



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

01669
207
2

ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA
FERTILIDAD EN VACAS CEBU CON ESTROS
SINCRONIZADOS CON PROSTAGLANDINA
F2 α INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE

T E S I S
PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN ANIMAL
P R E S E N T A :
BERTHA CLEMENTINA HERNÁNDEZ CRUZ



Asesores: M.V.Z. Carlos Galina Hidalgo
M.V.Z. Javier Valencia M.V.Z. Ricardo Navarro F.

México, D. F.

1988

TESIS CON
LIBRO DE ORIGEN



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 está 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.

LISTA DE FIGURAS

figura		Página
1	Relación entre las estructuras ováricas encontradas en necropsia siete días después de una inyección de PGF2 α de acuerdo a la raza de los animales.	42
2	Relación entre las estructuras ováricas encontradas a la necropsia siete días después de una inyección de PGF2 α de acuerdo a la edad de los animales.	43
3	Porcentajes de lavados oviductales clasificados como limpios y sucios de acuerdo a edad y raza de los animales.	44
4	Relación de la edad con los porcentajes de estructuras celulares encontradas a la necropsia siete días después de la inyección de PGF2 α .	45
5	Relación entre la calidad del lavado oviductal con las estructuras celulares encontradas.	46

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Relación entre la edad y los animales clasificados como anormales con desviaciones de más de 20 grados en los anillos del <u>cér</u> vix de un total de 250 animales.	47
2	Relación entre la raza y los animales clasificados como anormales con desviaciones de más de 20 grados en los anillos del <u>cér</u> vix, de un total de 250 animales.	48
3	Porcentaje del grado de dificultad para la introducción del cateter de IA a través del <u>cér</u> vix, de acuerdo a la raza.	49
4	Relación entre el grado de dificultad al paso del cateter y el sitio de depósito del semen.	50
5	Relación de animales de acuerdo a su raza o cruza con el sitio de depósito del semen	51
6	Porcentaje de vacas que presentaron celo después de la inyección de P _{GF} 2 _α de acuerdo a la raza.	52
7	Relación entre la manifestación del celo y las estructuras encontradas en los ovarios a la necropsia.	53
8	Estructuras celulares encontradas en animales de acuerdo a la presencia de signos de <u>estro</u> .	54
9	Relación entre las estructuras encontradas en el lavado oviductal y el anillo del <u>cér</u> vix donde fue depositado el semen.	55
10	Relación entre palpador y estructuras encontradas a la necropsia con niveles de progesterona plasmática.	56

CONTENIDO

	Página
1. Introducción	1
2. Revisión de Literatura	3
2.1 Signos de estro	3
2.2 Eficacia en detección de celos	6
2.3 Fertilidad con celo sincronizado con PGF2 α	8
2.4 Fertilización	10
2.5 Morfología cervical	13
2.6 Endocrinología de la fase lútea	14
2.7 Palpación rectal	15
2.8 Relación de cuerpo lúteo funcional y niveles de progesterona	16
3. Material y Métodos	18
3.1 Localización	18
3.2 Experimento 1	18
3.3 Experimento 2	19
3.4 Experimento 3	22
4. Resultados	24
5. Discusión	29
5.1 Discusión experimento 1	29
5.2 Discusión experimento 2	31
5.3 Discusión experimento 3	38
6. Literatura citada	68

RESUMEN

Título: ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD EN VACAS CEBU CON ESTROS SINCRONIZADOS CON PGF2 α INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE

Autora: Bertha Clementina Hernández Cruz

Con objeto de estudiar algunos de los factores que afectan la fertilidad en vacas cebú sometidas a programas de sincronización con PGF2 α en el trópico Mexicano, se realizaron tres experimentos. En el experimento 1, a 250 vacas cebú y sus cruzas con Pardo Suizo sacrificadas en el rastro se les trató de introducir un catéter de inseminación artificial (IA) a través de la luz cervical para medir el ángulo de desviación en los anillos. En el experimento 2, cincuenta y siete vacas cebú y sus cruzas (con Pardo Suizo), fueron palpadas y a las que se les encontró un cuerpo lúteo funcional, se inyectaron con 25 mg de PGF2 α observándose para detectar celo durante las 70 horas posteriores. La inseminación artificial se realizó 8 hs después de que los animales presentaron celo, las que no presentaron estro se inseminaron 70 hs después de la inyección. Durante la inseminación artificial, se anotó el grado de dificultad al momento de introducir la pipeta de inseminación. Cuatro días después, las vacas fueron sacrificadas, evaluándose posmortem la dificultad para introducir la pipeta y midiéndose el ángulo de desviación de la luz del canal cervical en grados. Después se disecaron los

animales que presentaron celo, tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia, en contraste, 46% de los animales que no mostraron celo tuvieron también cuerpo hemorrágico a la necropsia. La diferencia fue altamente significativa ($P < 0.01$). De las vacas con manifestación de celo, el 25% tuvo un embrión a la necropsia presentándose un porcentaje de fertilidad de 63%, mientras que el 14% restante presentó óvulo sin fertilizar. La relación entre calidad del lavado y la presencia de óvulos fue significativa ($P < 0.01$). El total de embriones encontrados provenían de vacas que tuvieron lavados oviductales limpios. Del total de células colectadas, el 28% correspondieron a embriones y el 12% a óvulos. El 100% de óvulos provenían de vacas que tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia. En el experimento 3, el tiempo promedio de inicio de celo después de la inyección de $PGF2\alpha$ para 9 animales fue de 54.5 horas. El efecto del palpador fue altamente significativo para presencia de celo, estructuras encontradas a la necropsia y niveles de progesterona al momento de la inyección de $PGF2\alpha$ ($P > 0.05$), lo que demostró el palpador 2 quien tuvo un 100% de éxito a la palpación. En este estudio se hace evidente que en el ganado cebú, ciertos factores como los aquí estudiados, manifestaciones de signos de estro, su efecto en la eficacia, en la detección de celos, la fertilidad con celo sincronizado, fertilización, palpación rectal y morfología cervical, presentan características propias del ganado cebú y de alguna manera pueden afectar los resultados de la producción, en

oviductos provenientes de ovarios con cuerpo hemorrágico y se realizó lavado oviductal con solución salina fisiológica. El líquido resultante del lavado se clasificó como limpio y turbio dependiendo de sus características. Para determinar si los óvulos encontrados fueron fertilizados se procedió a fijarlos, teñirlos y evaluarlos. Con el objeto de estudiar la influencia del palpador al diagnosticar cuerpo lúteo al momento de la palpación, se realizó el experimento 3 en 25 vacas palpadas por tres técnicos. Las vacas a las que se les detectó cuerpo lúteo funcional, se les tomó una muestra de sangre de la arteria coccigea para medir los niveles de progesterona y verificar si había fase lútea. Posteriormente, las vacas fueron inyectadas intramuscularmente con 25 mg de PGF_{2α}. Se midió también el tiempo promedio en que los animales presentaron celo. Resultados: Las medidas promedio del cérvix para el grupo de normales y anormales fueron 9.2 cm de longitud y 5.1 cm de circunferencia. En los experimentos 1 y 2, el 29% de los animales estudiados pertenecieron al grupo de anormales, presentando el 50% la desviación en el 2° anillo cervical. En el experimento 2, se observó que existe una alta relación entre el anillo desviado, la dificultad en el pago del catéter de IA con el sitio de depósito del semen. La facilidad en la introducción del catéter de IA fue similar tanto para vacas adultas (50%), como para jóvenes (41%), y diferente para cebú (60%) y cruza (P < 0.05). La proporción de vacas cebú que presentaron celo, fue mayor que las cruza (65 contra 35%, P < 0.01). Los 24

este tipo de ganado, explotado en condiciones adversas por lo cual es necesario investigar más al respecto.

1. INTRODUCCION

México cuenta con una gran variedad de climas y regiones, siendo una de las más importantes la zona tropical, puesto que de ella se obtiene gran parte de la alimentación nacional.

Las zonas tropicales están situadas a ambos lados de la línea ecuatorial, delimitadas al norte por el trópico de Cáncer y al sur por trópico de Capricornio a una latitud de 23° 25' NS, con temperatura media anual de 24C y precipitación pluvial de 1743 mm (16), caracterizándose por presentar condiciones climatológicas adversas para las explotaciones ganaderas, como las altas temperaturas, que hacen difícil la adaptación y supervivencia de diferentes razas de ganado (31). Tal situación climatológica y geográfica, ha limitado la producción animal, formada casi exclusivamente por bovinos y ovinos (14). Entre las razas bovinas, es el cebú (Bos indicus) el tipo de ganado que a través de años de explotación en las zonas tropicales ha adquirido una gran capacidad de adaptación al clima y a las enfermedades tropicales (75). Sin embargo, de las desventajas que presenta este ganado, es una menor eficiencia reproductiva comparada con la encontrada en explotaciones intensivas en bovinos lecheros en zonas templadas (73). Esto puede deberse principalmente al largo anestro posparto, producto del efecto in-

inhibidor que tiene el amamantamiento sobre la actividad ovárica, lo cual aunado a la deficiencia nutricional que existe en el trópico, origina que el intervalo entre partos sea muy amplio (21).

Entre las técnicas utilizadas para incrementar la producción animal, se encuentra la inseminación artificial (IA) la cual ha demostrado ser eficaz para la reproducción en animales de granja, principalmente en el ganado bovino lechero, al presentar ventajas en comparación con la monta natural, tales como la capacidad de acelerar el mejoramiento genético, control de enfermedades venéreas, registro de datos necesarios para mejorar el buen manejo del hato y beneficios económicos (32).

La técnica de inseminación artificial, desafortunadamente no ha tenido mucho éxito en el ganado cebú, debido a la conducta reproductiva peculiar de esta especie (61). Entre otros factores, las manifestaciones de la conducta del celo son de menor intensidad que en el ganado europeo (2). En efecto, en un estudio comparativo se encontró que la vaca Indobrasil, promedia una monta por hora en celo, mientras que la vaca Charolais alcanza 2.8 montas por hora de lo cual se inferire que la detección de signos de celo en el ganado cebú, sería más difícil (23). La situación se agrava si se considera el hecho de que la detección de vacas cebú en el celo natural en promedio solo refleja el 30% del hato. Resultados similares fueron encontrados en otro estudio al utilizar

vacas con celo sincronizado (56). Por su parte, Aspron y Zapien (5), no encontraron más de un 30% de manifestaciones de celo en ganado cebú explotado extensivamente.

Debido a las características propias del ganado cebú, se sabe hasta ahora, que la fertilidad promedio alcanzada en la mayoría de las explotaciones extensivas en las que se aplica IA, con celo natural es de aproximadamente 50% (54), sin embargo se presenta el inconveniente de que hasta el 70% de las vacas no son observadas en calor (58). Asimismo se ha encontrado que con celo sincronizado la fertilidad es baja (30%), sin embargo se logra inseminar un mayor número de animales. Por este motivo la sincronización del celo por medios farmacológicos puede ser una alternativa para mejorar el control de manifestaciones estrales y el número de animales inseminados en un hato, aunque hasta el momento no se ha logrado determinar en qué etapa de la secuencia de eventos que se producen desde la inyección de Prostaglandina F₂ Alpha (PGF₂α) y el desarrollo embrionario en los primeros días después de la fecundación se encuentra el problema, si se han logrado estudiar algunos factores que pueden influir en los bajos resultados de fertilidad.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Signos de estro:

Uno de los aspectos más importantes en el establecimiento de programas de IA es el detectar hembras en calor, por lo que un buen conocimiento de los signos de estro ayudará

a efectuar adecuada utilización del periodo de celo en el bovino explotado en el trópico.

Los signos estrales pueden manifestarse de diferente forma, pero siguiendo un patrón común pueden clasificarse en tres categorías: atractividad, proceptividad y receptividad.

La primera es la respuesta del macho ante la hembra, la segunda la conducta de apetito sexual de la vaca y la tercera el lapso en el cual la vaca permite ser montada (8). Sin embargo, esta secuencia no es característica de todos los animales y es ahí donde estriba la dificultad en la detección de calores. Es común que la vaca manifieste su excitación mediante mugidos, nerviosismo, mirada inquieta, paseos de un lado a otro y cabalgamiento sobre otras vacas haciendo movimientos coitales, apreciándose también temblores, arqueamiento del dorso, mirada hacia el tercio posterior, tendencia a lamer a las demás vacas, los pelos hirsutos en la base de la cola, enrojecimiento de los genitales, acompañado en muchas ocasiones de tumefacción y secreción de moco vaginal (62). Se ha observado también, que la vaca deja de fluir abundante saliva, y los movimientos respiratorios se aceleran.

También se menciona, que la vaca emite feromonas que facilitan al toro y a otras hembras su detección (17). Se indican además ciertos signos como movimientos de cola, lamer, oler y frotarse con compañeros de hato, postura nariz con nariz, la formación de grupos activos integrados por anima-

les entrando o en pleno calor y acercamiento al toro en caso de que exista uno en el hato (41).

Sin embargo, existen ciertos factores genéticos que deben tomarse en cuenta, ya que la conducta o comportamiento animal es sinónimo de adaptación a las condiciones medio ambientales o sea, una respuesta a estímulos y al igual que las características morfológicas, el comportamiento también se hereda, de esta manera, la conducta de estro puede ser diferente entre razas ya que se ha visto que la intensidad de los signos de celo es mayor en el ganado vacuno lechero que en los bovinos productores de carne o cebuínos (56).

