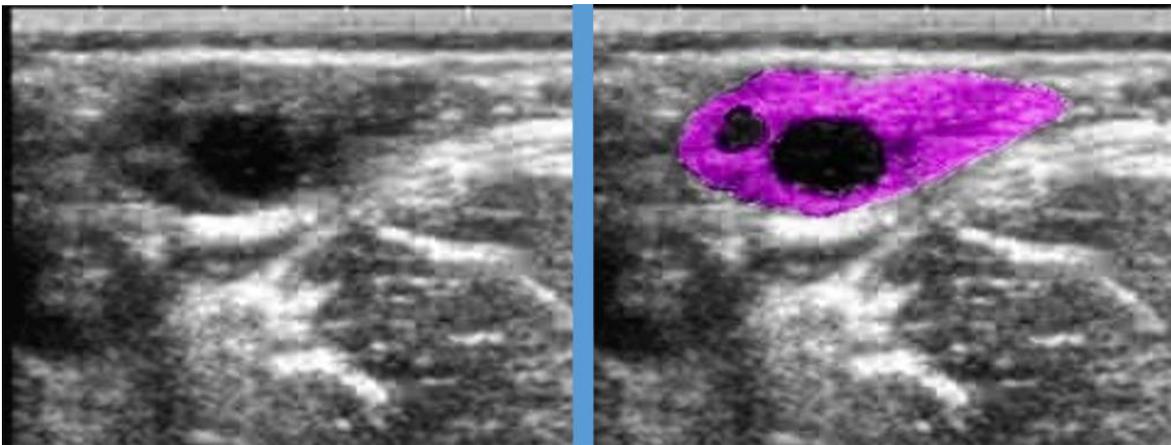
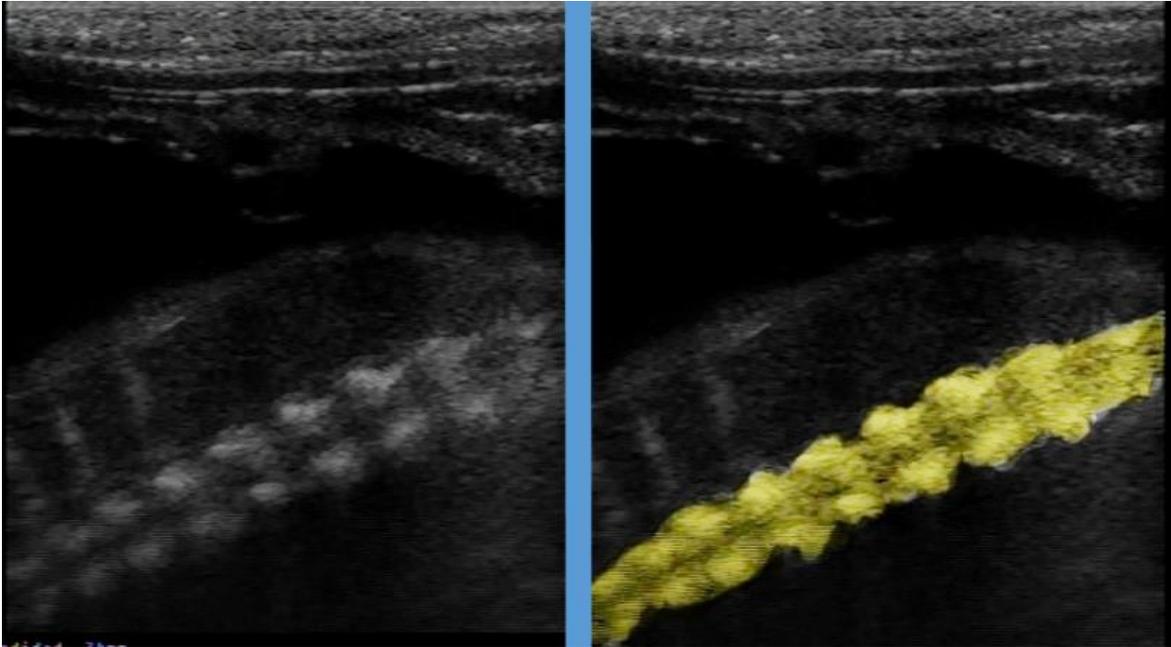


Imagen.57 Estructura ecogénica.
El estroma ovárico esta resaltado en morado.

- Hiperecoico o Hiperecogénico: son estructuras que reflejan las ondas de ultrasonido, como los huesos o aire; se caracterizan por verse de color blanco en la pantalla (Imagen 58).



*Imagen.58 Estructura hiperecoico.
Vértebras lumbares de un feto, resaltadas en amarillo.*

Si dos tejidos están representados por el mismo nivel de brillo en la imagen se consideran isoecoicos entre sí (Fernández, 2012).

3.2. Equipos y transductores

El equipo de ultrasonografía consta de una sonda o transductor y de una consola. Como elemento adicional se puede utilizar una computadora y una capturadora de video, las cuales nos ayudan a almacenar imágenes y videos para su posterior análisis.

La consola es la responsable de activar los cristales piezoeléctricos del transductor, funcionando como el centro de procesamiento de toda la información recibida por los cristales. Dependiendo del tipo de equipo ultrasonográfico que se utilice, la consola proporcionara diferentes tipos de imágenes, almacenamiento y opciones de transferencia de archivos (Kidd, y col. 2014).

