

01669  
Tes.  
2



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INCIDENCIA DE OVULACION RETARDADA Y SUS  
EFECTOS SOBRE LA FUNCION DEL CUERPO LUTEO  
Y LA FERTILIDAD DE VAQUILLAS HOLSTEIN**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL**

**P r e s e n t a :**

**JOEL HERNANDEZ CERON**

**Aseores: Dr. Luis Zarco Quintero**

**M.V.Z. Victor Lima Tamayo**



**México, D. F.**

**Abril, 1969**

**TESIS CON  
FALLA DE CRIDA.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

## RESUMEN

HERNANDEZ CERON, JOEL. Incidencia de ovulación retardada y sus efectos sobre la función del cuerpo lúteo y la fertilidad de vaquillas Holstein. (Bajo la dirección del Dr. Luis Zarco Quintero y el MVZ Victor Lima Tamayo).

Para determinar la incidencia del síndrome de repetición de servicios en vaquillas Holstein se revisaron los registros de las inseminaciones y desechos realizados entre mayo de 1986 y abril de 1987 en el Centro de Recría de Tizayuca, Hgo., encontrándose que el 17.7 % de las vaquillas inseminadas fueron repetidoras (más de 3 servicios) y que la principal causa de eliminación fue por infertilidad (71 %). Con la finalidad de conocer la frecuencia de ovulación retardada y su efecto sobre la fertilidad se palparon rectalmente al momento del servicio 134 vaquillas de primer servicio y 108 repetidoras para identificar el folículo preovulatorio. Veinticuatro horas después del servicio se comenzaron a palpar cada 12 h hasta determinar que la ovulación había ocurrido. El 90.7 % de las vaquillas repetidoras y el 93.7 % de las de primer servicio ovularon dentro de las 24 h siguientes a la inseminación. En todas las vaquillas restantes la ovulación ocurrió dentro de las 12 h siguientes. La diferencia en la frecuencia de ovulación retardada no fué significativa ( $p > 0.05$ ). El índice de concepción de las vaquillas con ovulación retardada (42 %) no fue diferente al de aquellas que ovularon normalmente (44 %) ( $p > 0.05$ ). Las concentraciones de progesterona

plasmática durante los días 0 a 7 postservicio fueron similares ( $p > 0.05$ ) en 15 vaquillas con ovulación normal y 15 vaquillas con ovulación retardada de una muestra al azar. Asimismo, se compararon las concentraciones de progesterona durante los días 0 a 7 postservicio entre vaquillas gestantes y no gestantes, así como entre vaquillas repetidoras y de primer servicio, no encontrándose diferencias ( $p > 0.05$ ). Con el objeto de determinar si la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) o la reinseminación mejoran la fertilidad en vaquillas repetidoras se realizó el siguiente experimento : 101 vaquillas repetidoras fueron reinseminadas 12 h después de la primera inseminación; otras 126 vaquillas repetidoras recibieron 5000 UI de hCG i.m. al momento de la inseminación; 105 vaquillas repetidoras permanecieron como testigos con una sola inseminación y sin hCG . El índice de concepción no fue diferente ( $p > 0.05$ ) entre las vaquillas reinseminadas (34.6 %), vaquillas tratadas con hCG (26.7%) y vaquillas del grupo testigo (30.5 %).

Se concluye que la ovulación retardada no desempeña un papel relevante en la etiología de la vaquilla repetidora y su presentación no afecta la fertilidad ni la función del cuerpo lúteo . Por otra parte, la reinseminación o la administración de 5000 UI de hCG i.m. al momento del servicio no mejoran el índice de concepción en vaquillas repetidoras.

## LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
<b>I. <u>INTRODUCCION</u></b>	1
<b>II. <u>REVISION DE LA LITERATURA</u></b>	4
2.1 EFICIENCIA REPRODUCTIVA	4
2.2 VACA REPETIDORA	6
2.2.1 INCIDENCIA	6
2.2.2 ETIOLOGIA DE LA VACA O VAQUILLA REPETIDORA	7
2.2.3 MORTALIDAD EMBRIONARIA	7
2.2.4 CAUSAS DE FALLAS EN LA FERTILIZACION	9
2.2.5 CONTROL ENDOCRINO DE LA OVULACION	9
2.2.6 FISIOLOGIA DE LOS GAMETOS	10
2.2.7 MOMENTO DE LA INSEMINACION	11
2.2.8 DESEQUILIBRIOS ENDOCRINOS	12
2.2.8.1 Deficiencias en la producción de progesterona	13
2.2.8.2 Ovulación retardada	15
<b>III. <u>MATERIAL Y METODOS</u></b>	19
3.1 INFORMACION GENERAL	19
3.2 ESTUDIO RETROSPECTIVO	21
3.3 EXPERIMENTO 1. ESTUDIO SOBRE LA INCIDENCIA DE OVULACION RETARDADA Y SU EFECTO SOBRE LA FERTILIDAD EN VAQUILLAS HOLSTEIN	22
3.4 EXPERIMENTO 2. CONCENTRACION DE PROGESTERONA DURANTE LOS PRIMEROS 7 DIAS POSTSERVICIO EN VAQUILLAS CON OVULACION NORMAL Y OVULACION - RETARDADA	23