En estudios realizados en ganado cebuino con celo inducido con PGF_{2α}, para detectar las características estrales propias de la raza, se encontró que el promedio de montas fue de 13.7 montas por vacas por estro, teniendo el celo una duración aproximada de 12 horas promedio (56). Al utilizar al macho para detectar celos, se encontró que la actividad más común fue la de seguir a las vacas en un 83%, de ahí la conducta más frecuente fue el acercarse al grupo sexualmente activo, la cual fue de 27.7%. Se observó también que cuando dos o más animales forman un grupo sexualmente activo, ambos se encuentran en calor, siendo otra característica propia del cebuí, así como la protección de la vaca en celo, dada por el macho a la hembra cubriendo a esta con el hombro o impidiendo con esto la monta de otras hembras en estro (57). Aún así, la observación de calores es difícil pues existe

otro factor importante que limita la eficacia en la detección y es la duración del periodo de estro. Se ha encontrado que la duración del mismo en la vaca es en general de 7 a 48 horas y a pesar de esta variación, se está de común acuerdo en que el ganado cebú presenta manifestaciones de estro con una duración menor que el europeo (1,39,45), encontrándose en estudios realizados en trópico mexicano con inducción de celo un promedio de hembras que mostraron signos de celo de 51.42% con duración de 9.9 horas (70), señalando otros autores (1,59) un promedio de 7.6 y 7.4 horas respectivamente.

2.2 Eficacia en la detección de celos.

Los datos ya mencionados hacen difícil y problemática la eficacia en la detección de celos a nivel de campo principalmente, lo cual quedó demostrado por Orihuela et al. (56), quienes notaron bajos porcentajes de hembras en celo aún con observación continua.

Con el afán de aprovechar al máximo la capacidad reproductiva de los hatos, se han diseñado métodos para facilitar el manejo reproductivo, entre los más utilizados se encuentra la observación personal (12,69), la cual es uno de los métodos más comunes aunque presenta la desventaja de que el contacto con los animales es difícil debido a que en el trópico la mayoría de las explotaciones son extensivas lo que impide tener un buen control visual de los animales (6).

La persona que realiza la detección de celos, debe conocer cómo es el comportamiento de los animales, desde el inicio

hasta el final del celo y aún antes de que comience éste.

El uso del toro marcador, es otro método comúnmente utilizado para detectar los signos de celo. El toro seleccionado debe haber sido preparado mediante procedimientos quirúrgicos, como la desviación del pene (68), o la vasectomía (30).

La efectividad que se ha obtenido utilizando toro marcador, es de un 72%, aunque en el cebú no se han encontrado resultados tan efectivos debido a que los sementales son muy susceptibles a presentar frustración, cansancio y posteriormente pérdida de la libido (9,68).

Algunos de los toros llevan un arnés marcador colocado alrededor de la barbilla, el cual contiene pintura que servirá para marcar a las vacas en celo que se dejen montar por el animal. Debe tenerse cuidado con este método pues el ganado cebú tiende a levantar la cabeza al montar a la vaca, por lo que en algunas ocasiones puede no dejar huella (56).

La observación de calores aún con la ayuda de los métodos ya mencionados, es difícil, pues aún observando a las hembras continuamente día y noche por 100 horas después de aplicada la PGF_{2α}, sólo fue posible detectar el 65% de ellas (56) y en los casos en que la observación fue ocasional, 20 minutos en la mañana y 20 minutos en la tarde, la eficacia en la detección del celo rara vez fue superior al 40% (44), lo que sugiere que es necesario dedicarle más tiempo al ganado cebú para obtener resultados aceptables (24).

Se ha demostrado que las vacas exhiben signos de celo durante la noche por lo que se infiere que el sistema de observación diurna es ineficiente para detectar el total de celos (56). En el caso del cebú, los celos nocturnos podrían pasar desapercibidos, pues debido a la corta duración de los mismos es difícil detectarlos al día siguiente.

2.3 Fertilidad con celo sincronizado con PGF_{2α}:

La reproducción es la base para mantener una economía animal aceptable. En virtud del estro y los ciclos reproductivos prolongados o irregulares, la fertilidad alterada conduce a pérdidas de tiempo considerables durante las cuales la producción puede reducirse o cesa por completo al provocar pérdidas cuantiosas (7).

Con el afán de aprovechar al máximo la capacidad reproductiva de los hatos, se han diseñado métodos para facilitar el manejo de éstos. Existen diversos fármacos que se han usado para sincronizar el celo de los animales bovinos, entre los más utilizados se tienen a las prostaglandinas, con las cuales se han diseñado programas tendientes a facilitar el manejo de los hatos, lo que permite planear las épocas de empadre, aspecto importante en las zonas tropicales, en donde casi la mitad del año (considerada como época de sequía) no abunda agua y comida, y es caracterizada por una disminución en la eficiencia reproductiva (16).

Las prostaglandinas fueron descubiertas en 1930, cuando dos ginecólogos, Kurzrok y Lieb (42), observaron que el útero

reaccionaln contrayéndose al contacto con semen humano. Entre 1934 y 1939, Von Euler (22), investigó muestras de diversas especies animales y comprobó su acción espasmógena sobre la musculatura lisa, al pensarse que venía de la prósta les llamó prostaglandinas.

Las prostaglandinas naturales se componen de 20 átomos de carbono y se derivan de los ácidos dihomo-y-linoleico y araquidónico, que se detectan en casi todos los tejidos corporales (32). Entre las acciones de la PGF_{2α}, está la de inducir luteolisis en vacas en diestro, facilitando la detección de signos de celo lo que permite inseminar un alto porcentaje de animales tratados (66).

Aunque algunos autores demostraron que la fertilidad en ganado cebú con celo natural alcanza promedios de 47 y 49% (43,73), existe evidencia de que al utilizar fármacos sincronizadores, la fertilidad puede verse disminuida, como quedó demostrado al estudiarse ganado explotado extensivamente, con tratamiento a base de fármacos sincronizadores, encontrándose un porcentaje de fertilidad de un 33% (58,77). En otro trabajo en las mismas condiciones, se indica un porcentaje de fertilidad de 19% el cual es considerado como una pobre respuesta a la inyección sincronizante (43). Sin embargo, Moreno et al. (52), alcanzaron un porcentaje de 46% realizando el programa de sincronización en el verano, indicando esto que la fertilidad puede verse afectada por la época del año, situación que ya ha sido sugerida por otros autores (63). A este respecto, se menciona que en los trópicos existe

una época de agua y pastos abundantes en la que los animales se encuentran bien alimentados y se observa un mejor funcionamiento reproductivo a diferencia de la época de se quía en la que los animales utilizan toda su energía para mantenimiento y la manifestación de celos se encuentra disminuida. Los resultados de Moreno et al.(52), sugieren que el fármaco tuvo mejor respuesta cuando los animales estuvieron bien alimentados y pudieron utilizar su energía para reproducirse.

2.4 Fertilización:

Después de que se produce la dehiscencia folicular y la ovulación, el óvulo es captado por la fimbria y comienza a recorrer la luz oviductal en camino hacia la unión istmo-ám-pula en donde se realiza la fecundación y donde avanzará pos teriamente hacia el útero (34).

El óvulo de los mamíferos, es bastante pequeño comparado con el de otros vertebrados, siendo el diámetro del ovocito de aproximadamente 120 micras, en todas las especies (49). El óvulo está rodeado por una delgada capa de mucopolisacáridos, la zona pelúcida. Al ser ovulado, el ovocito consta de una sc la célula la cual al ser fertilizada iniciará sus posteriores divisiones.

El estado de una célula es muy difícil de diferenciar para ver si hay fertilización, sólo es posible distinguirlo por la presencia de menor material nuclear citoplasmático, al microscopio de contraste de fases (67). Al efectuarse las

divisiones la célula no aumenta su masa total, esto es, el aumento de material celular decrece cerca de un 20% en la vaca. La etapa de primeras divisiones es mucho más lenta en mamíferos que en la mayoría de vertebrados inferiores (49).

Las divisiones sucesivas, darán lugar a la mórula y posteriormente al blastocisto, en donde aparecerá una cavidad llena de fluido, el blastocelo, el cual se agranda rápidamente hasta que parece una esfera conocida como blastocisto expandido. Este desarrollo toma lugar aproximadamente en la vaca hasta el día siete después de la fertilización y se consideran como las primeras divisiones en la vida del embrión.

Cuando existe un bloqueo o un simple retardo del desarrollo embrionario en una de sus etapas, puede producirse la muerte del embrión o su degeneración, ya que de las primeras divisiones celulares dependerá un adecuado desarrollo embrionario. En efecto, la cronología del desarrollo embrionario, debe corresponder a la sucesión de eventos fisiológicos que se producen en la madre (71).

La mortalidad embrionaria precoz, abarca el periodo de los primeros 16 días y puede estar ocasionada por diversos factores (36,51), mencionándose que existe de un 30 a un 35% de muerte embrionaria en los primeros días posfecundación y ésto se debe a la selección natural que restringe la supervivencia de embriones, permitiendo que sólo sobrevivan los

más fuertes hasta el momento del nacimiento (10). Por otro lado se informa que al estudiarse 16 vacas jóvenes de diferentes razas a las cuales se observó por un día para recobrar los ovocitos de vacas con calor natural o superovuladas en respuesta a tratamientos con FSH o LH, los ovocitos se recobraron en un intervalo de 3 a 120 horas después del servicio artificial. Un ovocito fue recobrado a la necropsia y los demás quirúrgicamente. Los ovocitos fueron observados al microscopio y se encontraron estadios desde una célula hasta la mórula. La variabilidad en el desarrollo fue debida probablemente a factores individuales, los cuales pueden influir en los estadios celulares encontrados al realizar una evaluación embrionaria.

Al identificar o clasificar embriones para ver si están fertilizados la morfología embrionaria puede variar desde una apariencia cerca de lo normal donde el ooplasma aparece esférico y llena una gran porción de la zona, a una apariencia altamente degenerativa donde el volumen de ooplasma se encuentra muy reducido, el signo más obvio de falla en la fertilización es la falta de divisiones celulares.

En el caso de que los ovocitos recobrados en un lavado uterino u oviductal sean de una sola célula, la fijación y tinción del ovocito indica si el óvulo ha sido fertilizado, ya que se ha encontrado que óvulos no fertilizados han sido recuperados tan tardíamente como 12 días después del estro, lo cual podría ocasionar confusiones al momento de la evaluación y clasificación embrionaria (67). Una vez teñido, al

observarse al microscopio de contraste de fases las agrupaciones de cromatina en el núcleo celular, éstas se encontrarán como dos o tres delgados hilos separados uno de otro, ésto nos indicará que no hubo fertilización. Al evaluar un embrión microscópicamente, se debe cuidar el no confundir la fragmentación con la división celular y equivocar el diagnóstico.

El óvulo tiene un tiempo promedio en el cual las divisiones de los blastómeros toman lugar y si al realizar un lavado se encuentran óvulos con menos divisiones que las requeridas en ese tiempo, es decir, si a los 7 días se encuentran óvulos de 4 células, se puede suponer: que el embrión haya muerto, que la ovulación se haya retardado por 3 o cuatro días o que el desarrollo embrionario ha sido severamente retardado (67).

Estos embriones además del desarrollo retardado, generalmente tienen evidencia de degeneración. En un estudio realizado Por Graden et al. (27), se obtuvieron 104 óvulos de 150 vacas repetidoras y novillonas, encontrando el 55% de óvulos fertilizados. Se presentaron 28 casos en los cuales los óvulos no se recobraron y no hubo razón aparente. Se cree que algunos de estos óvulos no entraron en el oviducto y se perdieron en la cavidad abdominal o fueron retenidos por el folículo, lo cual podría se otra causa de baja fertilidad.

2.5 Morfolofía cervical:

En el proceso de la fertilización, no sólo es importan-

te la ovulación sino también el depósito del espermatozoide o gameto masculino, ya sea por monta natural o inseminación artificial. En el caso de la I.A. se ha observado que el ganado cebú presenta como característica la desviación del eje longitudinal del canal cervical (75), lo que parece ser se presenta tanto en novillonas como en vacas adultas impidiendo en algunos casos el paso de la pipeta de IA para depositar el semen en la entrada al útero.

Se han realizado estudios para diagnosticar esta característica y se ha encontrado un 15% de este problema estudiando material de rastro (47), otro autor indica que la recolección no quirúrgica de embriones y las manipulaciones necesarias para el catéter de recolección, son afectadas por la longitud y el diámetro del cérvix (26). En este estudio en el cual se utilizaron animales cebú cruzados con pardo suizo, el paso del catéter de IA pudo realizarse adecuadamente en 204 de 260 cervices estudiados. En novillonas se encontraron un gran número de cuellos uterinos no viables al paso de la pipeta de IA, en los que no fue posible pasar el catéter (27.5%).

2.6 Endocrinología de la fase lútea:

Las hormonas de la reproducción, son producidas en la hipófisis anterior por estímulo directo del hipotálamo a través del sistema Porta, mediante un sistema de retroalimentación que controla la secreción de las gonadotropinas FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH (Hormona Luteinizante). La FSH, promueve el crecimiento y el desarrollo de los folículos ováricos mientras que la LH, estimula la síntesis de hormonas

esteroides particularmente la progesterona de las células del ovario. Al mismo tiempo, la LH induce ovulación en los folículos previamente preparados con FSH. El aumento en la liberación de LH en la hipófisis, responsable de la ovulación, es producido por una retroalimentación positiva del estradiol sobre el hipotálamo (7).

Se sabe que después de la ovulación, la pared del folículo se engruesa gradualmente debido a la hipertrofia e hiperplasia de las células de la capa granulosa. La rápida proliferación de células llena la cavidad remanente y comienza la producción de progesterona (la cual depende a su vez del aporte continuo de hormona luteotrópica de la glándula hipofisiaria).