Los ecógrafos tienen muchas funciones, pero los más utilizados por el operador suelen ser, el control de ganancia, los controles de brillo y contraste, la función de calibre para medir diámetro y área de algunas estructuras de interés (Martinat-botté, y col. 2005) (Imagen 59).



Imagen.59 Ecógrafos.

Existen diferentes tipos de equipos con funciones diversas. Equipo de la Izquierda con modo B; equipo de la derecha con modo doppler.

Existen diferentes tipos de transductores o sondas, los cuales nos proporcionan un formato de imagen distinto. Una sonda lineal dará lugar a una imagen rectangular, ya que los cristales piezoeléctricos tienen una mayor área de contacto con el tejido a explorar; los órganos que se observaran en pantalla serán aquellos que estén justo debajo del transductor, la imagen será clara y no habrá pérdida de información, es decir la imagen no se deforma. Las frecuencias de trabajo suelen ser entre 5 y 7,5 MHz y se utiliza para realizar exámenes transrectales (Kidd, y col. 2014) (Imagen 60).



*Imagen.60 Transductor lineal.
Se utiliza para explorar estructuras poco profundas.*

Una sonda convexa dará lugar a una imagen en forma de trapecio; ya que los cristales piezoeléctricos mantienen una forma curva. Las frecuencias de trabajo suelen ser entre 3.5 y 5 MHz y se ocupan para explorar estructuras profundas (Fernández, 2012) (Imagen 61).



*Imagen.61 Transductor convexo.
Se utiliza para explorar estructuras profundas.*

Para escoger el transductor adecuado, se debe saber qué tipo de evaluación se pretende realizar; ya que cada uno de ellos tiene diferentes profundidades de penetración. Los transductores de 3.5 MHz penetran 15 cm; los de 5 MHz 10 cm y los de 7.5 MHz tienen una profundidad de penetración de 5cm. Se debe de tomar en cuenta que a mayor frecuencia del transductor; menor es la penetración en el tejido, pero mejor definición de imagen en la pantalla; por lo tanto, a menor frecuencia de la sonda, mayor penetración, pero menor definición (Torres García, 2008, Gregory, 2014).

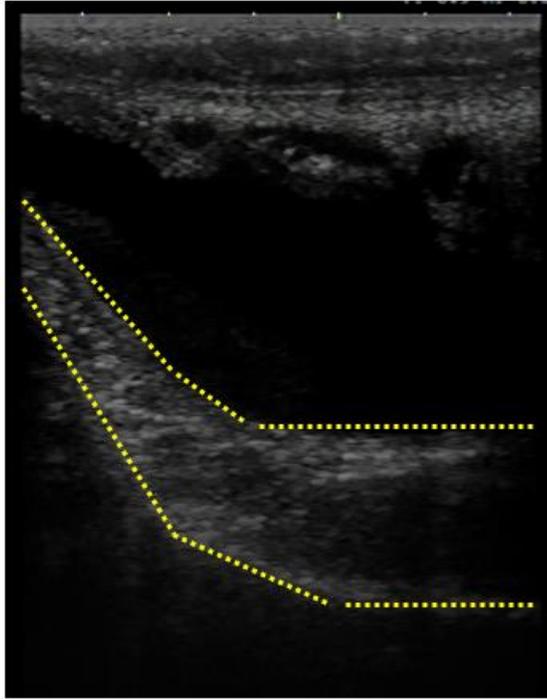
3.3. Procedimiento de exploración transrectal con sonda del aparato reproductor de la hembra

Para comenzar el estudio ultrasonográfico es importante verificar que exista seguridad tanto para el usuario como para el animal; sujetando a este último de una manera adecuada y colocando el equipo de ultrasonografía a distancia prudente de la vaca, en el lugar opuesto al brazo del operador introducido en el recto (Goddard, 1995). Se comenzará evacuando el excremento contenido en el recto para poder tener un mejor contacto con la pared de éste; se introducirá la sonda transrectal lineal, previamente lubricada, cuidando que los cristales miren hacia abajo y de esta manera poder encontrar las estructuras reproductivas. Las sondas tienen un indicador para saber si la cara de los cristales está colocada correctamente; este indicador puede ser una ranura, un punto elevado o una pequeña curvatura. La sonda puede tomarse entre los dedos, colocando el dedo cordial sobre el indicador, dejando libres el resto de los dedos para palpar las estructuras.

Se debe avanzar a lo largo del piso del recto para poder visualizar el tracto reproductor; la superficie del transductor debe ser firmemente presionada contra la mucosa rectal para obtener una imagen clara. El excremento en ocasiones se interpone e impide una buena imagen, por lo que deberá ser extraído sin retirar el transductor.