## LISTA DE CONTENIDO

Página

3.5	EXPERIMENTO 3. EFICACIA DE LA REINSEMINACION Y LA ADMINISTRACION DE HCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACION COMO METODOS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD EN VAQUILLAS REPETIDORAS	25
IV.	<u>RESULTADOS</u>	26
4.1	ESTUDIO RETROSPECTIVO	26
4.2	EXPERIMENTO 1	29
4.3	EXPERIMENTO 2	31
4.4	EXPERIMENTO 3	34
V.	<u>DISCUSION</u>	35
5.1	ESTUDIO RETROSPECTIVO	35
5.2	EXPERIMENTO 1	38
5.3	EXPERIMENTO 2	41
5.4	EXPERIMENTO 3	45
VI.	<u>CONCLUSIONES</u>	47
VII.	<u>BIBLIOGRAFIA</u>	49

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Concentración de progesterona en el día del servicio y los primeros 7 días postservicio en 15 vaquillas con ovulación retardada y - 15 con ovulación normal	31-32
2. Concentración de progesterona en el día del servicio y los primeros 7 días postservicio en 13 vaquillas gestantes y 17 no gestantes	32-33
3. Concentración de progesterona en el día del servicio y los primeros 7 días postservicio en 18 vaquillas repetidoras y 12 de primer servicio	33-34

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Distribución de las inseminaciones realizadas durante el periodo de mayo de 1986 a abril de 1987 de acuerdo al número de servicios de las vaquillas	26
2. Causas de desecho en vaquillas de reemplazo durante el periodo de mayo de 1986 a abril de 1987	28
3. Alteraciones del aparato reproductor en las vaquillas desechadas por infertilidad	28
4. Incidencia de ovulación retardada en vaquillas repetidoras y de primer servicio	30
5. Índice de concepción en vaquillas con ovulación normal y retardada	30
6. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas con ovulación retardada y ovulación normal	31
7. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas gestantes y no gestantes	32
8. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas repetidoras y de primer servicio	33
9. Índice de concepción en vaquillas repetidoras reinseminadas, inyectadas con 5000 UI de hCG, y testigos	34



## I INTRODUCCION

Los factores que determinan la eficiencia productiva en el ganado lechero son múltiples y complejos. Dentro de éstos, el aspecto reproductivo es fundamental para asegurar una producción adecuada de leche y reemplazos (6,36).

En la actualidad, debido a la investigación básica y aplicada, se dispone de nuevos conocimientos para hacer más eficiente la actividad reproductiva en los bovinos. Sin embargo existen problemas que aún no han sido resueltos y cuyo conocimiento es limitado.

La baja fertilidad es uno de los problemas más importantes desde el punto de vista reproductivo, y resulta en una reducción en la producción de leche y, por lo tanto, un menor ingreso para el productor (6,37). La expresión más elocuente de este problema es el síndrome de la vaca repetidora, el cual afecta entre el 10 y el 18 % de las hembras bovinas (1). A pesar de los conocimientos generados en los últimos años sobre fisiología de la reproducción bovina, el problema de la vaca repetidora sigue vigente y representa una de las causas principales de pérdidas económicas de origen reproductivo en los hatos lecheros. Las causas de falla en la concepción en este tipo de animales no están totalmente establecidas, pero pueden dividirse en dos grandes grupos : fallas en la fertilización y mortalidad embrionaria (1,2,20,21,35).

Existen muchas causas de infertilidad en la hembra bovina, por lo que es importante conocer la importancia relativa de cada una de ellas en el síndrome de repetición de servicios. Los casos de infertilidad en vacas adultas están en gran porcentaje asociados con secuelas del parto, distocia ó aborto (32), situaciones a las que la vaquillas aún no han sido expuestas. Por esta razón es probable que las causas principales de infertilidad en vaquillas sean diferentes a las que se han notificado en vacas adultas. Debido a esto es necesario evaluar la incidencia y papel de cada una de las posibles causas de repetición de servicios en vaquillas.

La investigación realizada, en nuestras condiciones, sobre el problema de la vaca ó vaquilla repetidora es incipiente. No conocemos objetivamente la incidencia y las causa de esta condición, por lo que es necesario llevar a cabo trabajos orientados a resolver este complejo problema.

El objetivo general de este trabajo es el de determinar la frecuencia de ovulación retardada en vaquillas repetidoras y en vaquillas de primer servicio, y determinar si esta anomalía tiene efecto sobre la fertilidad.

Los objetivos específicos del trabajo son:

- 1.- Comparar la frecuencia de ovulación retardada en vaquillas repetidoras y de primer servicio.