El cuerpo lúteo permanece en la vaca del día 5 al día 18 aproximadamente, cuando la acción de la $\text{PGF}_2\alpha$ produce la luteólisis y el descenso de los niveles de progesterona en la sangre. En la hembra, en condiciones fisiológicas normales, los niveles de progesterona sérica dependen principalmente de la funcionalidad del cuerpo lúteo (3). La producción de progesterona por el cuerpo lúteo, puede determinarse mediante el análisis de plasma periférico. Esta concentración es un indicador de su producción por las células luteínicas y son mayores de 0.5 ng/ml en la vaca cebú (23).

2.7 Palpación Rectal:

Aunque se ha probado que la inyección de 25 mg de $\text{PGF}_2\alpha$ es suficiente para inducir luteólisis (52), existen factores externos que podrían enmascarar la respuesta al fármaco.

Uno de estos factores podría ser la dificultad para detectar un cuerpo lúteo funcional al momento de la palpación rectal, ya que el ovario de la vaca indobrasil es de menor tamaño que el de la vaca Holstein Friesian y Angus (4,18). Además el cuerpo lúteo de la vaca indobrasil sobresale poco del estroma ovárico, y su peso promedio es de dos gramos comparado con cuatro gramos del ovario del ganado europeo (38). Lo anterior hace difícil detectar el cuerpo lúteo a la palpación rectal, especialmente si el palpador no tiene la suficiente experiencia, pudiendo darse un diagnóstico equivocado, lo cual tendría como consecuencia la falta de respuesta a la $PGF2\alpha$, al no encontrar estructura sobre la cual ejercer su acción luteolítica. Esto podría interpretarse equivocadamente como una pobre manifestación de celo al momento de hacer la detección del mismo, dando como consecuencia bajos resultados en los porcentajes de fertilidad. De ahí la importancia de realizar una adecuada palpación e identificación del cuerpo lúteo funcional, para que la inyección de $PGF2\alpha$ ejerza su acción luteolítica y por lo tanto la respuesta sea correcta.

2.8 Relación de cuerpo lúteo funcional y niveles de progesterona:

El análisis de progesterona en el plasma de la sangre periférica, permite verificar si un animal que fue palpado con cuerpo lúteo funcional, se encuentra realmente en fase lútea y si el diagnóstico a la palpación fue el correcto (64).

En estudios en los que se analizó la compatibilidad de los hallazgos a la palpación rectal y los niveles de progesterona, éstos coincidieron en un 80% en el ganado europeo (76) y en un 71.3% en el ganado cebú (4,19).

En caso de que la palpación rectal haya sido correcta la lisis del cuerpo lúteo y disminución de los niveles de progesterona permitirán la maduración de un nuevo folículo y la posterior ovulación con formación de cuerpo hemorrágico (66) el cual al ser detectado a la palpación rectal o a la necropsia en animales de rastro, daría evidencia de que existió ovulación (53). La ovulación tiene lugar aproximadamente a las 30 horas después de iniciado el celo (6,36,40,46,78), siendo igual en animales inyectados que en no inyectados con la PGF2 α . El momento de la ovulación depende principalmente del aumento en el pico de la LH que se presenta cerca del inicio del celo (15,33). Aunque en los estudios realizados en México no se han encontrado diferencias (40), existe información respecto a que el pico de la LH en el ganado cebú tiene un comportamiento diferente comparado con ganado de tipo europeo (61).

Por todo lo anterior, en este estudio se proponen medir los siguientes parámetros:

- a) Comprobar si existe fertilización en vacas inseminadas después de la inyección de PGF2 α mediante la obtención del embrión 4 días después de la IA.
- b) observar el efecto de la PGF2 α en la manifestación del

celo y en la posterior formación de un cuerpo hemorrá*g*ico indicativo de que hubo ovulación.

- c) Establecer la clasificación morfológica del *c*érvix y su relación con la facilidad para introducir un catéter de IA a través del canal cervical y detectar el sitio de depósito del semen.
- d) Estimar el grado de precisión de la palpación rectal para la identificación de un cuerpo lúteo funcional, y corroborarlo con análisis de progesterona en sangre para verificar si al momento de la palpación rectal el animal se encontraba en fase lútea.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 Localización:

El trabajo se realizó en el Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en ganadería Tropical (CIEEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, durante el periodo mayo 1984 a septiembre 1985.

El centro se encuentra ubicado en el municipio de Tlapacoyan, estado de Veracruz, a 20° 4' de latitud norte, 93° 3' de longitud oeste, altitud de 151 msnm, con tipo de clima AF (m) (c), (16,25).

3.2 Experimento 1:

Un total de 250 vacas que comprendían raza cebú y cruza con pardo suizo principalmente, fueron enviadas al rastro y

clasificadas de acuerdo a edad y raza. Después del sacrificio de los animales, se tomaron los órganos genitales completos y se trasladaron al laboratorio del CIEEGT para su estudio. A continuación se introdujo una pipeta de IA a través del cérvix hasta el cuello del útero. Se clasificaron como normales, aquellos en que la pipeta logró pasar completamente el cérvix y como anormales, aquellos en los que alguna obstrucción del canal cervical, impidió el paso de la pipeta (fotos 1 y 2). Se tomaron también las medidas de circunferencia y longitud del cérvix (foto 3).

Los órganos genitales clasificados como anormales fueron disecados en dirección longitudinal, colocándose una pipeta de IA sobre el eje mayor del cérvix y otra pipeta siguiendo la dirección de la parte que apareció desviada del eje mayor del cérvix, midiéndose el ángulo de desviación con un transportador, tomándose en cuenta a partir de cuantos grados de desviación del eje longitudinal era imposible el paso de la pipeta hasta la entrada del útero. Esto variará de acuerdo a la disposición del último tramo del cérvix y la dificultad para el paso de la pipeta y dependerá también del nivel del cérvix en donde se obstruya el paso y de la experiencia del técnico (foto 4).

3.3. Experimento 2:

Se utilizaron 57 vacas cebú y sus cruzas, principalmente con pardo suizo las cuales se clasificaron de acuerdo a edad, en jóvenes de 1 a 4 años y adultas de 5 en adelante.

Estas vacas fueron palpadas, y aquellas a las que se les encontró un cuerpo lúteo funcional se les inyectó con 25 mg de PGF_{2α}. Después se observó si presentaban celo y el momento en que se inició éste, detectándose mediante la ayuda de un toro marcador y observación continua de los animales de 05:30 a 19:30, horas en que es el periodo en que la mayoría de los animales manifiestan celo (56). Se anotó la fecha y hora de detección de celo. La IA se realizó 8 horas después de que los animales presentaron celo. Las vacas que no presentaron celo se inseminaron a 70 horas posteriores a la administración de la PGF_{2α} .

Durante la IA se estableció si el semen se depositó en el primero, segundo o tercer anillo cervical así como el grado de dificultad al introducir la pipeta de IA, ya que el paso de ésta sin dificultad, podría indicar que la luz del canal cervical se encontraba sin desviación, de lo contrario, era indicio de que había una obstrucción debido a que alguno de los anillos estaba desviado, detectándose cual era el que impedía el paso del catéter.

Cuatro días después de la IA, las vacas fueron sacrificadas y los órganos genitales recogidos en el rastro y trasladados al laboratorio del CIEEGT. Se realizó el mismo estudio que en el experimento 1, para ver si existía desviación del eje longitudinal del canal cervical, medir los grados del ángulo de desviación y clasificarlos en normales o anormales.

Posteriormente se realizó el lavado oviductal primero en el

lado en donde se encontró el cuerpo hemorrágico y después en el oviducto contrario (34). Si el cuerpo hemorrágico no estuvo presente, fue indicio de que no hubo ovulación y no se realizó el lavado oviductal.

El oviducto y cuerno fueron disecados y posteriormente el cuerno fue cortado a una distancia de 4 cm por debajo de la unión útero-tubárica (fotos 5 y 6). Después se procedió a realizar el lavado con una jeringa de 20 ml y aguja de punta roma. La aguja se introdujo por la fimbria, sujetándose fuertemente con un amarre, para impedir la salida de líquido (foto 7). Después se introdujeron lentamente 20 ml de solución salina fisiológica depositándose los primeros 5 ml por goteo en una caja de Petri o vidrio de reloj (foto 8) y los 15 restantes en otra, ésto con objeto de facilitar la búsqueda ya que generalmente el embrión se encuentra en las primeras gotas (foto 9). A continuación se examinó el líquido resultante del lavado y se clasificó como limpio, el que se veía transparente y cristalino, y turbio el que se observó sucio, sanguinolento, purulento, o con una gran cantidad de moco opaco.

Una vez clasificados, se trató de observar el óvulo en el microscopio estereoscópico, primero la caja con 5 ml y después la de 15 ml. Los óvulos encontrados se clasificaron de acuerdo al criterio de Seidel, et al. (65), que considera la viabilidad, número de células y condiciones generales como color, forma, extrusión de blastómeros y evidencia de ruptura de la membrana (67). Para determinar si los óvulos fue-

ron fertilizados, se procedió a fijarlos y teñirlos con la técnica descrita previamente por Chang (13), en la siguiente forma: una vez localizado el óvulo, éste se succionó con una pipeta Pasteur tratando de tomar el menor volumen posible, luego fue depositado en el centro de un portaobjetos, colocándose a los lados dos líneas paralelas longitudinales de una mezcla de vaselina y parafina al 50%. Después se colocó el cubreobjetos, presionando suavemente con una aguja y tratando de atrapar el óvulo entre los dos vidrios (cubre y porta objetos) pero sin maltratarlo (foto 10). Posteriormente se barnizaron las dos orillas laterales del portaobjetos con esmalte transparente para uñas, para impedir que el cubreobjetos se moviera de su lugar dejando el embrión u óvulo fijo, pues de lo contrario se perdería fácilmente. Una vez seco el esmalte, el porta objetos con el embrión, fue introducido en un vaso de Copling, el cual contenía una parte de ácido acético por tres de alcohol absoluto, manteniéndose durante 24 horas con el fin de disolver la zona pelúcida. Después de este tiempo el porta objetos fue sacado y con una pipeta Pasteur se aplicaron gotas de tinción de orseina al 1% en una de las orillas libres del cubre objetos, la cual se filtró entre el porta y el cubre objetos por capilaridad, teñiendo el óvulo o embrión. La preparación, se observó al microscopio de contraste de fases para ver si existía la fertilización.

3.4 Experimento No. 3:

Este experimento fue realizado con el objeto de estudiar

de qué manera el confundir un cuerpo lúteo funcional al momento de la palpación rectal, impide obtener los resultados esperados después de una inyección de PGF₂α. Afirmar que los animales están en fase lútea al momento de la palpación puede ser un diagnóstico equivocado, debido, en muchos casos, a la inexperiencia del palpador. La presencia de un cuerpo lúteo funcional es evidenciada por niveles mayores de 0.5 ng/ml de progesterona en la sangre, por lo que en este experimento al mismo tiempo que se realizó la palpación rectal, se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea para corroborar el diagnóstico de tres diferentes palpadores, en 25 hembras cebú y sus cruza, principalmente con pardo suizo, identificadas con un cuerpo lúteo, a las que se les inyectó 25 mg de PGF₂α, para observar la manifestación del celo y ser inseminadas. Las muestras de sangre, fueron centrifugadas a 5000 rpm (revoluciones por minuto), durante 5 minutos y el suero resultante fue congelado a menos 20C hasta el momento de su análisis por radio inmuno ensayo, para medir los niveles de progesterona, verificar si hubo fase lútea y si hubo éxito a la palpación (64). El palpador 1, examinó 15 hembras, el número 2 examinó 6 y el 3 examinó 7. En este experimento se tomó el tiempo exacto en que los animales presentaron celo, por medio de observación continua y con la ayuda de un toro marcador, desde el momento de la inyección hasta la presencia del mismo.

Análisis estadístico:

El efecto de edad (jóvenes 1-4 años, adultas 5 en adelante)

y de grupo genético (cebí y cruza principalmente con pardo suizo), sobre las medidas del cérvix y sobre el ángulo de desviación en el experimento 1 y 2, se estudió con un Análisis de Varianza empleando un modelo factorial en el que se incluyeron ambos factores y la interacción entre ellos, utilizando el análisis de modelos desbalanceados (50).

En el experimento 2, se utilizaron modelos lineales basados en la transformación logística para la evaluación del efecto de raza y edad sobre la respuesta a la PGF2 α , a la facilidad de IA, a la apariencia del líquido del lavado oviductal y a la fecundación del óvulo.

La relación entre la desviación del cérvix detectada in vivo y el registro de la misma en material de rastro, se hizo a través de la Kapa de Cohen (53). La misma técnica se utilizó para relacionar el nivel de progesterona; si ésta indicó fase lútea y compararse con lo detectado a la palpación rectal.

4. RESULTADOS

Las medidas promedio del cérvix para los dos grupos (normales y anormales), en los experimentos 1 y 2 fueron 9.19 cm de longitud y 5.14 cm de circunferencia, no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos ($P < 0.05$).

En el experimento 1, el 29% de los animales estudiados (72/250), pertenecieron al grupo de anormales, presentando el 50% la desviación en el segundo anillo cervical. Los re-

sultados de acuerdo a los grados de desviación del eje longitudinal fueron similares para jóvenes y adultas (cuadro 1) lo mismo que entre razas (cuadro 2).

En cuanto al experimento dos, con animales in vivo y a la necropsia, la proporción de casos en que resultó fácil la introducción del catéter de IA fue similar para vacas adultas (50%) y para jóvenes (41%). Al considerar la raza, el 64% de las veces, fue fácil introducir el catéter de IA en ganado cebú mientras que en ganado cruzado sólo en el 30% de los casos fue fácil. La diferencia fue altamente significativa ($P > 0.05$) (cuadro 3).