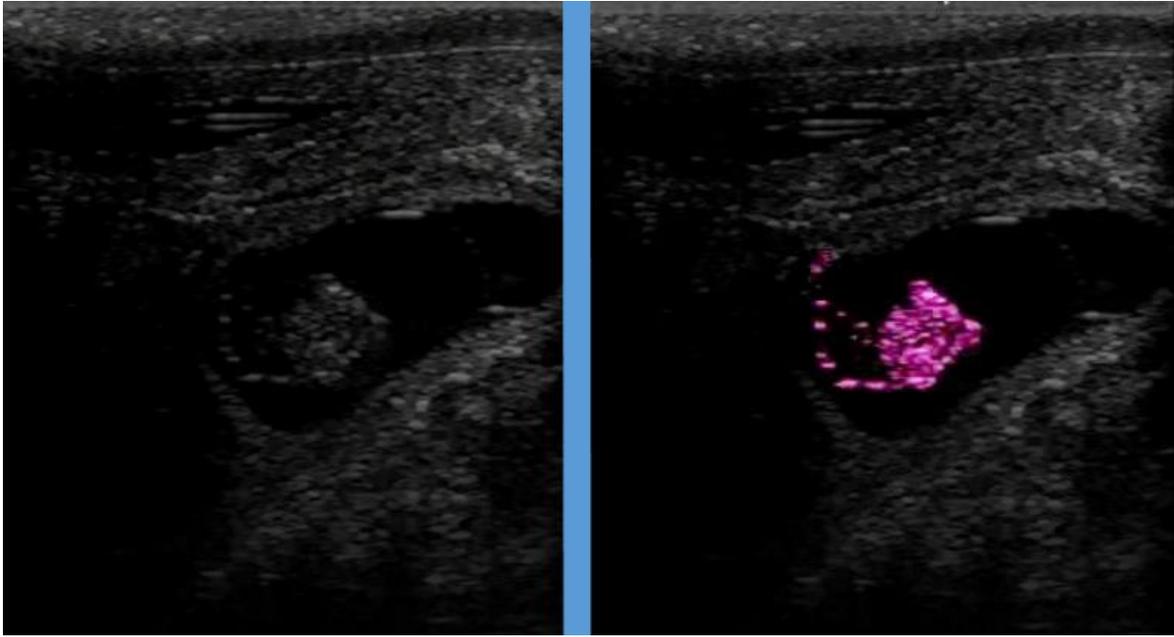
3.4. Exploración de estructuras anatómicas del aparato reproductor de la hembra

Cérvix: Se observará justo debajo de la vejiga, como una estructura tubular hiperecogénico, a veces deforme por las contracciones intestinales (Imagen 62).



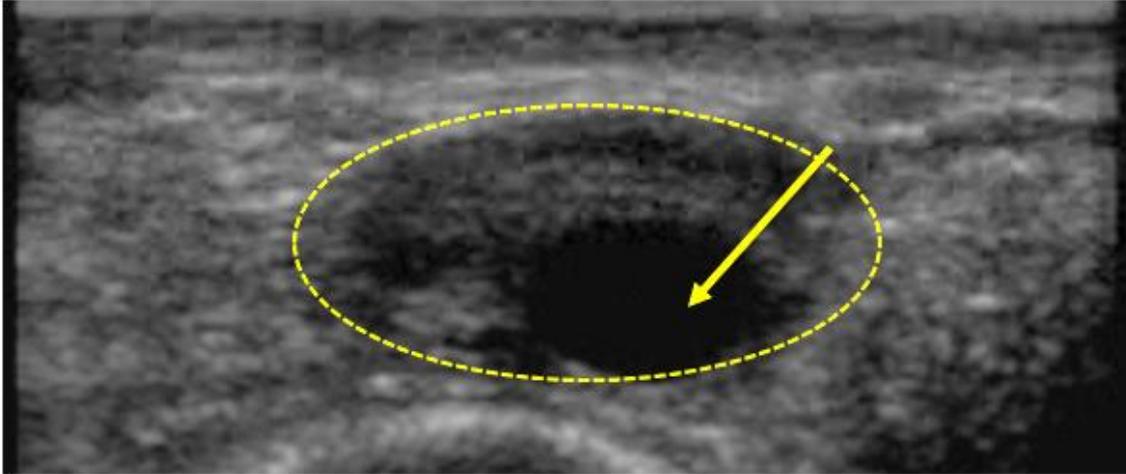
*Imagen.62 Imagen ultrasonográfica del Cérvix.
Las líneas punteadas muestran el cérvix hiperecogénico debajo de la vejiga
anecogénica*

Útero: Cuando el animal se encuentra gestante, la luz del útero o cuernos uterinos se encuentran abiertos, se aprecia anecogénico en donde se llegarán a ver las membranas fetales (ecogénicas). Cuando el útero está vacío, rotando el transductor en el sentido de las agujas del reloj en el punto de divergencia con los cuernos; se puede visualizar el útero, que tendrá una apariencia similar a la de los cuernos (Goddard, 1995) (Imagen 63).



*Imagen.63 Útero gestante.
Útero ocupado por gestación de 45 días, embrión
resaltado en morado.*