2.- Determinar si la ovulación retardada afecta la fertilidad.

3.- Comparar los perfiles de progesterona plasmática durante los primeros siete días del ciclo estral de vaquillas con ovulación retardada y con ovulación normal.

4.- Evaluar la eficacia de la reinseminación como método para mejorar la fertilidad en vaquillas repetidoras.

5.- Evaluar la eficacia de la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG) al momento de la inseminación artificial como método para mejorar la fertilidad en vaquillas repetidoras.

## II REVISION DE LA LITERATURA

### 2.1 EFICIENCIA REPRODUCTIVA.

La reproducción ejerce notable influencia sobre la producción bovina en general y particularmente en el caso de la producción lechera. Si bien el factor reproductivo no afecta la capacidad productora de la vaca como sucede con la alimentación o el potencial genético, si tiene una acción básica sobre el ciclo de producción, ya que la vaca necesita parir para que de comienzo la secreción láctea. Para alcanzar niveles productivos adecuados es necesario establecer un manejo reproductivo que resulte en intervalos entre partos óptimos y que asegure, además, una generación constante de vaquillas de reemplazo (44).

El mejor indicador para determinar la eficiencia reproductiva en el ganado lechero adulto es el intervalo entre partos. Se considera en términos generales que un intervalo de 12 meses (365 días) es el apropiado para garantizar una máxima producción de leche y reemplazos durante la vida de la vaca (33), aunque algunos autores sugieren un intervalo de 385 días como el óptimo y mencionan que cualquier desviación resultará en un rendimiento lechero menor (6) . Para lograr un intervalo entre partos de 12 meses, el período de parto a concepción no deberá ser mayor de 85 días, y esto dependerá fundamentalmente del reestablecimiento de la actividad ovárica después del parto.

de la detección de la conducta de estro, y del índice de concepción obtenido en cada servicio ( 45 ).

Por otra parte, desde el punto de vista reproductivo el objetivo principal en la producción de reemplazos es lograr que la vaquilla tenga su primer parto a los 24 meses de edad o antes (66). Además, el número de vaquillas que paran por primera vez cada año debe ser igual o mayor al desecho anual de animales adultos (47). Seguramente el mejor indicador de la eficiencia reproductiva en vaquillas de reemplazo es la edad al primer parto, y esta dependerá básicamente de la edad en que se practique el primer servicio, del número de servicios que se requieran para que el animal quede gestante y, en caso de haberse requerido más de un servicio, del intervalo de tiempo transcurrido entre cada servicio (66).

Cuando el médico veterinario y el productor se proponen alcanzar una alta eficiencia reproductiva en el ganado lechero (vacas y vaquillas de reemplazo) se enfrentan a dos problemas que posiblemente son los de mayor importancia. El primero es el anestro, que en cualquiera de sus presentaciones, preservicio ó postservicio, retarda la concepción y aumenta el número de días abiertos, con la consiguiente pérdida en producción láctea (67). En el ganado lechero el anestro verdadero tiene una incidencia baja, por lo que la falta de estros se atribuye fundamentalmente a deficiencias en la detección de calores, aunque en algunos casos se debe a procesos patológicos del aparato reproductor (37,67).

El otro problema que ocasiona graves pérdidas desde el punto de vista reproductivo es la baja fertilidad, la cual en el extremo más grave está representado por la vaca repetidora. Esta situación fue inicialmente descrita por Tanabe y Casida en 1949 (57), quienes consideraron como una vaca repetidora a aquella que tenía más de cuatro servicios infértiles. Actualmente se asigna esta categoría a la vaca o vaquilla de reemplazo que ha tenido más de tres servicios sin concepción y que no presenta anomalías aparentes al examen de su aparato reproductor que pudieran ser causa de infertilidad (1).

## 2.2 VACA REPETIDORA

### 2.2.1 INCIDENCIA

La importancia y complejidad de este problema en la producción bovina quedó establecida desde los primeros trabajos realizados por Tanabe y Casida en 1949 (57), Tanabe y Almquist en 1953 (58) y Casida en 1961 (7). En la actualidad, y no obstante al aumento en los conocimientos sobre fisiología de la reproducción, la incidencia de esta condición es similar a la informada por los autores mencionados anteriormente. En datos citados por Ayalon (1) se observa que dicha incidencia fluctúa entre el 10 y el 18 % en hatos grandes. Cabe señalar que la incidencia mencionada corresponde a ganado lechero, particularmente a vacas adultas, y no existe información disponible en vaquillas de reemplazo.

### 2.2.2 ETIOLOGIA DE LA VACA O VAQUILLA REPETIDORA

La etiología de la vaca repetidora es compleja e incluye defectos anatómicos congénitos o adquiridos, endometritis, inseminación fuera de tiempo, baja calidad del semen, ovulación retardada y desequilibrios hormonales. Cualquiera de éstas condiciones puede resultar en fallas en la fertilización o muerte embrionaria temprana (1, 15, 32).