Se encontró una alta correlación entre el anillo desviado, la facilidad en el paso del catéter de IA, y el sitio de depósito del semen ($P > 0.01$) (cuadro 4).

Cuando el catéter fue fácil de pasar, el semen se depositó en el tercer anillo o entrada del útero, en el 88% de los casos. En los clasificados como difíciles la inseminación se realizó en el primer anillo en el 86% de los casos.

El número de deposiciones del semen en la entrada del útero fue mayor para las cebú que para las cruza, 56% contra 27% respectivamente ($P < 0.05$) (cuadro 5).

La proporción de vacas cebú que presentaron celo después de la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$, fue mayor que las vacas cruzadas, 65% contra 35% respectivamente ($P < 0.01$), (cuadro 6). En contraste, con respecto a la edad de la hembra no se encontra-

ron diferencias significativas en el porcentaje de animales en celo, 53% contra 45% ($P > 0.05$).

Al relacionar la presencia de celo con los hallazgos en los ovarios a la necropsia, se observó que 24 de los 26 animales que presentaron celo tenían cuerpo hemorrágico, lo que indica que hubo dehiscencia folicular y ovulación. Sin embargo, 2 de los animales que presentaron celo, tuvieron cuerpo lúteo al análisis de la necropsia. Del total de animales que no mostraron celo, 46% (6,13), tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia. Las diferencias fueron altamente significativas con respecto a la presencia de cuerpo hemorrágico en ambos grupos ($P < 0.01$) (cuadro 7).

De las vacas examinadas a la necropsia, el 80% del grupo cebú (16,20) tuvo cuerpo hemorrágico contra el 74% de las cruas (14,26). No se encontraron diferencias entre razas con respecto a cuerpos lúteos y ovarios estáticos, figura 1.

De los animales que presentaron estructura a la necropsia, el 75% de adultas tuvo cuerpo hemorrágico comparado con el 80% de las jóvenes. Al comparar estos grupos se encontró que estadísticamente fueron similares, figura 2.

Fue posible encontrar que en relación a la calidad del lavado oviductal, clasificado en limpio y turbio, el grupo de las jóvenes presentó el 76% de lavados limpios comparado con el 48% de las adultas. La diferencia significativa ($P < 0.01$) determinó una mayor proporción de secreciones anormales en

las vacas adultas que en los animales jóvenes, figura 3. Entre razas no se encontraron diferencias significativas.

Con respecto a calidad del lavado oviductal y su relación con la anatomía del cérvix, se encontró que el porcentaje de lavados uterinos considerados limpios no varió entre hembras de cérvix normal y las de cérvix desviado, (56% comparado con 57%).

En relación al tipo de estructura celular encontrada en el lavado con respecto a raza y edad, se encontró que el 19% de vacas adultas y el 4% de jóvenes tuvieron un embrión a la necropsia y sólo el 15% de adultas tuvo embrión. Con respecto a animales en los que no se encontró ningún tipo de estructura los resultados fueron similares, figura 4. Entre razas no se encontraron diferencias significativas.

Cuando se relacionó calidad del lavado oviductal y la presencia de estructuras celulares, se encontró que el total de embriones provenían de lavados limpios. De los óvulos encontrados, sólo uno provenía de lavado sucio. La relación entre la calidad del lavado y la presencia de óvulos fue significativa ($P < 0.01$), figura 5.

Los resultados de las células (ovocitos) encontradas en el lavado uterino, al relacionarlos con la manifestación de celo, fueron los siguientes: de las vacas con manifestación de celo, el 25% tuvo embrión a la necropsia (7,28), presentándose un porcentaje de fertilidad de 63% (7,11), mientras que el 14% (4,28), de las vacas del mismo grupo tuvo óvulo

sin fertilizar, haciendo un total de 35% (4,11) de hembras que presentaron celo, y que tuvieron un óvulo al lavado oviductal, (cuadro 8). Por otro lado, de las hembras sin presentación de signos de estro, ninguna tuvo embrión y só lo el 4% presentaron óvulo sin fertilizar. Con respecto a la raza, no se encontraron diferencias para la presencia de embrión u óvulo en ambos grupos. En lo referente a edad, fue mayor el porcentaje de hembras jóvenes con embriones (19%) y ninguna vaca de este grupo tuvo óvulo sin fertilizar.

Al relacionar el porcentaje de estructuras encontradas en el lavado oviductal con la facilidad para introducir un catéter de IA se observó que el sitio de depósito del semen no afectó la fertilidad ($P > 0.05$) (cuadro 9).

De los hallazgos al lavado oviductal en 45 animales, el 28% de células encontradas correspondieron a embriones y el 12% a óvulos. Ambos grupos mostraron calidad embrionaria "1", indicativa de que no se encontraron defectos, malformaciones ni degeneraciones.

En cuanto a las estructuras ováricas, todos los óvulos provenían de vacas que tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia, lo mismo que en el caso de los embriones.

En el experimento 3, el tiempo promedio del inicio de celo después de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ en 9 animales observados en calor, fue de $54.5 \pm$ horas. El tiempo promedio de la inyección de $PGF_{2\alpha}$ a la IA para estos 9 animales fue de $75.34 \pm$ horas.

Las vacas sin celo detectado se inseminaron a 70 horas de la inyección.

Los resultados al evaluar la habilidad del palpador para detectar un cuerpo lúteo funcional fueron los siguientes: el palpador 2 tuvo 100% de éxito a la palpación, en cambio los palpadores 1 y 3, tuvieron un 27% y un 58% respectivamente, (cuadro 10).

El efecto del palpador fue altamente significativo para presencia de celo, estructuras encontradas a la necropsia (cuerpo lúteo, cuerpo hemorrágico y folículos), y niveles de progesterona al momento de aplicar la $PGF2\alpha$ ($P>0.05$), lo que indica qué errores al seleccionar las hembras para sincronizar alteran la respuesta y por lo tanto los porcentajes de hembras que presentan celo después de la inyección así como los porcentajes de fertilidad al momento de la IA se ven altamente afectados, de aquí la importancia de una correcta palpación.

5. DISCUSION

5.1 Experimento 1:

Las medidas promedio del cérvix en cuanto a longitud y circunferencia se encontraron dentro de los valores normales y coinciden con las presentadas por Luján (47) y Varner et al. (74), quienes mencionan que el cérvix del Bos indicus es más grande que el de Bos taurus, 5.7 y 3.5 cm de diámetro respectivamente.

En estudios realizados para determinar la rectitud de la luz del canal cervical se ha encontrado siempre un porcentaje de animales en que la tortuosidad del cérvix, impide pasar el catéter de IA hasta el sitio adecuado para el depósito del semen, lo que coincide con lo informado por otros autores (26,47), quienes encontraron un 23 y un 15% respectivamente de cérvices tortuosos al estudiar hatos de ganado cebú. El porcentaje encontrado en el presente estudio, fue de un 30% de animales con la luz del canal cervical desviada. Existen algunos casos en los cuales se adquiere este problema debido a las lesiones presentadas en el cérvix por algún traumatismo. La pared cervical está compuesta de denso tejido conectivo colágeno y las fibras de músculo liso sólo constituyen el 15% de la sustancia intercelular (29).

Al momento del parto, la sustancia intercelular se suaviza, lo que permite la relajación de dicho órgano. En casos de distocia, los tejidos cervicales pueden lesionarse, al impedir la regeneración de las fibras, produciendo fibrosis y degeneración de los tejidos, lo cual influiría en el tamaño y la luz del canal cervical (29). Lo anterior hace que el cérvix sufra degeneraciones en su estructura y en algunos casos, al haber fibrosis, el crecimiento de los tejidos degría algunos de los anillos así como la luz del canal cervical, sin embargo, la etiología de este problema en general en el ganado cebú parece no estar determinada (35), aunque higtológicamente puede envolver una predisposición genética de hipertrofia cervical o aumentos en la susceptibilidad a

cervicitis, puesto que se han encontrado novillonas muy jóvenes con el problema. Desafortunadamente en la literatura consultada no se encontraron datos al respecto, necesitando se investigación sobre este importante tema.

5.2 Experimento 2:

En este trabajo se encontró que el segundo anillo cervical fue el más comúnmente desviado, no encontrándose diferencias significativas entre edades ni razas. En cuanto a la introducción del catéter a través del canal cervical, fue mayor el porcentaje de animales en el que se pudo pasar hasta el tercer anillo, o entrada del útero clasificándose a estos animales como fáciles al paso del catéter, lo que coincide con González et al. (26), quienes encontraron un 78% de vacas con cérvix anormal y un 21.5% con bloqueo cervical pudiendo llegar a presentar estos últimos problemas al ser utilizados para IA o recolección de embriones, ya que este tipo de cérvices dificulta el paso del catéter de IA clasificándose estos animales como difíciles al paso del catéter.

Se observó también al clasificar el cérvix, que existe una alta correlación entre el sitio de depósito del mismo y el anillo cervical desviado, lo que indica que aunque se realizó primero el estudio in vivo para sitio de depósito y anillo desviado y después el estudio post-mortem para los mismos parámetros, ambos estudios coincidieron y el semen en general se depositó hasta donde la luz cervical permitió el paso del catéter.

En cuanto a la introducción del catéter de IA a través del cérvix, fue más fácil hacerlo en ganado cebú y en vacas adultas, ya que estos grupos de animales presentaron menos la tortuosidad u oclusión de la luz del canal cervical.

Fue mayor la proporción de vacas cebú que presentaron celo después de la inyección de PGF_{2α} que las cruzas, lo que indica una mayor respuesta a la droga para este tipo de ganado. En este trabajo, se encontró un 80% de vacas que manifestaron celo. En experimentos realizados, se ha detectado celo de un 30 a un 40% cuando la observación es de 30 minutos en la mañana y 30 minutos en la tarde. Este porcentaje se ve elevado a un 60% si la observación se intensifica día y noche (56). Sin embargo, este promedio rara vez alcanza cifras superiores, salvo que el número de animales sea reducido, como es el caso de este experimento y no pase de 20 hembras (40,72), entonces la cantidad de animales en celo, sobrepasa el 80% (56,77). En el caso de este estudio, el porcentaje encontrado, fue tomando como total, el número de animales que mostraron cuerpo hemorrágico a la necropsia.

La presencia de un cuerpo hemorrágico en alguno de los ovarios cuatro días después del celo, indica que hubo dehiscencia folicular y ovulación. En este trabajo, el 100% de los animales que presentaron celo, tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia, lo que coincide con Hafez (33), pero el 46% de los animales que no presentaron celo tuvieron también presencia de cuerpo hemorrágico. Lo anterior podría deberse

a la presencia de un celo silencioso. Se sabe que más del 50% de hembras cebú, tienen problemas para manifestar signos de celo o que pueden ocurrir ovulaciones sin celo manifestado (59). Se observó también que dos de los animales que presentaron celo tuvieron cuerpo lúteo en el ovario al momento de la necropsia, probablemente debido a una manifestación de conducta alelométrica (56). Esta conducta indica que algunas vacas tienden a imitar la conducta de celo al interactuar con hembras que efectivamente se encuentran en estro, ocasionando ésto una detección errónea en la hembra.

La presencia de cuerpo hemorrágico a la necropsia indica que la PGF_{2α} causó luteolisis y como consecuencia se indujo el estro. Resultados similares han sido encontrados por otros investigadores (52).

El número de vacas cebú que tuvieron cuerpo hemorrágico a la necropsia fue similar al de los híbridos (16 y 14 animales, respectivamente). Con respecto a las vacas que no tuvieron cuerpo hemorrágico ni mostraron celo, se menciona que existen fallas en la detección del cuerpo lúteo al momento de la palpación (4). En este caso, la respuesta a la droga, así como la detección de un cuerpo lúteo funcional fue similar para vacas jóvenes y adultas, probablemente debido a la experiencia del palpador para un buen trabajo de selección.

Con respecto a los lavados uterinos, no se encontraron diferencias entre razas, sin embargo, con respecto a las edades,

fue mayor el número de vacas jóvenes con lavados limpios. Lo anterior puede deberse a que algunas de las vacas eran novillonas vírgenes sin problemas reproductivos. En el caso de los lavados sucios, existen ciertos factores que pueden influir como infecciones subclínicas y aún clínicas tanto a nivel oviductal como a lo largo de los cuernos, cérvix y vagina, lo que pudo influir en el contenido oviductal de las vacas a las que se les practicó el lavado, ya que se ha encontrado que las lesiones en el tubo uterino y lesiones bursales basados en hallazgos post-mortem han sido de un 3 a un 15%. Aunque este tipo de lesiones u oclusiones son difíciles de diagnosticar clínicamente. Se diagnosticó (20), que de 500 tubos uterinos analizados, el 4.8% se encontraron ocluidos en alguna parte (20), lo que indica tal vez algún tipo de lesión y por ese motivo el líquido producto del lavado puede aparecer turbio.

Asimismo, este tipo de infecciones pueden afectar el pH oviductal, factor muy importante para la viabilidad del óvulo o embrión, pues pH alterados pueden producir la reabsorción de la célula después de que éste ha sido ovulada (67). Esta podría ser la explicación por la cual no se encontraron células en un alto porcentaje de animales que tuvieron cuerpo hemorrágico y obviamente una ovulación. Es necesario repetir este experimento con animales de alta eficiencia reproductiva para corroborar estas observaciones.

Es importante hacer notar, que sólo el 19% de todos los ani

males sometidos a la necropsia, tuvieron un embrión u óvulo al momento de realizar el lavado oviductal. Lo anterior puede deberse, como ya se mencionó, a que la mayoría de las vacas adultas eran animales que posiblemente fueron utilizadas como reproductoras en algún momento de su vida reproductiva y las novillonas, aunque también de desecho, no habían probado su capacidad reproductiva.