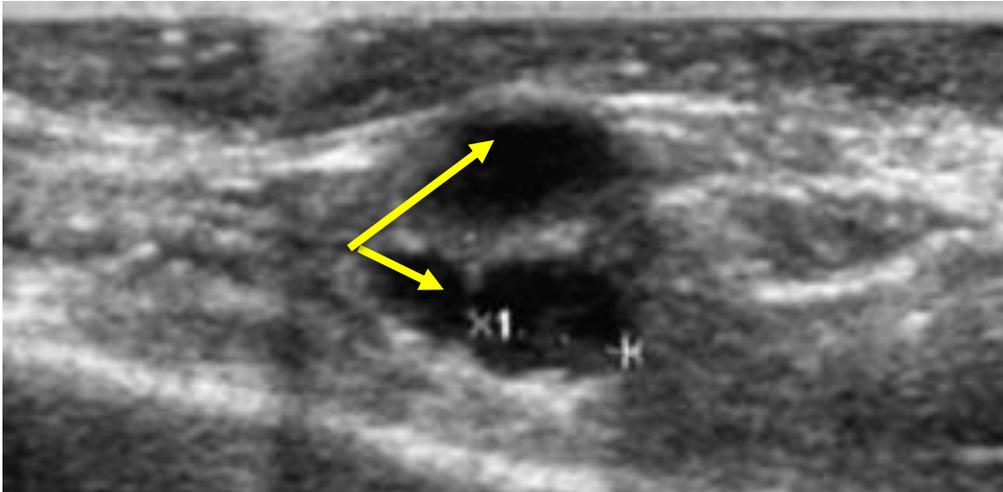
Ovario: Se encontrarán hasta el final de los cuernos uterinos, si no se localizan rápidamente, las puntas de los dedos pueden utilizarse para localizar los ovarios, sujetando el borde anterior del ligamento ancho. Los reconoceremos en el examen ultrasonográfico como una estructura ovalada bien definida que será ecogénico; podemos girar lentamente el transductor para obtener diferentes imágenes (Morotti, y col. 2018) (Imagen 64).



*Imagen.64 Folículo preovulatorio.
Ovario perfectamente delimitado (punteado), con folículo preovulatorio (flecha).*

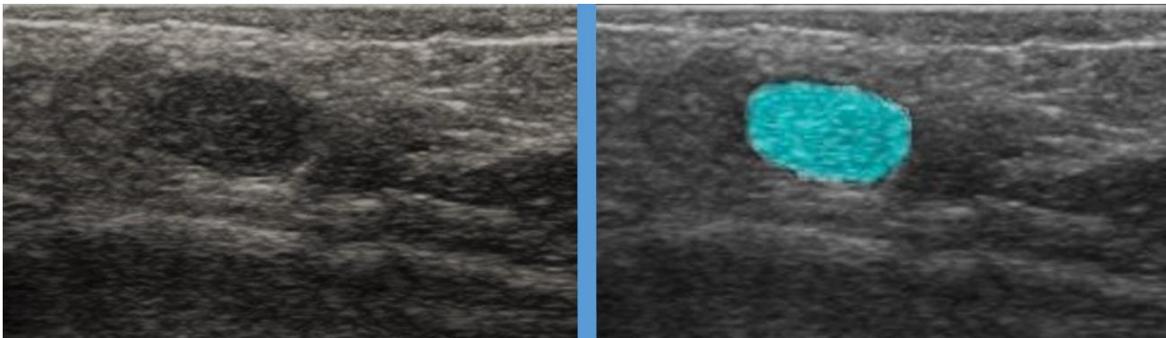
Llega a presentar diferentes estructuras según la etapa del ciclo estral en la que se encuentre el animal:

Folículos: Los reconoceremos como estructuras circulares negras (anecogénico) de varios tamaños (Imagen 65), rodeadas por tejido ovárico (ecogénico). Algunos folículos antrales son simétricos y circulares; la jerarquización del desarrollo folicular puede ser determinada, siendo fácil la identificación del folículo preovulatorio (Taverne & Willemse, 1989).



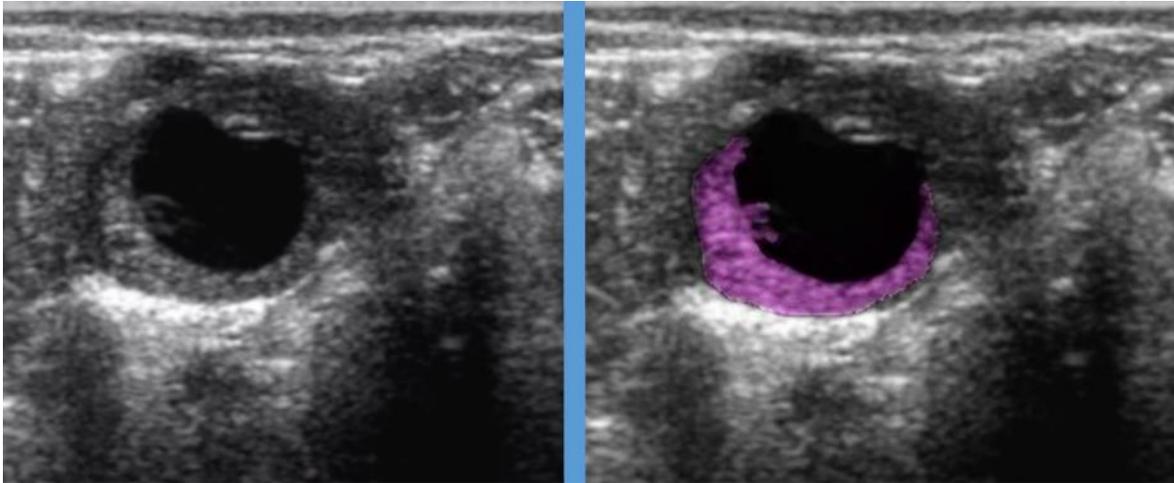
*Imagen.65 Imagen ultrasonográfica de folículos.
Ovario con folículos anecogénicos señalados por las
flechas.*

Cuerpo hemorrágico: Es visible desde la ovulación hasta el día 3, observándose menos denso que el estroma ovárico, se observa como una estructura hiperecoica plegada con una débil línea oscura alrededor (Medan, 2010) (Imagen 66).