### 2.2.3 MORTALIDAD EMBRIONARIA

En trabajos recientes se observa que el índice de fertilización a primera inseminación en vaquillas normales (no repetidoras) es de más del 90 %, no obstante el porcentaje de becerros nacidos es cercano al 50 %, lo que indica que la mortalidad embrionaria es la mayor causa de fallas en la gestación en este tipo de animales (11, 38, 40, 48).

Tanabe y Almquist (58) encontraron que el 24 % de los óvulos recuperados en vaquillas repetidoras no estaban fertilizados, lo que sugiere que en algunas de estas vaquillas había problemas para que se realizara la fertilización. Sin embargo otros autores han encontrado que la fertilización en vaquillas repetidoras es cercana al 90 % y que no existen diferencias significativas con respecto al índice de fertilización de vaquillas normales, por lo que consideran que también en vaquillas repetidoras la mortalidad embrionaria es la principal causa de infertilidad (20, 21, 35). En el caso de animales adultos las pérdidas debidas tanto a fallas en la fertilización como a mortalidad embrionaria son

mayores en las vacas repetidoras comparadas con las vacas normales, aunque en éstas últimas también se presentan (4,17,40).

Se ha observado que los embriones de vaquillas y vacas repetidoras presentan anomalías en su desarrollo durante los primeros 7 días siguientes al servicio (1,2,20,21,35). Linares (35) encontró que de 31 embriones obtenidos en el día 7 postinseminación de vaquillas de primer servicio, el 74 % fueron normales, mientras que de 40 embriones de vaquillas repetidoras solo el 28 % fue considerado morfológicamente normal ( $p < 0.05$ ), mostrando los restantes alteraciones que probablemente los conducirían a una muerte temprana. La mayor parte de las pérdidas embrionarias en las hembras bovinas repetidoras suceden antes del día 15 postservicio, siendo el día 7 el más crítico (1,2). De esta forma la muerte del embrión ocurre antes de que se lleve a cabo el reconocimiento materno de la gestación, por lo que la hembra retornará al estro después de un período equivalente a un ciclo estral normal (1,2,59).

En la actualidad las causas de mortalidad embrionaria no están totalmente establecidas. No obstante se considera que están implicados factores de tipo genético, nutricional, la edad de la vaca, número de partos, momento de la inseminación, infecciones uterinas, clima, cambios bioquímicos en el medio ambiente uterino y desequilibrios endócrinos (1,2).



#### 2.2.4 CAUSAS DE FALLAS EN LA FERTILIZACION

Las fallas en la fertilización están determinadas por la calidad del semen (la fertilidad de los sementales utilizados y el manejo del semen), por el momento de la inseminación artificial y por la eficiencia en el transporte de los gametos a través del aparato genital de la hembra (29,52).

Tanabe y Almquist (58) encontraron que el 13.5 % de las vaquillas Holstein con problemas para concebir presentaron anomalías genitales tales como adherencias, salpingitis, hidrosalpinx y piosalpinx. Este tipo de alteraciones anatómicas puede impedir físicamente que la fertilización se lleve a cabo. Sin embargo en dicho estudio se encontró un 23 % de óvulos sin fertilizar a pesar de que solo el 13.5 % de las vaquillas tenían anomalías anatómicas, lo que sugiere que existen otras razones que impiden la fertilización. A este respecto es necesario recordar que la función reproductiva está controlada por una serie de eventos estrictamente sincronizados en donde cualquier alteración dará como consecuencia un fracaso en la concepción o la concepción de un embrión defectuoso destinado a morir. Para poder entender estas posibles alteraciones es necesario revisar primero los eventos que conducen a la fertilización.

#### 2.2.5 CONTROL ENDOCRINO DE LA OVULACION

Alrededor del día 16 del ciclo estral el endometrio secreta prostaglandina  $F2\alpha$ , la cual provoca luteolisis, disminuyendo de esta forma la concentración de progesterona plasmática (24). Este cambio da por resultado un decremento

de la retroalimentación negativa ejercida por la progesterona sobre el eje hipotálamo-hipofisiario, por lo que se produce un incremento de la frecuencia de secreción de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH), que a su vez provoca un aumento en la frecuencia de secreción de la Hormona Luteinizante (LH) (10,24).

Con la elevación de la LH circulante se promueve la maduración del folículo preovulatorio y la secreción de estradiol. El valor máximo de estradiol en plasma ocurre alrededor del comienzo del estro y este pico es el responsable de desencadenar el pico preovulatorio de LH (10,24). La ovulación sucede normalmente entre 24 y 32 h después del pico de LH o  $29 \pm 6$  h después del inicio del estro (8,10,24,55). En las vaquillas del Centro de Recría de Tizayuca se determinó que el pico de LH se presenta  $4.7 \pm 1.3$  h después del inicio del estro, y que la ovulación ocurre  $29.9 \pm 0.1$  h después de iniciado el estro y  $25.2 \pm 3.5$  h posteriores al pico preovulatorio de LH (50).