Se sabe que entre las causas que pueden producir pérdida embrionaria se encuentran los cambios medio ambientales ya que pueden afectar el equilibrio hormonal (34), así como, la viabilidad embrionaria pues el aumento de temperatura sobre el óvulo recién fecundado podría producir su reabsorción (70,79).

Otra característica observada en el ganado cebú al realizar el lavado oviductal, es la presencia de una descamación epitelial que aparece bajo el microscopio como moco opaco, y que probablemente se produce con el flujo del lavado, pudiendo ser ésta una característica propia del ganado cebú, ya que no se ha observado comúnmente en ganado europeo. Asimismo, Greenwald (28), menciona que al aplicar hormonas a conejas, para observar el comportamiento del epitelio oviductal encontró que los estrógenos influyen en la elaboración y producción, de la secreción de las células epiteliales y que la progesterona estimula el vaciado de dicha secreción a la luz oviductal, y aunque se ha observado este fenómeno en ganado bovino, no se sabe si este proceso se ve más acen-

tuado en ganado cebú, pero la presencia de este epitelio descamado así como su secreción pueden dificultar la búsqueda del embrión al quedar éste atrapado entre los acumulos epiteliales.

Por otro lado se menciona (37), que aunque el índice de fertilidad puede llegar a ser de un 85 a un 90%, el porcentaje de óvulos que sobreviven hasta los 40 días de gestación puede ser tan bajo como un 40%, en este caso se encontró un 19% de embriones a los 4 días después de la I.A. En este estudio tanto los lavados limpios como los turbios contenían células epiteliales descamadas al ser observadas al microscopio. El total de embriones observados, provenían de lavados limpios lo que coincide con lo señalado por Shea (67), quien menciona que lavados sucios o alterados pueden afectar la viabilidad del embrión.

Se observó también que el total de embriones fertilizados y el 11% de óvulos provenían de vacas que manifestaron celo, lo que concuerda con Hafez (33), quien menciona que después de que las vacas manifestaron signos de celo, se producirá la ovulación y la probable fertilización en caso de que el animal sea inseminado o cruzado en forma natural.

Sólo un óvulo de los encontrados provenía de una vaca que no manifestó celo, lo anterior confirma que ocurrió una ovulación silenciosa aunque no hubo fertilización, la célula presente podría ser evidencia de que el animal ovuló. Lo anterior concuerda con lo encontrado en otros estudios (59,72),

en los que se afirma que pueden ocurrir ovulaciones sin manifestaciones externas de celo.

Las vaquillas tuvieron mayor porcentaje de embriones que las adultas, lo que indicaría que la viabilidad embrionaria en este experimento, fue mejor para este tipo de ganado, ya que las vacas adultas aparentemente tuvieron problemas de fertilidad, lo que se manifestó en el número de óvulos sin fertilizar que fue mayor para este grupo.

En este experimento, no se encontraron diferencias con respecto al sitio de depósito del semen y la consecuente fertilidad, probablemente debido a que el número de células encontradas fue muy pequeño lo que no permitió establecer diferencias.

Los resultados de este trabajo difieren de lo informado en otro estudio (60), al afirmarse que cuando el semen es depositado en el inicio del cérvix y no en la entrada del útero como se recomienda, la fertilidad se ve afectada. Este autor observó que de 42 animales con anomalía del cérvix y clasificados como difíciles a la introducción del catéter de IA, sólo dos animales quedaron gestantes, informa también que en los clasificados como fáciles, se alcanzó un 23% de fertilidad.

Del total de células encontradas a los cuatro días pos-inseminación, el 63% correspondieron a embriones, lo que concuerda con Plasse, et al. (59), quienes encontraron un por

centaje de fertilización a los 3 días de 67%. La incidencia de óvulos sin fertilizar fue de 37% lo que concuerda con el mismo autor, ya que él encontró un 33%.

Todos los óvulos encontrados provenían de vacas que tuvieron un cuerpo hemorrágico a la necropsia y todas las células tuvieron buena calidad embrionaria lo que concuerda con Braquett, et al. (11), quienes encontraron sólo un embrión malo o degenerado de 21 vacas estudiadas.

5.3 Experimento 3:

En este experimento se midió el tiempo promedio de la respuesta de celo a la PGF₂ α y se encontró un promedio de 54.5 horas en 9 vacas a las que se les detectó celo, los resultados difieren de los encontrados por Moreno, et al. (52), quienes registraron en la misma zona un tiempo promedio de 70 horas de inicio de celo después de la inyección de PGF₂ α . Lo anterior puede deberse a que probablemente al momento de la inyección, existió un folículo ya en crecimiento para alguno de los animales y que la respuesta al estímulo estrogénico a nivel hipofosario para LH fue más rápida debido a que al quitarse el bloqueo de la progesterona se permitió el crecimiento folicular y la maduración en un tiempo menor al requerido normalmente, lo que permitió que algunos de los animales entraran en celo muy rápidamente y por lo tanto el promedio general se viese afectado.

En cuanto al efecto del palpador, se observó que el no detectar a los animales con cuerpo lúteo funcional o confundir

las estructuras presentes en el ovario, influye en la respuesta esperada, la que se manifestará como una ausencia de celo y una posterior falta de concepción, lo que podría interpretarse como una falla en la respuesta a la droga y es motivo para pensar que el éxito de un programa de sincronización con fármacos de este tipo afecta la habilidad del buen palpador. En este caso, el análisis de progesterona, demostró que sólo uno de los 3 palpadores tuvo un 100% de éxito al momento de la palpación a diferencia de los otros dos, quienes a la palpación afirmaron que todos los animales tenían cuerpo lúteo al momento del análisis de sangre, la coincidencia de fases lúteas fue mucho menor, lo que se reflejó en la respuesta de celo. Lo anterior concuerda con Dawson (19) y Vaca, et al. (72), quienes encontraron un 71.3% de coincidencia entre palpación y niveles de progesterona. Con base en lo anterior se concluye que el principal problema de este experimento fue la palpación, que al estar mal realizada provocó bajas respuestas a la droga.

A pesar de que los resultados encontrados sugieren diferentes aspectos del comportamiento reproductivo del cebú, no se puede decir que las fallas para encontrar óvulos en el lavado oviductal de vacas sin superovulación, sean fallas en la fertilización, pues se observó que existen diversos factores que pueden afectar los porcentajes de fertilidad y hacen aparecer los mismos como bajos o pobres, como quedó demostrado en el experimento 3 en cuanto a palpación y presencia real del cuerpo lúteo funcional.

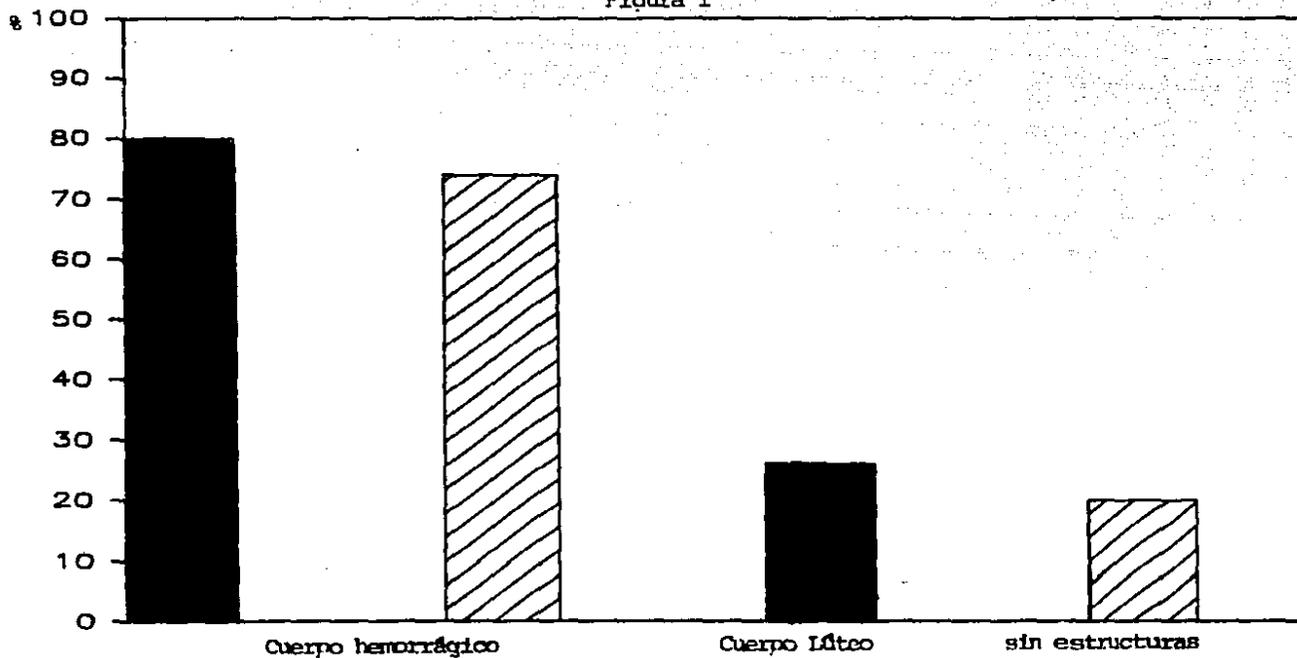
En este trabajo se analizaron algunos aspectos importantes en la secuencia de eventos desde la palpación hasta el momento de la recolección en el lavado oviductal en animales de rastro. Aunque los datos obtenidos nos ayudarán de alguna manera a comprender mejor las características reproductivas del ganado cebú explotado en los trópicos, será necesario investigar más al respecto.