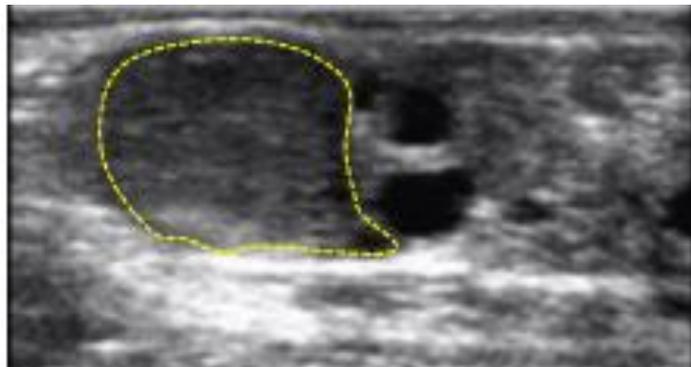
*Imagen.66 Cuerpo hemorrágico.
El cuerpo hemorrágico se muestra en azul.*

Cuerpo lúteo: La ecogenicidad de este, dependerá de su estado de desarrollo; durante la primera mitad del ciclo, puede observarse una estructura un poco menos densa que el estroma ovárico, pero con una cavidad anecogénica en el centro (Imagen 67).



*Imagen.67 Cuerpo Lúteo joven.
Señalado en morado; este tipo de estructuras se
caracterizan por tener una cavidad anecogénica.*

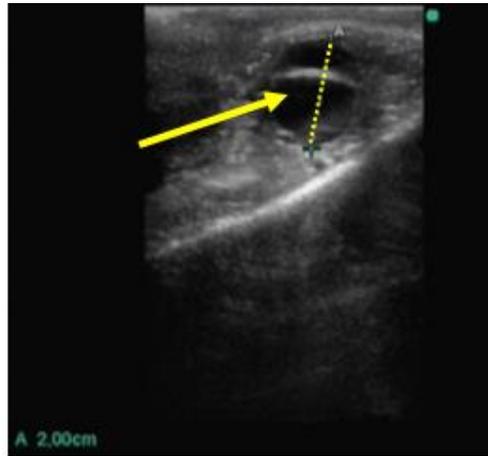
Conforme este cuerpo lúteo va envejeciendo, se puede encontrar a mitad de ciclo, una estructura hipocogénica (más oscuro) en comparación con el estroma ovario (Bicalho, y col. 2008) (Imagen 68).



*Imagen.68 Cuerpo lúteo maduro.
Conforme avanza el diestro, podemos encontrar una
estructura como la señalada por la línea amarilla.*

Quiste folicular: Se definen como folículos anovulatorios con un diámetro de al menos 17 mm (Rizzo, 2011), persistente en uno o los dos ovarios durante más de 6 días o en ausencia

de un cuerpo lúteo; poseen una fina pared y su cavidad es líquida y anecogénica (Khan,y col. 2011) (Imagen 69).



*Imagen.69 Quiste folicular.
Las líneas punteadas señalan el diámetro del quiste.*

3.5. Diagnóstico de gestación por ultrasonografía

3.5.1. Gestación temprana

Se realiza a partir de los días 25-26 post-servicio; se puede detectar una zona dilatada y con líquido en la luz del útero (membranas fetales), el embrión se verá como una mancha hiperecogénica en medio del líquido (Romano, et al. 2006) (Imagen 70).



*Imagen.70 Cuerno uterino grávido.
Se observa el embrión
hiperecogénico (flecha) con una
membrana delgada.*

3.5.2. Seguimiento de gestación

Se vuelve una práctica importante monitorear al feto en el segundo tercio de gestación, antes de que se entre a la fase ciega; con la finalidad de observar estructuras que nos permitan asegurar la gestación (Imagen 71). En esta etapa podemos ver el movimiento fetal y llevar a cabo mediciones de diferentes estructuras del feto; las cuales nos darán un aproximado de la edad fetal (Cuadro 1).

Cuadro 1
PRINCIPALES MEDICIONES FETALES DE 60 A 140 DÍAS DE GESTACIÓN
(adaptado de DesCoteaux, 2010)

	60 días	70 días	80 días	90 días	100 días	120 días	140 días
<i>CRL* (cm)</i>	6-7	9-13	12-13	13-17	19	22-32	33
<i>Diámetro del ojo (mm)</i>	4	6	8	10	12	16	19
<i>Diámetro del tronco (cm)</i>	1.7-2.2	2.3-2.9	3.0-3.7	3.9-4.5	5.1-5.3	7.0-8.7	8.9-14.8
<i>Circunferencia craneal (cm)</i>	1.6-1.8	2.0-2.3	2.5-2.8	3.2-3.3	3.8-4.0	4.9-6.2	5.9-9.6