#### 2.2.6 FISILOGIA DE LOS GAMETOS

Tanto los espermatozoides como el ovocito deberán sufrir cambios en su morfofisiología antes de la fertilización. El primer cambio en los espermatozoides es la capacitación, ésta se lleva a cabo en el aparato genital de la hembra (28). La capacitación es seguida de una modificación en la estructura del acrosoma conocida como reacción acrosomal (28). Se requiere que los espermatozoides permanezcan de 12 a 18 horas en el aparato genital de la hembra para que se pueda llevar a

cabo la fertilización (29,30). Por otro lado la LH promueve la reactivación del ovocito, ya que este deberá completar la primera división meiotica antes de la fertilización (3).

Para que la fertilización se lleve a cabo normalmente se requiere de un encuentro sincronizado entre un espermatozoide previamente capacitado y un óvulo normal en la ampolla del oviducto, por lo que una correcta fertilización dependerá fundamentalmente de la relación entre el momento en que se practica la inseminación artificial y el momento en que ocurre la ovulación (22,23). El óvulo tiene un periodo de vida muy corto que raramente excede de 8 a 10 h, tiempo después del cual sufre alteraciones en sus organelos que conducen a una falla total en la fertilización o a fertilización anormal seguida de muerte embrionaria temprana (30). Por otra parte, la vida de los espermatozoides después de la monta natural es de 24 a 48 h aproximadamente, sin embargo si se insemina artificialmente con semen congelado el periodo de viabilidad es de solo 12 a 18 h, posteriormente la capacidad para fertilizar se reduce (29).

#### 2.2.7 MOMENTO DE LA INSEMINACION

Cuando se practica la inseminación en forma demasiado prematura en relación al momento de ovulación los espermatozoides corren el riesgo de envejecer en el aparato reproductor de la hembra (29,30). En el extremo opuesto, al realizar una inseminación tardía se compromete la integridad morfológica y funcional del óvulo (29,30). Debido al tiempo que los espermatozoides requieren para capacitarse es

indispensable que la inseminación se realice antes de la ovulación, para establecer una población de espermatozoides competentes cerca del sitio de la fertilización (29,30). En las vaquillas del Centro de Recría de Tizayuca se ha determinado que la mejor fertilidad se obtiene cuando la inseminación se realiza entre 8 y 20 h después del inicio del estro detectado por observación continua las 24 h del día, es decir entre 10 y 22 h antes de la ovulación (49).

#### 2.2.8 DESEQUILIBRIOS ENDOCRINOS

Una inadecuada sincronización en los cambios hormonales alrededor del estro puede afectar la maduración del ovocito, ovulación, transporte de los gametos, fertilización, transporte del embrión, el desarrollo embrionario, y puede conducir a un cambio en la conducta de estro (9,19,39,51,65). El papel de los desequilibrios hormonales como etiología de la vaca repetidora, y particularmente en la mortalidad embrionaria ha sido revisado por Gustafsson *et al.* (19), y por Maurer y Echterkamp (39). Estos autores han encontrado diferencias endócrinas entre vaquillas que tuvieron embriones normales y vaquillas con embriones anormales en su desarrollo.

Las asincronías hormonales dan como consecuencia que exista un ambiente uterino anormal que retarda y altera el desarrollo embrionario (65). Maurer y Echterkamp (39) informaron que vacas y vaquillas con embriones normales en su desarrollo tuvieron concentraciones de progesterona más elevadas en los días 3 a 6 postinseminación, un pico

preovulatorio de LH más alto y un intervalo más corto entre el comienzo del estro y el pico de LH que aquellos animales que desarrollaron embriones anormales.

#### 2.2.B.1 Deficiencias en la producción de progesterona

La progesterona ha sido la hormona más discutida como causa de desequilibrios endócrinos y posteriores anomalías embrionarias. Erb et al. (14) informaron que vacas con servicio fértil tuvieron concentraciones de progesterona en el día 6 después de la ovulación más altas que en las vacas que no concibieron ( $p < 0.01$ ); Thompson et al. (61) obtuvieron resultados similares en vaquillas en el día 7 postinseminación. Maurer y Echternkamp (39) encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) en la concentración de progesterona en el día 6 postservicio entre vacas normales y vacas repetidoras (2.7 ng/ml vs 1.8 ng/ml respectivamente). Por otro lado Gustafsson et al. (19) observaron que las concentraciones de progesterona fueron significativamente más altas en vaquillas de primer servicio que en vaquillas repetidoras entre los días 6 y 7 después del pico preovulatorio de LH.