FIGURAS

CUADROS

FOTOGRAFÍAS

Figura 1

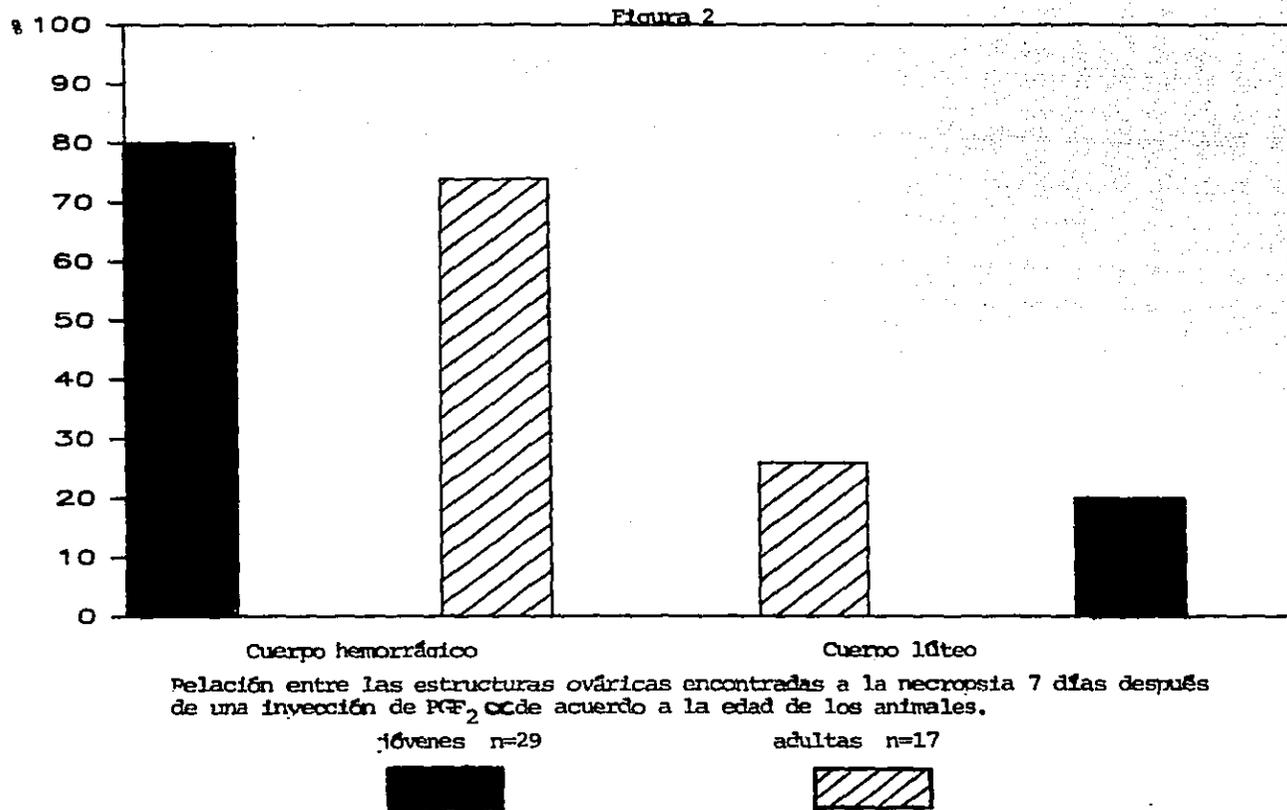


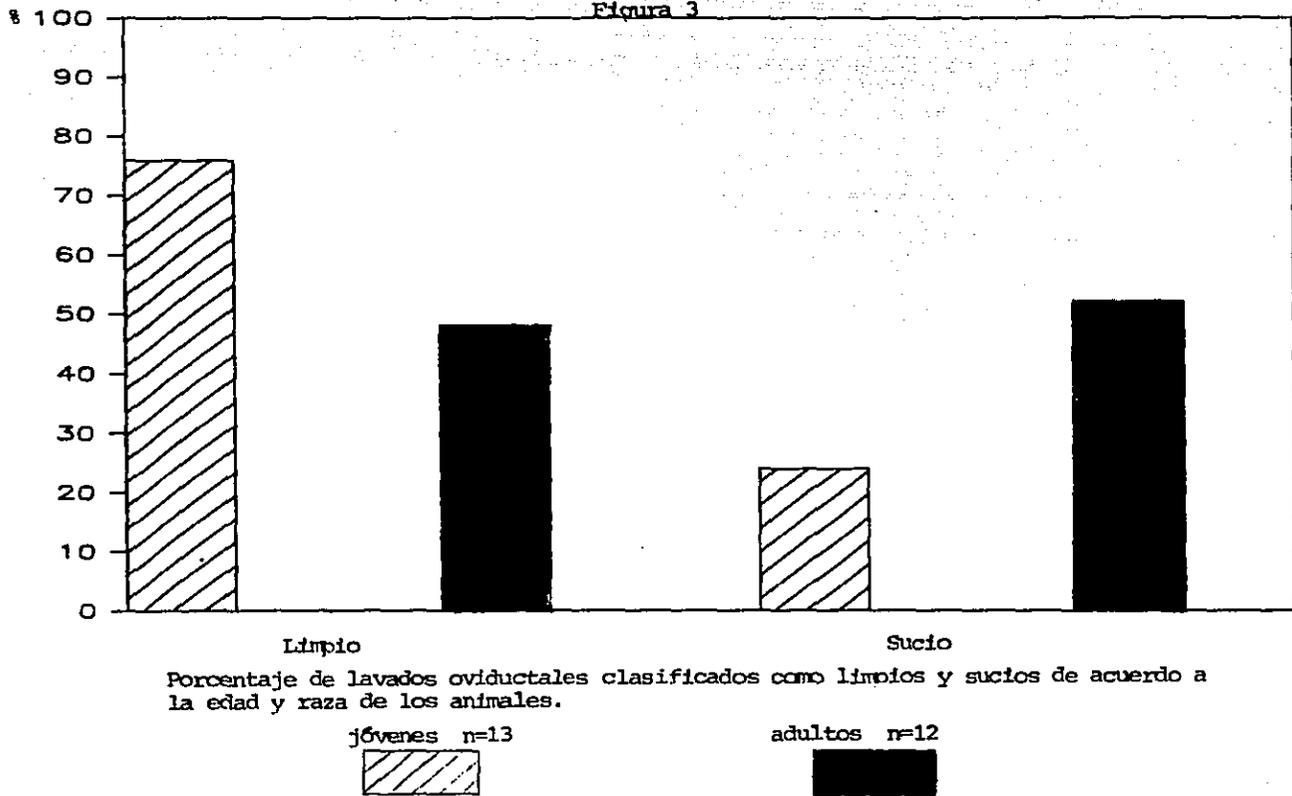
Relación entre las estructuras ováricas encontradas a la necropsia 7 días después de una inyección de $PGF_2\alpha$ de acuerdo a la raza de los animales.

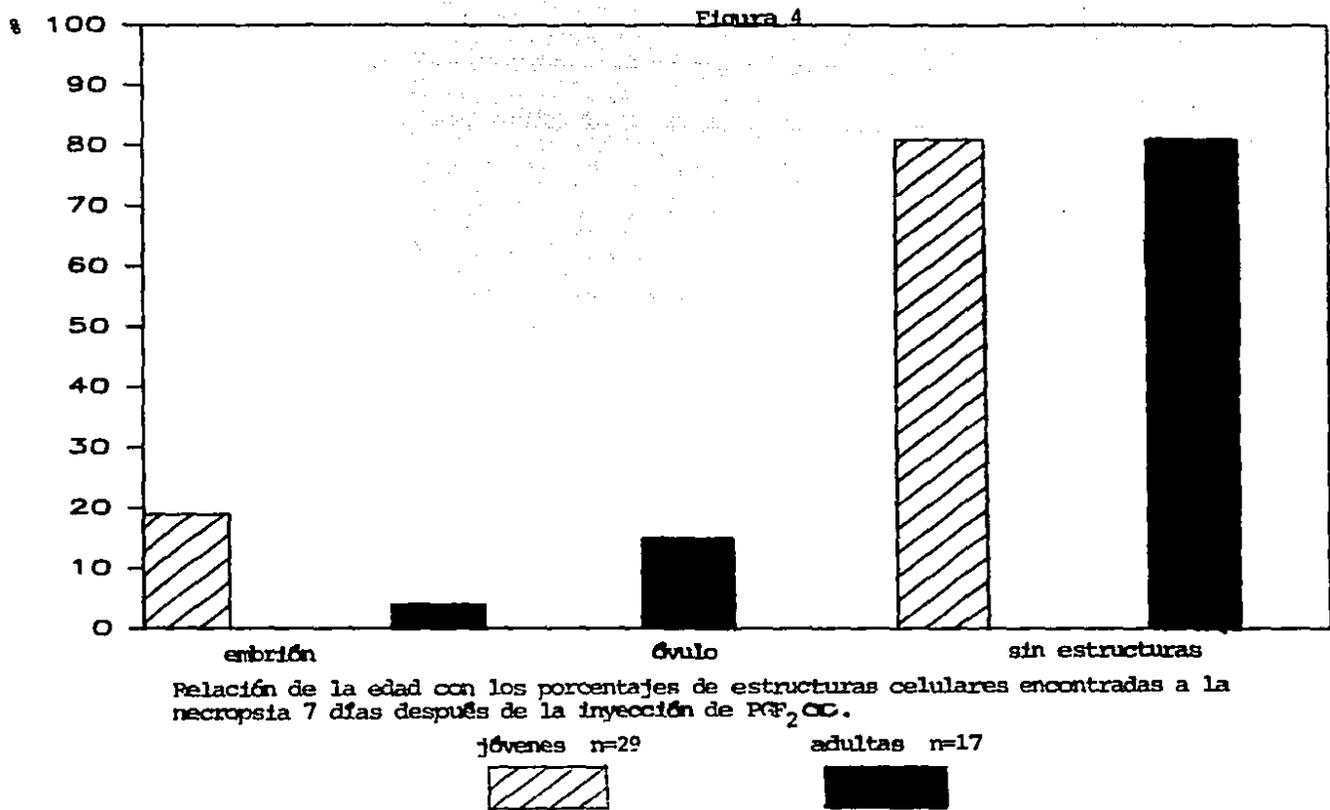
cebs n=20

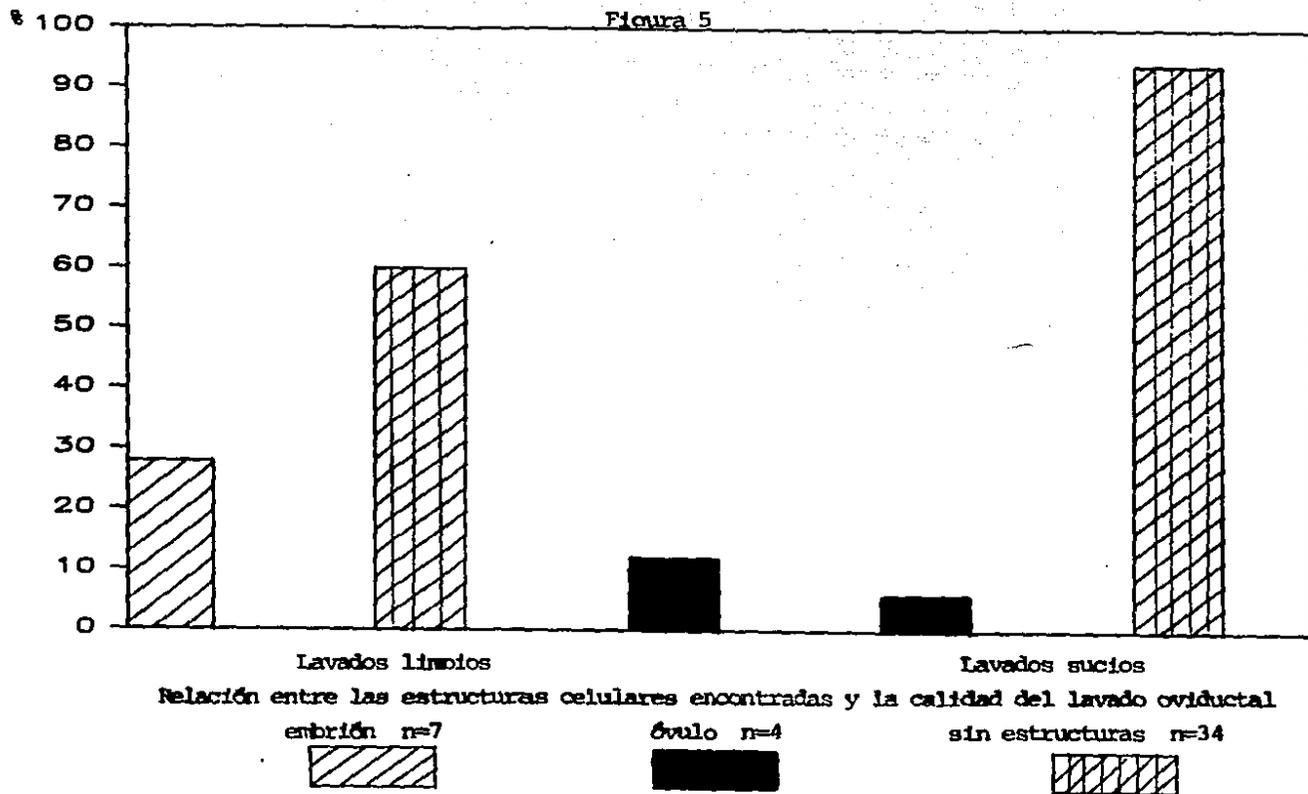
cruzas n= 26











CUADRO 1

RELACION ENTRE LA EDAD Y LOS ANIMALES CLASIFICADOS COMO ANORMALES CON DESVIACIONES DE MAS DE 20° EN LOS ANILLOS DEL CERVIX DE UN TOTAL DE 250 ANIMALES		
ANILLO DESVIADO EN EL CANAL CERVICAL EN SENTIDO POSTERO-ANTERIOR	E D A D	
	1 A 4 AÑOS JOVENES	5 EN ADELANTE ADULTAS
	§	§
PRIMERO	25	14
SEGUNDO	50	57
TERCERO	25	28
	n = 13	n = 59

CUADRO 2

RELACION ENTRE LA RAZA Y LOS ANIMALES CLASIFICADOS COMO ANORMALES CON DESVIACIONES DE MAS DE 20° EN LOS ANILLOS DEL CERVIX DE UN TOTAL DE 250 ANIMALES		
ANILLO DESVIADO EN EL CANAL CERVICAL EN SENTIDO POSTERO-ANTERIOR	R A Z A	
	1 A 4 AÑOS JOVENES	5 EN ADELANTE ADULTAS
	8	8
PRIMERO	7	24
SEGUNDO	61	52
TERCERO	32	24
	n = 40	n = 32

CUADRO 3

PORCENTAJE DEL GRADO DE DIFICULTAD PARA LA INTRODUCCION DEL CATETER DE IA A TRAVES DEL CERVIX DE ACUERDO A LA RAZA. EL NUMERO DE ANIMALES ESTA EXPRESADO EN PARENTESIS.

GRADO DE DIFICULTAD AL PASO DEL CATETER	R A Z A	
	CEBU	CRUZAS
FACIL	64 (16)	30 (9)
REGULAR	8 (2)	20 (6)
DIFICIL	28 (7)	50 (15)
	n = 25	n = 30

CUADRO 4

RELACION ENTRE EL GRADO DE DIFICULTAD AL PASO DEL CATETER Y EL SITIO DE DEPOSITO DEL SEMEN. EL NUMERO DE ANIMALES ESTA EXPRESADO EN PARENTESIS.			
DIFICULTAD AL PASO DEL CATETER	SITIO DE DEPOSITO EN CERVIX		
	1er. ANILLO	2do. ANILLO	3er. ANILLO
FACIL	8 (2)	4 (1)	88 (22)
REGULAR	13 (2)	88 (7)	0
DIFICIL	86 (19)	14 (3)	0
	n = 23	= 11	n = 22

CUADRO 5

RELACION DE LA RAZA DE LOS ANIMALES CON EL SITIO DE DEPOSITO DEL SEMEN. EL NUMERO DE LOS ANIMALES ESTA INDICADO ENTRE PARENTESIS.			
SITIO DE DEPOSITO DEL SEMEN EN EL CANAL CERVICAL	R A Z A		
	CEBU		CRUZAS
1er. ANILLO	28 (7)		50 (15)
2do. ANILLO	16 (4)		23 (7)
3er. ANILLO	56 (14)		27 (8)
	n = 25		n = 22

CUADRO 6

PORCENTAJE DE VACAS QUE PRESENTARON CELO DESPUES DE LA INYECCION DE PGF2 α DE ACUERDO A LA RAZA DE LOS ANIMALES. EL NUMERO DE ANIMALES ESTA EXPRESADO ENTRE PARENTESIS		
MANIFESTACION DE CELO	R A Z A	
	CEBU	CRUZAS
NO	35 (9)	65 (20)
SI	65 (17)	35 (11)
	n = 26	n = 31

CUADRO 7

RELACION ENTRE LA MANIFESTACION DEL CELO Y LAS ESTRUCTURAS ENCONTRADAS EN LOS OVARIOS A LA NECROPSIA. EL NUMERO DE ANIMALES ESTA EXPRESADO EN PARENTESIS			
ESTRUCTURAS DE LOS OVARIOS A LA NECROPSIA	NUMERO DE ANIMALES	PRESENCIA DE CELO	
		SI	NO NO
CUERPO LUTEO	9	54 (7)	8 (2)
CUERPO HEMORRAGICO	30	46 (6)	92 (24)
		n = 13	n=26