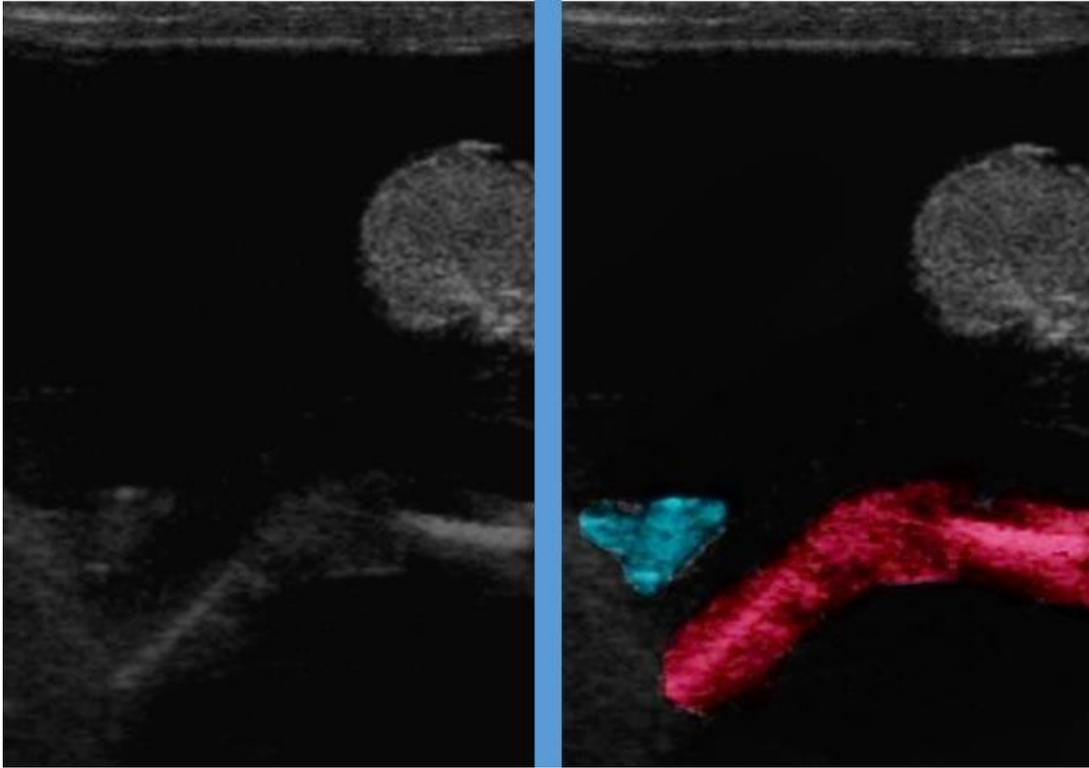
*CRL: longitud corona-grupa



*Imagen.71 Medición de la cuenca orbitaria del feto.
La línea punteada muestra el diámetro de esta, para estimar la edad de gestación.*

3.5.3. Sexo del feto

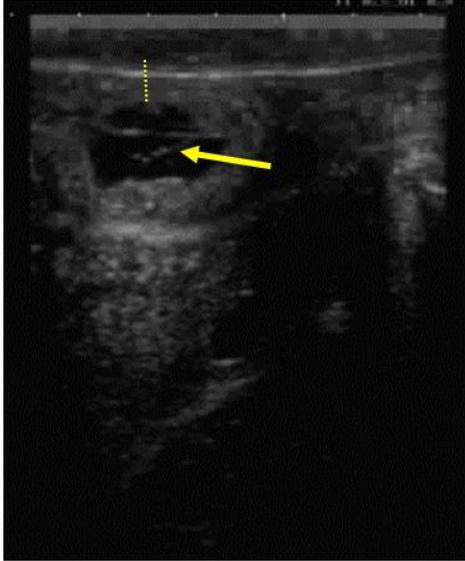
Se realiza a partir de los 60-70 días de preñez, aunque el tubérculo ya es visible desde el día 45, no alcanza su posición definitiva hasta el día 58 (DesCoteaux, y col. 2010). Para el diagnóstico del sexo nos basaremos en la posición del tubérculo genital, que en la ecografía se observará como una estructura de alta ecogenicidad bilobulada. En el macho el tubérculo genital se encuentra justo por detrás del cordón umbilical, y en la hembra se encuentra entre las extremidades posteriores, por detrás de la cola (Fernández, 2012) (Imagen 72).



*Imagen.72 Tubérculo genital.
Se muestra en azul el tubérculo genital y en rojo el cordón umbilical; la cabeza del feto se encontraría en la parte inferior de la foto.*

3.5.4. Patologías en útero

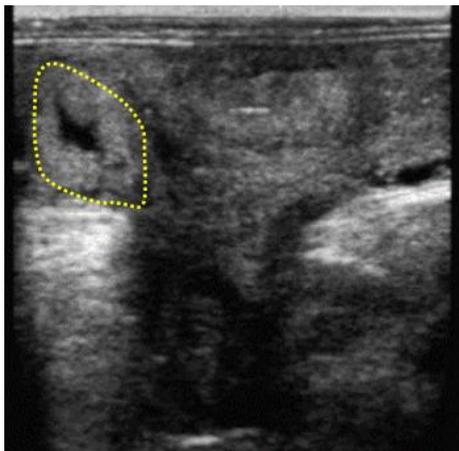
Las patologías más comunes del útero son endometritis, piometra y mucometra. En la endometritis encontramos un útero con las paredes engrosadas y una acumulación de líquido que puede ser anecogénico con puntos blancos, que es material mucoso con gránulos de pus (Imagen 73).