Las investigaciones mencionadas contrastan con los resultados obtenidos por Ayalon (1) y Linares (36) quienes no encontraron en vaquillas repetidoras una relación significativa entre las concentraciones de progesterona y el desarrollo embrionario en el día 7 después de la inseminación. Hasler et al. (26) y Walton et al. (62),

utilizando transferencia de embriones, no encontraron asociación entre el índice de concepción y la concentración de progesterona plasmática de las vacas receptoras al momento de la transferencia (día 7 postinseminación). En apoyo a la falta de asociación entre las concentraciones de progesterona y la fertilidad, en los trabajos llevados a cabo por Hawk *et al.* (27) se observó que de 7 vaquillas de primer servicio ovariectomizadas en los días 5, 6 y 7 postservicio, a las cuales se les administró progesterona (25 mg im) diariamente, 5 tuvieron embriones normales cuando fueron sacrificadas entre los 27 y 89 días después de la inseminación. Sin embargo el mismo tratamiento a vaquillas repetidoras no incrementó el número de embriones normales (18 %), lo que indica que el problema en dichas vaquillas no se debía a deficiencias en la secreción de progesterona.

Thibier *et al.* (60) administraron GnRH (20 µg im) a vacas repetidoras en el día 12 del ciclo previo al servicio y observaron que el número de embriones morfológicamente normales aumentó a 57 % en comparación con el 19 % encontrado en las vacas repetidoras del grupo testigo. Estos autores argumentan que el tratamiento con GnRH 10 días antes de la siguiente ovulación conduce a un mejor reclutamiento folicular, mejor calidad de los gametos y mayor secreción de progesterona.

### 2.2.8.2 Ovulación retardada

Gustafsson *et al.* (19) estudiaron los cambios endócrinos y el comportamiento durante el estro y metaestro en vaquillas de primer servicio y vaquillas repetidoras. Estos investigadores encontraron que la duración del estro fue mayor ( $31.5 \pm 3.6$  h vs  $23.8 \pm 2.8$  h;  $p < 0.05$ ) y el intervalo del comienzo del estro a el pico preovulatorio de LH fue más largo ( $12.2 \pm 2.8$  h vs  $4.8 \pm 1.5$  h;  $p < 0.05$ ) en vaquillas repetidoras que en vaquillas de primer servicio respectivamente. Asimismo observaron que la magnitud del pico de LH fue menor en vaquillas repetidoras que en las no repetidoras ( $28.0 \pm 4.0$  vs  $40.7 \pm 3.6$  ng/ml;  $p < 0.05$ ).

Normalmente el pico preovulatorio de LH en plasma ocurre inmediatamente después del comienzo del estro, y la ovulación sucede regularmente en bovinos de razas europeas entre 26 y 32 h después del pico de LH, siendo este parámetro muy constante (8,50,55). Un intervalo largo entre el comienzo del estro y el pico preovulatorio de LH podría conducir a una inseminación temprana en relación al momento de ovulación en vaquillas repetidoras (19). Christenson *et al.* (8) observaron que el intervalo del estro al pico de LH es más largo en vaquillas que ovularon 36 h después de iniciado el calor, mientras que en las vaquillas que ovularon antes de 30 h dicho intervalo fue más corto.

Cuando la ovulación no ocurre en el tiempo establecido como fisiológico se habla de fallas ovulatorias que dan como consecuencia fallas en la concepción (46). La anovulación es

uno de los desordenes de la ovulación que da por resultado falla en la fertilización, no obstante, su incidencia y significancia etiológica en la vaca con problemas para concebir no esta establecida (68).

La ovulación retardada es otro transtorno de la ovulación y es considerada como un factor etiológico de la vaca repetidora. Sin embargo, en los informes de varios autores existe divergencia respecto a su frecuencia y su efecto en la fertilidad. Mientras que para algunos su presentación es relevante y si afecta la fertilidad (34,43,46), para otros simplemente no es importante (32,68). Los trabajos existentes indican que la frecuencia de esta anomalía fluctúa entre el 2 y el 19 % (32,43,46,68). Posiblemente la discrepancia en las observaciones obedece a diferencias ambientales, raza de los bovinos utilizados, variaciones en el manejo de los animales y formas distintas de estudiar el problema.

Para que se diagnostique clínicamente un caso de ovulación retardada es necesario que el mismo folículo preovulatorio que se identificó en el momento de la inseminación artificial ó en el pico del estro esté presente 24 a 36 h después (68). En el primer experimento de éste trabajo se evalua la incidencia de ovulación retardada en las vaquillas del Centro de Recría de Tizayuca, así como el efecto de ésta anomalía sobre la fertilidad.

Cuando se presenta un caso de ovulación retardada la concepción puede afectarse por tres razones. Por un lado,



como no ocurre la ovulación en el tiempo normal los espermatozoides envejecen, perdiendo su capacidad fertilizante (68). En segundo lugar el ovocito puede sufrir alteraciones que conduzcan a un falla en la fertilización o anomalías en el desarrollo embrionario temprano (68). Como tercera posibilidad, el fracaso en la concepción en este tipo de animales puede deberse a un desequilibrio hormonal, ya que Watson y Macdonald (63) encontraron que las vacas que tuvieron folículo preovulatorio al momento de la inseminación y no ovularon durante las 24 h siguientes presentaron concentraciones más bajas de progesterona plasmática durante los primeros 5 días después del servicio que aquellas vacas que si ovularon durante las 24 h siguientes a la inseminación. En el segundo experimento de éste trabajo se compara la función lútea durante los primeros 7 días postservicio en vaquillas con ovulación retardada y aquellas con ovulación normal.