CUADRO 8

ESTRUCTURAS CELULARES ENCONTRADAS EN ANIMALES DE ACUERDO A LA PRESENCIA DE SIGNOS DE ESTRO		
ESTRUCTURA CELULAR ENCONTRADA EN LAVADO OVIDUCTAL	MANIFESTACION DE SIGNOS DE CELO	
	SI %	NO %
EMBRION	0	25
SIN ESTRUCTURAS	96	65
OVULO	4	10
TOTAL % -	100	100

CUADRO 9

RELACION ENTRE LAS ESTRUCTURAS ENCONTRADAS EN EL LAVADO OVIDUCTAL DEL ANILLO DEL CERVIX DONDE FUE DEPOSITADO EL SEMEN.			
ESTRUCTURA CELULAR	SITIO DE DEPOSITO		
	1er ANILLO 8	2do ANILLO 8	3er ANILLO 8
EMBRION	10	17	14
OVULO	0	2	2
SIN ESTRUCTURA	90	67	72
	n = 21	n = 12	n = 22

Cuadro 10

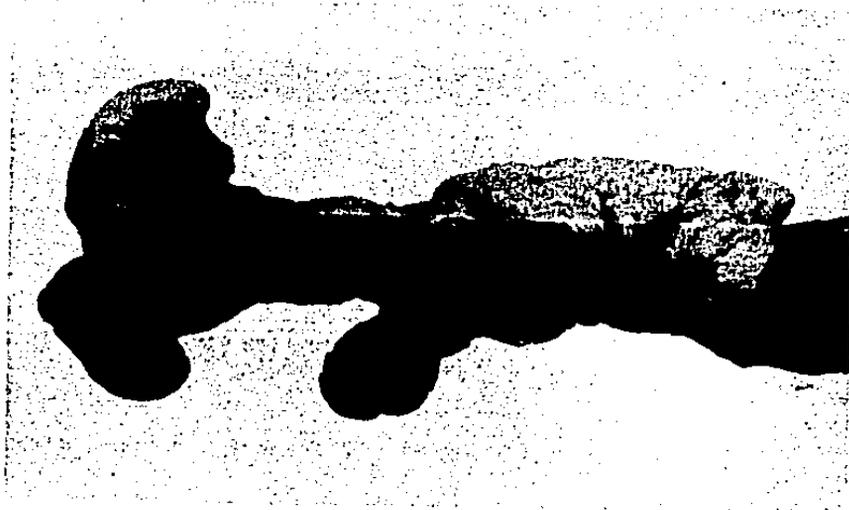
No. de vaca	Estructuras encontradas a la necropsia	Niveles de P ₄ ng/ml	Relación positiva entre éxito del palpador y niveles de LH en sangre.	Presencia de celo después de la inyección de PGF ₂ α
1	CH	0.64	*	SI
2	CH	1.02	*	SI
3	E	0.69		NO
4	E	0.34		NO
5	E	0.70		NO
6	E	0.32		NO
7	CH	2.87	*	NO
8	E	0.29		NO
9	CL	1.65		NO
10	E	0.81		NO
11	E	0.73		NO
12	CL	0.75		NO
13	CH	1.89	*	NO
14	E	0.46		NO
15	CL	0.42		NO
16	CH	1.10	*	SI
17	CH	5.09	*	NO
18	CH	6.92	*	SI
19	CH	3.13	*	SI
20	CH	1.73	*	SI
21	CH	0.67	*	NO
22	QP	0.81		NO
23	CH	1.73	*	NO
24	CL	2.86		NO
25	E	0.41		NO
26	CH	1.40	*	NO
27	CH	1.01	*	NO
28	CH	3.41	*	NO

CH= cuerpo hemorrágico, E= Ovarios estáticos, Cl= Cuerpo lúteo.

* = Presencia de cuerpo hemorrágico a la necropsia y niveles de progesterona mayores de 0.5 ng/ml en sangre, indicadores de fase lútea al momento de la palpación rectal, lo que indica un diagnóstico correcto.

FOTOGRAFIAS 1 y 2:

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DEL CERVIX DE BOS
INDICUS CLASIFICADO COMO ANORMAL POR ENCONTRARSE
DESVIADO EN MAS DE 20° DEL PLANO LONGITUDINAL.
LA CINTA MARCA LA LUZ DEL CANAL CERVICAL.



Fotografia 1



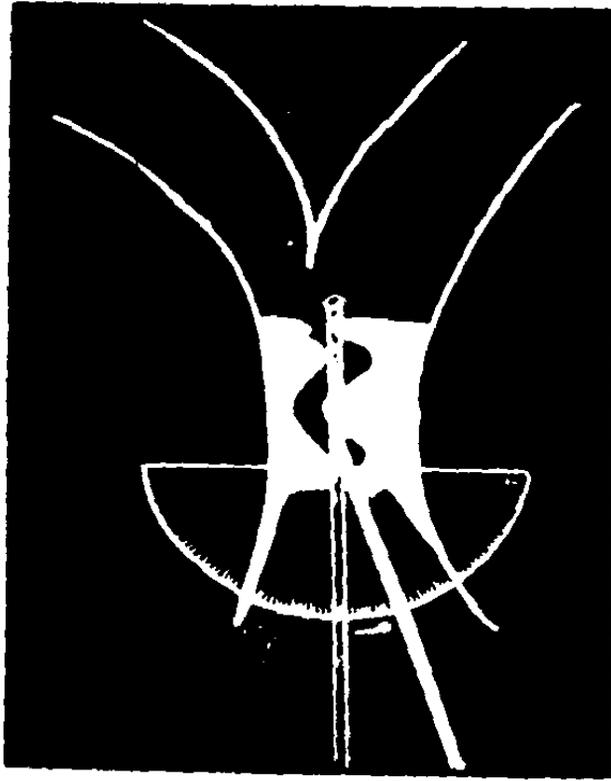
Fotografia 2

FOTOGRAFIA 3:

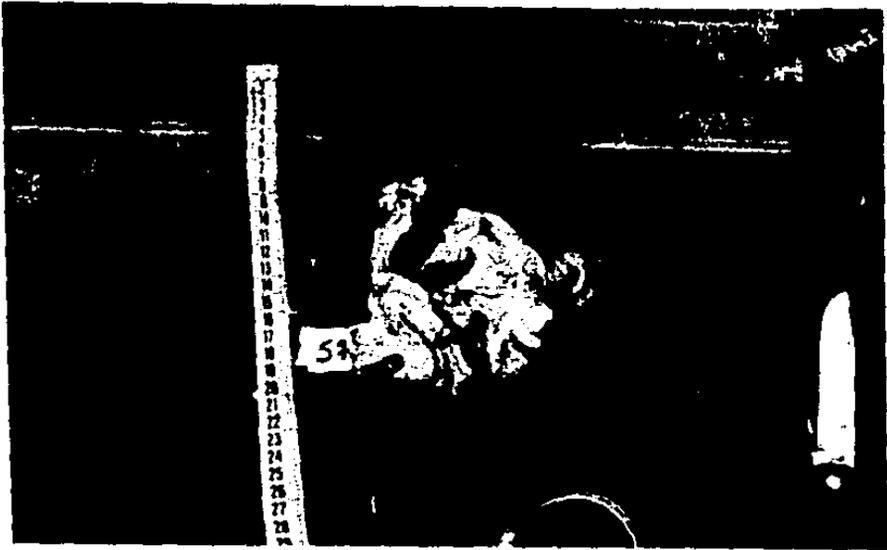
METODOLOGIA EMPLEADA PARA MEDIR EL ANGULO DE DESVIACION DEL CANAL CERVICAL. EL USO DE LA PIPETA DE INSEMINACION ARTIFICIAL Y EL TRANSPORTADOR, PERMITEN DELIMITAR EL EJE LONGITUDINAL Y EL ANGULO DE DESVIACION.

FOTOGRAFIA 4:

CARACTERISTICAS DEL CERVIX BOVINO DE BOS INDUCUS, EN DONDE SE MUESTRA LA DESVIACION DE LOS ANILLOS CERVICALES. NOTESE LA CURVATURA ILUSTRADA CON LA CINTA.



Fotografia 3



Fotografia 4

FOTOGRAFIA 5:

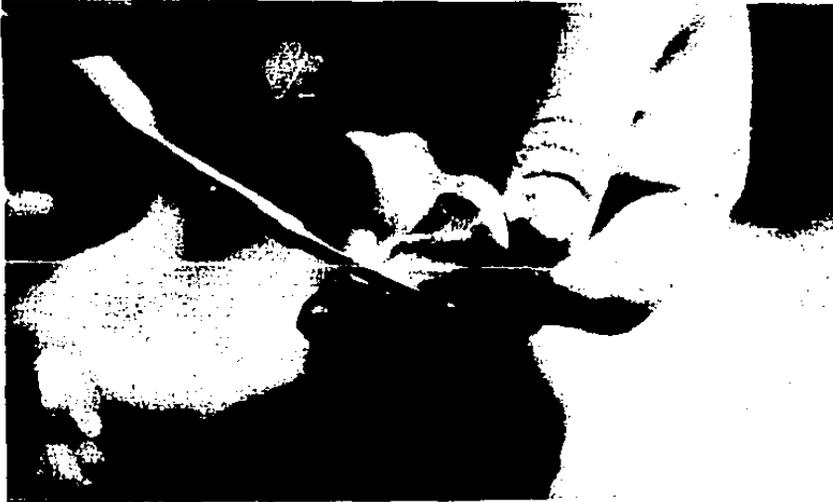
SE MUESTRA EL OVIDUCTO DE BOS INDICUS EN EL AREA CERCANA A LA FIMBRIA.

FOTOGRAFIA 6:

ANTES DE REALIZAR EL LAVADO OVIDUCTAL SE REALIZA LA DISECCION DEL OVIDUCTO CON UNAS TIJERAS PARA PERMITIR SU MANIPULACION.



Fotografia 5



Fotografia 6

FOTOGRAFIA 7:

COLOCACION DEL OVIDUCTO DISECADO PARA REALIZAR EL LAVADO OVIDUCTAL. LA CAJA DE PETRI SE COLOCA DEBAJO DEL CORTE PARA RECIBIR LAS GOTAS DONDE VIENE EL EMBRION.

FOTOGRAFIA 8:

INDUCCION DE SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA CON UNA JERINGA Y AGUJA DE PUNTA ROMA A TRAVES DE LA FIMBRIA PARA LAVAR EL OVIDUCTO. NOTESE EL ENGROSAMIENTO OVIDUCTAL, INDICIO DE QUE EL LIQUIDO ESTA PASANDO DENTRO DEL OVIDUCTO.



Fotografia 7



Fotografia 8

FOTOGRAFIA 9:

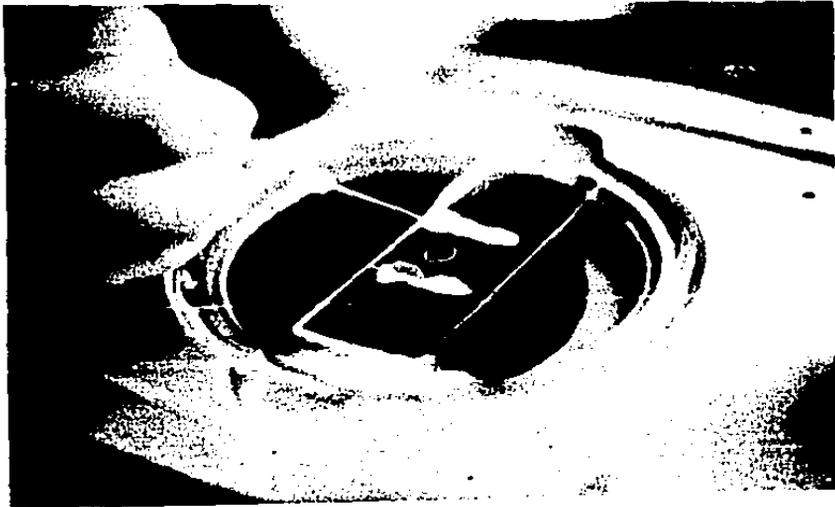
RECOLECCION DE LAS PRIMERAS GOTAS DEL LAVADO OVIDUCTAL,
EN DONDE GENERALMENTE SE ENCUENTRA EL EMBRION.

FOTOGRAFIA 10:

DESPUES DE QUE EL EMBRION ES LOCALIZADO AL MICROSCOPIO
ESTEREOSCOPICO, ESTE SE COLOCA SOBRE UN PORTAOBJETOS,
APLICANDOSE LA TECNICA DE CHANG (13), PARA TEÑIR EL
EMBRION Y VER SI HUBO FERTILIZACION.



Fotografía 9



Fotografía 10

LITERATURA CITADA

1. Anderson, J.: Ovulation in the cow. J. Agric. Sci. (Camb)., 26: 34-39 (1938).
2. Anderson, J.: The periodicity and duration of oestrus in zebu and grade cattle. J. Agric. Sci. (Camb)., 34: 57-67 (1944).
3. Agarwal, S.P., Rahman, S.A., Laumas, K.R., Agarwal, N.K. and Ahmad, A.: Studies on steroid hormones: Progesterone concentration in the blood serum of zebu cows during oestrus cycle. Indian J. Anim. Sci., 47: 715-719 (1977).
4. Aguilar, J.A., Galina, C.S. y Hummel, J.: Estudio comparativo de los ovarios de la vaca cebú y la vaca Holstein. Vet-Méx., 14: 133-136 (1983).
5. Aspron, M.A. y Zapien, A.: Efecto del momento de la Inseminación Artificial sobre la fertilidad en ganado Guzerat. Memorias del VIII congreso Nal. de Buiatría. Veracruz, Ver. 1982. 237-239. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Ruminantes. México, D.F. (1982).
6. Aspron, M.A. y Zapien, A.: Momento de la ovulación en vacas guzerat y su relación con la fertilidad. Memorias del VIII Congreso Nal. de Buiatría. Veracruz, Ver. 1982. 236. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bo-

vinos y Pequeños Rumiantes. México, D.F. (1982).