*Imagen.73 Endometritis.
Las líneas punteadas señalan una
pared uterina engrosada, mientras que
la flecha señala material mucoso.*

En la piometra el contenido es parecido al de la endometritis, pero el grosor de la pared uterina es menor, debido a la presión que ejerce el contenido mucopurulento sobre ella, se acompaña del cierre del cuello uterino y de un cuerpo lúteo en el ovario.

Cuando encontramos una gran cantidad de líquido de apariencia normal (hiperecogénico) asociado de una pared uterina con grosor normal podemos hablar de mucometra (Imagen 74); se suele asociar a una aplasia parcial del útero, que provoca que no se vacíe adecuadamente el contenido hacia el exterior (Ahmed, 2017).



*Imagen.74 Mucometra.
Las líneas punteadas,
indican un cuerno uterino
con gran cantidad de
líquido.*

CONCLUSIONES

La creación de este manual se ha hecho de una manera sencilla y clara, a través de sus fotos e ilustraciones, el estudiante puede adaptarlo a sus necesidades específicas de aprendizaje y puede usarlo de guía para adquirir los conocimientos y llevar a cabo estas biotecnologías. El manual de biotecnologías reproductivas en bovinos representa una valiosa herramienta en los temas de ultrasonografía e inseminación artificial, para que los estudiantes puedan contar con este material de consulta y se beneficien en la implementación de dichas biotecnologías.

Este manual es un material de apoyo que trata de ofrecer una visión más clara de las biotecnologías aquí descritas, es importante que para consultar este trabajo se tengan los conocimientos previos en fisiología reproductiva, etología bovina y anatomía.

Literatura Consultada

1. Ahmed Ali, Derar Derar, Ali Alsamri, Fahd Al Sobayil. 2017. Echography of clinically relevant disorders in the genital tract of female dromedary camels. *Animal Reproduction Science* 182:123-133
2. Astorga Argüello R. 2008. Biotecnología: la revolución que México necesita. *Chapingo zonas áridas* 5:131-135
3. Baruselli P.S, Marques M.O, Vieira L:M, Konrad J.L, Crudeli G.A. 2015. Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Rev. Vet.* 26:2, 154-159
4. Bicalho R.C, Galvao K.N, Guard C.L, Santos J.E.P. 2008. Optiizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows. *Theriogenology* 70: 199-207
5. Bo G.A, Baruselli P.S. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado Bovino en regiones subtropicales y tropicales. Memorias XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. 2008
6. Cartee E. Robert, Et. al. Practical Veterinary ultrasound. Waverly Company 1995
7. Corredor Camargo E., Páez Barón E. 2012. Aplicaciones de la ultrasonografía en la reproducción bovina. *Ciencia y Agricultura* 9(2):29-37
8. Cruz, A. R., Roo, A. Y., Alvarado, M. M. & Soto, B. E., 1997. Principios Físicos y Aplicaciones de la Ultrasonografía Modo-B en Tiempo Real en la Evaluación del Aparato Reproductivo del Canino.. *Revista Científica*, VII(1), pp. 33-39

9. Derivaux J, Ectors F.; fisiopatología de la gestación obstetricia veterinaria. Zaragoza España 1996. Acribia
10. DesCoteaux Luc, Colloton Jill, Gnemmi Giovanni. Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography. Wiley Blackwell, Iowa, USA, 2010
11. Fernández Sánchez Manuel. Reproducción y control ecográfico en vacuno, el ciclo estral desde una nueva perspectiva. SERVET Zaragoza, España:2012
12. Galina Carlos, Valencia Javier. Reproducción de animales domésticos. 3 edición, LIMUSA, México: 2008
13. Gigli, I., Russo, A. & Agüero, A., 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*, pp. 183-204
14. Giraldo C. Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. Córdoba 2003
15. Goddard P.J.. Ecografía Veterinaria. Zaragoza España 1995 Acribia
16. Grandin Temple. Understating Flight Zone and Point of Balance for Low Stress Handling of Cattle, Sheep, and Pigs. *Animal Science*. 2015
<http://www.grandin.com/behaviour/principles/flight.zone.html>
17. Gregory R. Lisciandro. Focused Ultrasound Techniques for the Samall Animal Practitioner. John Wiley & Sons. 2014
18. Hafez E. Hafez B. Reproducción e inseminación artificial en animales. Mc Graw Hill, 7° ed. 2002
19. Herman H.A., Jere R.M.,Gordon A.D. The artificial insemination and embryotransfer of dairy and beef cattle. Interstate publishers, 1994

20. Hernández Ceron Joel, Ortega León Álvaro. Departamento de reproducción. UNAM. FMVZ. Manual de inseminación artificial en bovinos. Ciudad universitaria, México 2009
21. Hernández Pichardo J.E, Fernández Reyes F., Gutiérrez Ramírez Y. Inseminación Artificial en Bovinos. UAM. México, 2002
22. Hussein A. Amer.2010. Ultrasonographic assessment of early pregnancy diagnosis, fetometry and sex determination in goats. *Animal reproduction science* 117: 226-231
23. Jácome Silva Rothman Salomón. Protocolos de Sincronización de celos en vacas Bos Indicus. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, 2012
24. Jiménez F.M., Vicente A. J. Biotecnología de la reproducción en especies ganaderas. Universidad Politécnica de Valencia, España 2012
25. Kidd Jessica A., Lu Kristina G., Frazer Michele L.. Atlas of Equine Ultrasonography. 2014 wiley Blackwell. Malasya
26. Khan F.A, Das, G.K, Megha pande, Pathak M.K, Sarkar M. 2011. Biocheical and hormonanal composition of follicular cysts in wáter buffalo (Bubalus bubalis). *Animal Reproduction science* 124: 61-64
27. Kurykin J., Jaakma Ü., Waldmann A., Jalakas M., Aidnik M., Majas L., Padrik P. 2006. Low semen dose intracornual insemination of cows at fixed time after PGF 2α treatment or at spontaneous estrus. *Animal reproduction science* 95: 116-124