Las causas de la ovulación retardada no son claras; como se mencionó anteriormente puede estar implicada una asincronía de las hormonas involucradas en la ovulación (19). Por otra parte se ha encontrado que el cortisol afecta la ovulación a través del efecto inhibitorio que ejerce sobre la LH (13, 42, 54).

En la práctica de campo es común el tratamiento utilizando GnRH ó hCG (gonadotropina coriónica humana) en las vacas repetidoras, así como en vacas no repetidoras sospechosas de ovulación retardada. Existen estudios en donde

la administración de estos productos hormonales como medida preventiva al momento de la inseminación ha mejorado el índice de concepción en vacas repetidoras y no repetidoras (34,41). Sin embargo otros investigadores, bajo las mismas condiciones, no han observado cambios en el índice de concepción (25). En el tercer experimento de éste trabajo se evalúa la administración de hCG como método para aumentar la fertilidad de las vaquillas repetidoras del Centro de Recría de Tizayuca.

Por otra parte, la reinseminación 12 horas después de la primera inseminación es también utilizada rutinariamente bajo condiciones de campo en vacas repetidoras (12), no obstante los resultados obtenidos son pobres. Existen también trabajos en los que se ha combinado el uso de hormonas con la reinseminación en vacas repetidoras y no repetidoras con buenos resultados (43). Este tratamiento es evaluado en el tercer experimento de éste trabajo.

### III MATERIAL Y METODOS

#### 3.1 INFORMACION GENERAL

El trabajo se realizó durante los meses de abril a agosto de 1987 en el Centro de Recría del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca (CAIT), localizado en el estado de Hidalgo, en el Km 55 de la carretera México-Pachuca. El clima de la región es templado subhúmedo con lluvias en verano, clasificado como Cwb(e). (16)

El centro de recría está integrado por las etapas de lactancia, desarrollo I, desarrollo II y gestación. En la etapa de lactancia se reciben las becerros a los 5 días de edad y permanecen hasta que son destetadas (45 días). De lactancia son enviadas a desarrollo I donde están hasta los 7 meses de edad y posteriormente son transferidas a desarrollo II. El propósito fundamental de esta última etapa es el de llevar a las vaquillas a un peso adecuado (330 kg) para ser inseminadas y dejarlas gestantes en el tiempo económicamente aceptable (13 a 15 meses). El diagnóstico de gestación se realiza 45 días después del servicio, y cuando las vaquillas son diagnosticadas como gestantes se trasladan a la etapa de gestación, en donde permanecen hasta los 7 meses de preñez, para posteriormente integrarse a los establos comerciales.

La investigación se llevó a cabo con las vaquillas de la etapa de desarrollo II, la cual cuenta con una población promedio de 1950 animales. En esta etapa la alimentación está constituida por ensilado de maíz, alfalfa henificada, avena verde, melaza, concentrado y sales minerales. La dieta se proporciona en los alojamientos una vez al día en forma integral y a libre acceso. Las vaquillas son lotificadas por edad y reciben el primer servicio en el primer calor que se presente después de alcanzar 330 Kg de peso. La detección de signos de estro se realiza durante las 24 h del día a intervalos de 1 h mediante observación directa por cuatro trabajadores capacitados para esta tarea. El momento en que la vaquilla se deja montar por primera vez es considerado como el inicio del estro. La inseminación artificial se practica 2 veces al día, a las 6 am y a las 6 pm, y es realizada por un solo técnico; las vaquillas que se observan en calor entre las 8 pm y 10 am son servidas en la tarde, y las que presentan calor entre las 11 am y las 7 pm se inseminan en la mañana siguiente.

El trabajo se dividió en un estudio retrospectivo para determinar la importancia del problema de la vaquilla repetidora en el centro de recría, y tres experimentos orientados a estudiar la ovulación retardada como causa de infertilidad.

### 3.2 ESTUDIO RETROSPECTIVO

Con el fin de tener un marco de referencia objetivo de la incidencia del síndrome de la vaquilla repetidora en el centro de recría se revisaron los registros de las inseminaciones realizadas entre los meses de mayo de 1986 a abril de 1987, anotándose el número de servicios que tenía cada vaquilla al realizarse la inseminación. Además se calculó el índice de concepción obtenido al inseminarse vaquillas de primero, segundo, tercero y cuatro o más servicios, analizándose las diferencias en fertilidad mediante la prueba de chi-cuadrada (53).