7. Austin, C.R. and Short, R.V.: Hormones in Reproduction. Reproduction in Mammals. 2nd. ed. Cambridge University Press, London, 1972.
8. Beach, F.D.: Sexual Attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. Horm. Behav., 7: 105-139 (1976).
9. Becerril, C.A.: Tratamiento hormonal de toretes castrados para la detección de calores. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, México, 1979.
10. Bishop, M.W.H.: Paternal Contribution to embryonic death. J. Reprod. Fertil., 13: 579-581 (1967).
11. Brackett, B.G., Yonko, H., Evans, J. and Donweck, W.J.: Fertilization and early development of cow ova. Biol. of Reprod., 23: 189-205 (1980).
12. Cal, G.L.: Algunos comentarios sobre la detección de calor en el ganado bovino. Gac. Vet., 347: 26-31 (1980).
13. Chang, M.C.: The maturation of rabbit oocytes in culture and their maturation, activation, fertilization and subsequent development in the fallopian tubes. J. exp. Zool., 128: 379-405 (1955).

14. Chicco, C. y Shultz, E.: El uso de los recursos tropicales para la alimentación de los bovinos. X Congreso Mundial Buiatría. México, D.F. 1978. 605-632. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y pequeños Rumiantes. México, D.F. 1978.
15. Christenson, R.R., Echterkamp, S.E. and Laster, D.B.: Oestrus, LH, ovulation and fertility in beed heifers. J. Reprod. Fert., 43: 543-546 (1975).
16. Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical: Boletín Informativo. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1978.
17. Craig, V.J.: Domestic Animal Behavior Causes and Implications for Animal Care and Management. Prentice Hall, 2a. Ed. New Jersey, 1981.
18. Cug, P., Ferney, J. et Craiynest, Van.P.: Le cycle genital de la femelle zebu (Bos indicus) en zone Soudano-sahelienne de Senegal. Revue de Medecine Veterinaire, 125:143- 147 (1974).
19. Dawson, F.L.M.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. Vet. Rec., 96: 218-220 (1975).

20. Duchateau, A.B. and Whitmor, H.L.: Uterine tube anomalies in cattle. J. Am. vet. med. Ass., 172: 1308-1309 (1978).
21. Escobar Medina, F.J.: Estudio del intervalo entre partos en bovinos productores de carne, en una explotación del altiplano y otra de la zona tropical húmeda. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1982.
22. Euler, Von.: Citado por: González, M.A.: Pruebas de fertilidad en ganado cebú-Gyr de trópico húmedo a estro natural y estro inducido con PGF₂ α , comparando la monta natural contra la Inseminación Artificial. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
23. Galina, C.S.: Some aspects that affect the success of Artificial Insemination in Zebu cattle. Proc. Soc. for Theriogenology. Sacramento, 1985. 9-25. Soc. theriogenology. Sacramento, California. (1985).
24. Galina, C.S., McCloskey, M. and Calderón, A.: Detection of signs of oestrus in the charolais cow and its Brahman cross under continuous observation. Theriogenology, 17: 485-498 (1982).

25. García, E.: Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Serie Azul. Universidad Nacional Autónoma de México! México, D.F., 1973.
26. González, R., Soto Beloso, E. y Bohorquez, R.: Patency of the cervical canal in cross-bred female zebues x Brown Swiss selected for non surgical recovery or transfer of embryos. Theriogenology, 19: 759-761 (1983).
27. Graden, A.P., Olds, D., Mochw, C.R.: Causes of fertilization failure in repeat breeding cattle. J. Dairy Sci., 52: 778-781 (1968).
28. Greenwald, G.S.: Endocrine regulations of the secretion of mucin in the tubal epithelium of the rabbit. Anat. Rec., 130: 477-488 (1958).
29. Ham, A.W. and Comarch, D.H.: Histology. 5th. ed. Pitman Medical Publishing J.B. London, Philadelphia, 1965.
30. Habich, G.E.: Detección de celos por toros vasectomizados en vacas A. Angus primiparas no inseminadas. Gac. Vet., 40: 303-308 (1978).
31. Hafez, E.S.E.: Adaptación de los animales de granja. Editorial Herrero, México, D.F., 1972.

32. Hafez, E.S.E.: Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea and Febiger, Philadelphia, (1970).
33. Hafez, E.S.E.: Reproduction in Farm Animals. 4th.ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1970.
34. Hardin, D.R., Warnick, A.C., Wise, T.H., Schultz, R.H. and Fields, M.J.: Artificial Insemination of subtropical commercial Beef Cattle following sincronization with cloprostenol (ICI80996). I. Fertility. Theriogenology, 14: 249-258 (1980).
35. Holy, L.: Bases Científicas de la Reproducción en Climas Tropicales y Templados. 2a. ed. Editorial Diana. México, D.F., 1985.
36. Humboldt, P.: La mortalite embryonnaire chez les bovines; frequence, importance respective des facteurs D'apparition. In: Recherches Récentes sur L'epidemiologie de la Fertilité. 1984.Toulouse. 213-246. Colloque de la Societe Francaise pour L'etude de la fertilité 1986. Masson Ed. Paris. 1986.
37. Hunter, R.H.F.: Fertility in cattle: Basic reasons why late insemination must be avoided. Anim. Breed. Abstr., 53: 83-87 (1985).

38. Irving, H.J. and Randel, R.D.: Reproductive studies of brahman cattle. III comparison of weight, progesterone content, histological characteristics, 3 β dihydroxysteroid, dehydrogenase activity in corporea lutea of brahman hereford heifers. Theriogenology, 9: 417-427 (1978).
39. Johnson, C.T.: Time to onset of oestrus after the injection of heifers with cloprostenol. Vet. Rec., 103: 204-206 (1978).
40. Jiménez, F., Galina, C., Duchateau, A., Navarro Fierro, R.: Efecto de la PGF 2α sobre los niveles de progesterona y hormona luteinizante en vacas Indobrazil y Pardo Suizo. Memorias del X Congreso Nal. de Buiatrfa, Acapulco, Guerrero. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes. México. 1984. 199-201. México, D.F. (1984).
41. Kiddy, C.A.: Variation in physical activity as an indication of estrus in dairy cows. J. Dairy Sci., 60: 235-243 (1977).
42. Kursrok y Lieb. Citados por: Rechemberg, W., Dandow, J., Scholkens, B. y Halm, M.: Efectos Farmacológicos del Tiaprost (Illiren). El libro azul. Química Hoechst. Alemania-México. 537-544 (1984).

43. Landivar, C., Galina, C.S., Duchateau, A., Navarro Fierro, R.: Fertility trial in zebu cattle after a natural or controlled estrus with Prostaglandine F2 α , comparing natural mating with Artificial Insemination. Theriogenology, 23: 421-429 (1985).
44. Lauderdale, J.W.: Effects of PGF2 in pregnancy and estrus cycle in cattle. J. Anim. Sci., 35: 246-250 (1972).
45. Linares, T., Plasse, D.: Caracteres Reproductivos en un ha to Brahman en Venezuela. Memorias del Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. México, D.F., 1966. 155-162. México, D.F. (1966).
46. Louis, T.M., Hafz, H.D. and Stellflug, J.-N.: Control of ovulation, fertility and endocrine response after PGF2 α in cattle. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 23: 407-417 (1975).
47. Luján Cruz, G.: Características Morfológicas del cérvix en el ganado cebú. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1982.
48. Mahajan, S.C. and Menge, A.C.: Influence of uterine environment on the fertilizing capacity of sperm in cattle. J. Anim. Sci., 25: 1083-1086 (1971).

49. McLaren, A.: The Embryo, in: Reproduction in mammals. Embryonic and fetal development. Austin and Short. Cambridge University Press. London, 1972.
50. Méndez, I.: Análisis de diseños incompletos y desbalanceados con factores fijos. Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y Sistemas. Serie Azul. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1982.
51. Mitchell, K.J., Betteridge, W.C.D., Hare, M.D., Eaglesome, F. and Randall, A.: Sinopsis de la plática presentada por el autor principal en la conferencia anual de la sociedad internacional de transferencia de embriones. Denver, Colorado, 1976. Animal Pathology Division. Health of animal Diseases Research Institute. 801, Followfield, Ontario, Canadá (1976).
52. Moreno, I., Galina, C.S., Escobar, F.J., Navarro Fierro, R.: Evaluation of the lytic response of PGF₂ α in zebu cattle base on serum Progesterone. Theriogenology, 25: 421-429 (1985).
53. Navarro, F.: Bioestadística: Análisis de Variables Binarias. Mc. Graw Hill. México, D.F., 1987.
54. Nodot, P.R.: Reproductive and productive performance of an Indobrazil Herd in the eastern coast of the golf of Mexico. Thesis of PHD, University of Florida, Florida, 1980.

55. Oliveira, Filho, E.B.: Contribucao para o estudio genetica cuantitativo da fertilidade de un rebanho canchin. Tesis Licenciatura. Universidad de Sao Paulo, Brazil, 1977.
56. Orihuela, A., Galina, C., Escobar, J. and Riquelme, E.: estrous behaviour following Prostaglandin F_{2α} injection in zebu cattle under continuous observation. Theriogenology, 19: 795-809, 1983.
57. Orihuela, A.: Conducta estral en vaca indobrasil. Tesis de Doctorado. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1985.
58. Ortiz, C.: Fertilidad en Inseminación Artificial a ciegas y a estro detectado. Memorias del VIII Congreso Nal. de Buiatría. Veracruz, Ver. 251. 1982. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes. México, D.F. (1982).
59. Plasse, D., Warnick, A.C. and Koger, M.: Reproductive behavior of Bos Indicus female in a subtropical environment IV. Length of estrous cycle, duration of estrus, time of ovulation, fertilization of embryo survival in grade Brahman Heifers. J. Anim. Sci., 30: 63-72 (1970).

60. Prieto Chavez, Israel: Estudio de una PGF2 sintética (Fenprostaleno), para controlar estro y fertilidad en ganado cebú en el trópico, comparando la IA con la monta natural. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1983.
61. Randel, R.D.: LH and Ovulation in Brahman X Hereford and Hereford heifers. J. Anim. Sci., 43: 300-301 (1976).
62. Randel, R.D.: Interrelationship on the endocrine and physiological events during the estrus cycle in Brahman cattle. Texas Agricultural Experiment station at the Texas A and M. University Agricultural Research. Texas, (1978).
63. Randel, R.D.: Seasonal effects of female reproductive functions in the bovine. (Indian Breeds). Theriogenology, 21: 170-185 (1984).
64. Rubio, Ivette: Niveles séricos de Progesterona en vacas In do Brasil (Bos Indicus), durante los meses de Noviembre a Febrero en el trópico. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1984.
65. Seidel, G.E., Seidel, S.M. and Bowen, R.A.: Bovine embryo transfer procedures. Colorado State University. Experiment Station in cooperation with Animal Reproduction Laboratory. General Series. 975: 10-12, Colorado, (1984).

66. Seguin, B.E.: Role of Prostaglandins in Bovine Reproduction. J. Am. vet. med. Ass., 176: 1178-1181 (1980).
67. Shea, B.F.: Evaluating the bovine embryo. Theriogenology, 15: 31-35 (1981).
68. Sorensen, A.M.: Estrus detection in cattle. The South Western Veterinarian, 28: 127-134 (1975).
69. Thomas, O.: Control del estro en ganado cebú en el trópico utilizando la prostaglandina sintética ICI80996. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1979.
70. Thomas, A.N.: Intensidad y duración de los signos de estro en el ganado cebú en el trópico después de la aplicación de la Prostaglandina sintética ICI80996. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1979.
71. Ulberg, L., Cand, P.J. and Barfening, J.: Embryo death resulting from adverse environment on spermatozoa or ova. J. Anim. Sci., 26: 571-577 (1967).

72. Vaca, L.A., Galina, C., Fernández-Baca, S., Escobar, J. and Ramirez, B.: Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrus cycle in zebu cows. Theriogenology, 20:67-70 (1983).
73. Vaccaro, L. de., Garcia, M., Bazan, D., Bardales, E.: Fertility and body weight at first mating of zebu cattle grazing cleared jungle land in the Amazone. Trop. Agric., 54: 223-227 (1977).
74. Varne, D.D., Henrichs, K., Garcia, M.C., Osborne, H.G. and Kenney, R.M.: A comparison between cervical dimensions of pregnant and nonpregnant Sta. Gertrudis and Bos taurus cows. Theriogenology, 24: 109-116 (1985).
75. Vizcarra, O.: El Cebú en México. 2a. ed. B. Costa Amic. Ed. México, D.F., 1975.
76. Watson, E.D. and Murro, C.D.: A reassessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. Br. Vet. J., 136: 555-560 (1980).
77. Wild, C.E., Galina, C.S., Duchateau, A. y Navarro Fierro, R.: Evaluación de fertilidad en ganado cebú después de un estro natural o controlado con PGF₂α, comparando la Inseminación Artificial con la monta natural en un programa de 180 días. Memorias X Congreso Nal. de Buiatría. Acapulco, Guerrero,

1984. 225. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes. México, D.F., (1984).

78. Wiltbank, J.N., Shunway, R.P., Parker, W.R. and Zimmerman, D.R.: Duration of estrus, time of ovulation and fertilization rate in beef heifers synchronized with dihydroxyprogesterone. J. Anim. Sci., 26: 764-767 (1967).
79. Wiltmut, I., Sales, D.I. and Ashworth, C.J.: Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in animals. J. Reprod. Fert., 76: 851-864 (1986).