28. Lamb, G.C., M.F. Smith, G.A. Perry, J.A. Atkins, M.E. Risley, D.C. Busch, and D.J. Patterson. 2009 *Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle*. North Florida Research and Education Center, University of Florida
29. Lara Izurieta Rolando Querubín. Evaluación de tres protocolos de sincronización a tiempo fijo en vacas mestizas en la amazonia ecuatoriana. Ecuador: Universidad central del Ecuador, 2013
30. López-Gatius F. 2011. Feeling the ovaries prior to insemination. Clinical implications for improving the fertility of the dairy cows. *Theriogenology* 76:177-183
31. López-Gatius F., Santolaria P., Yániz J., Rutlant J., López-Béjar M. 2001. Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. *Theriogenology* 56:649-659
32. Martinat-botté Françoise, Guy Renaud, François Madec, Patric Costiou, Michel Terqui. Ultrasonografía y reproducción en cerdas, Principios y aplicaciones prácticas. Buenos Aires Argentina 2005. Inter-medica
33. Medan Mohamed S, El-Aty Abd. 2010. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other animals reproduction. *Journal of advanced research* 1: 123-128
34. Mexicano Balleza Ángel. Principales protocolos de sincronización del estro utilizados en la ganadería bovina y su costo-beneficio en la actualidad. México: Universidad Veracruzana, 2009

35. Montien Palacios Felipe, Pérez Hernández Ponciano, Gallegos Sánchez Jaime, Rosendo Ponce Adalberto. 2011. Manifestación de estro y gestación en vaquillas criollo lechero tropical sincronizadas con dosis baja de PGF2 α . *Zootecnia Trop.* 29(2): 179-185
36. Morotti Fábio, Moretti Rógerio, Gomes do Santos G., Silva-Santos K., Ramos P., Marcondes M., 2018. Ovarian follicular dynamics and conception rate in *Bos Indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. *Animal Reproduction Science* 188: 170-177
37. Perry T. Reproduction in domestic animals. Academic Pres Inc. 4 $^{\circ}$ ed. 1991
38. Pineda, V., Macías, P. & GA., B., 2012. Principios físicos básicos del ultrasonido. *investigación en Discapacidad*, pp. 25-34
39. Ramírez Tayupanda César. Inducción y sincronización del celo con implante intravaginal (CIDR) más estrógeno y prostaglandina F2 α en vacas Holstein Friesian mestizas. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, 2006
40. Rippe A. C. 2009 El ciclo estral. Dairy Cattle Reproduction council.
<http://www.dcrcouncil.org/media/Public/Rippe%20DCRCH%202009.pdf>
41. Rizzo Annalisa, Campanile Debora, Mutinati Maddalena, Minoia Giuseppe, Spedicato Massimo, Sciorci Raffaele. 2011. Epidural vs intrauscular administration of lecirelin, a GnRH analogue, for the resolution of follicular cysts in dairy cows. *Animal Reproduction science* 126: 19-22
42. Romano J.E, Thompson J.A, Forrest D.W, Westhusin M.E, Tomaszewski M.A, Kraemer D.C. 2006. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology* 66: 1034-1041

43. Salgado Otero R., Vergara Avilez M., Vergara Garay O. 2015. Impacto de la utilización de inseminación artificial con detección de celo e inseminación artificial a término fijo en vacas mestizas manejadas bajo el sistema doble propósito. *Revista científica FCV-LUZ* 25(1):57-62
44. Salisbury G.W., Van Demark N.L. Fisiología de la reproducción en bóvidos. Acribia, España 1978
45. Sepulveda Nestor, Rodero Evangelina. Comportamiento sexual durante el estro en vacas leceras. *Interciencia* V.28N9 2003
46. Taverne M.A.M, Willemse A.H. Diagnostic Ultrasound and animal reproduction. *Klumwer academic publishers*. London 1989
47. Torres Garcia Lorena, Manual para el diagnostico de gestacion en ovinos con ultrasonografia de tiempo real. Tesis licenciatura, facultad de medicina veterinaria y zootecnia, unam, mexico df, 2008
48. Trejo Estrada S. 2010. La biotecnología en México: Situación de la biotecnología en el mundo y situación de la biotecnología en el México y su factibilidad de desarrollo. *CIBA-IPN*
49. Uribe Valderrama Rubén, Robledo Vélez Eliana. 2012. Uso de dispositivos auriculares de nigestomet en inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos doble propósito, con amamantamiento permanente. *Rev CES Med Vet Zootec* 7(1):63-67
50. Zobel R., Tkalcic S., Pipal I., Buic V. 2011. Incidence and Factors associated with early pregnancy losses in Simmental dairy cows. *Animal Reproduction Science* 127:121-125