También se analizaron los informes de desechos durante el mismo periodo con el propósito de conocer las causas más importantes de eliminaciones en vaquillas entre los 7 meses de edad y el momento en que son diagnosticadas gestantes. Las causas de desecho fueron agrupadas como infertilidad y como causas no reproductivas, dividiéndose estas últimas de acuerdo al aparato afectado. En las vaquillas eliminadas por infertilidad se trató de diagnosticar la causa de la infertilidad mediante la palpación rectal de los órganos reproductivos y posteriormente a través de la observación de las alteraciones macroscópicas de los órganos genitales obtenidos después del sacrificio. Cabe señalar que este tipo de seguimiento a las vaquillas desechadas por motivo reproductivo se lleva en forma rutinaria en la etapa de desarrollo II del centro de recría.

### 3.3 EXPERIMENTO 1. ESTUDIO SOBRE LA INCIDENCIA DE OVULACION RETARDADA Y SU EFECTO SOBRE LA FERTILIDAD EN VAQUILLAS HOLSTEIN

Se formaron 2 grupos de animales. El primero fue constituido por 134 vaquillas de primer servicio, clínicamente sanas, con edad media de 14 meses y peso promedio de 347 Kg. El segundo grupo lo conformaron 108 vaquillas repetidoras seleccionadas bajo el siguiente criterio: vaquillas con más de 3 servicios infértiles previos, clínicamente sanas, sin anomalías del aparato reproductor diagnosticables mediante palpación rectal y con ciclos estrales regulares. La edad y peso promedio de este grupo fueron de 19 meses y 415 Kg respectivamente.

Con el objeto de comparar la incidencia de ovulaciones retardadas en las vaquillas repetidoras y en las vaquillas de primer servicio (grupo testigo), se practicó la palpación rectal al momento de la inseminación para identificar las estructuras ováricas, particularmente el folículo preovulatorio. Veinticuatro horas después se palpó nuevamente para determinar si ocurrió la ovulación mediante la localización de la depresión ovulatoria; las vaquillas que no ovularon durante este periodo continuaron palpándose a intervalos de 12 h hasta verificar la ovulación.

En cada grupo se determinó el porcentaje de vaquillas que ovularon durante las primeras 24 horas postinseminación, entre las 24 y 36 horas postinseminación, y aquellas que aún no habían ovulado 36 horas después de ser inseminadas.

comparandose los resultados mediante la prueba de chi-cuadrada (53). También se comparó el índice de concepción de las vaquillas repetidoras y las de primer servicio. El diagnóstico de gestación se realizó a los 45 días por palpación rectal. Posteriormente las vaquillas se reagruparon, independientemente a si eran repetidoras o no, de acuerdo a si habían o no ovulado durante las primeras 24 horas postinseminación, comparándose el índice de concepción de estos dos grupos mediante la prueba de chi-cuadrada (53).

#### **3.4 EXPERIMENTO 2. CONCENTRACION DE PROGESTERONA DURANTE LOS PRIMEROS 7 DIAS POSTSERVICIO EN VAQUILLAS CON OVULACION NORMAL Y OVULACION RETARDADA**

Con el objeto de comparar los perfiles hormonales de las vaquillas con ovulación normal y las vaquillas con ovulación retardada se seleccionaron 15 vaquillas que ovularon durante las 24 h siguientes al servicio y 15 vaquillas que presentaron ovulación retardada, es decir, aquellas vaquillas que a la palpación realizada 24 h después de la inseminación no presentaban una depresión de ovulación y tenían el mismo folículo preovulatorio diagnosticado al momento del servicio.

A los animales de estos grupos se les tomó diariamente una muestra de sangre para determinación de progesterona desde el día de la inseminación hasta el día 7 postservicio. Las muestras de sangre se tomaron de la vena coccigea utilizando tubos al vacío heparinizados. Inmediatamente

después de la obtención, las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3500 revoluciones por minuto durante 10 minutos para la separación del plasma, el cual fue conservado en congelación hasta su análisis.

Se cuantificaron las concentraciones de progesterona plasmática mediante la técnica de radioinmunoanálisis en fase líquida, de acuerdo al método validado por Jiménez et al. (31). El análisis de las muestras fue realizado en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Reproducción, FMVZ-UNAM.

Las concentraciones de progesterona se compararon mediante análisis de varianza de dos factores, usando el tipo de animal (ovulación normal o retardada) y el día (1 a 7) como variables independientes (53). Posteriormente se compararon las concentraciones de progesterona de las vaquillas reagrupadas de acuerdo a si quedaron o no gestantes en el servicio en el que se comenzaron a tomar las muestras de sangre. También se repitió el análisis estadístico reagrupandolas como vaquillas de primer servicio y vaquillas repetidoras.



### 3.5 EXPERIMENTO 3. EFICACIA DE LA REINSEMINACION Y LA ADMINISTRACION DE hCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACION COMO METODOS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD EN VAQUILLAS REPETIDORAS

Con el objeto de determinar si la administración de hCG ó la reinseminación mejoran la fertilidad de vaquillas repetidoras se formaron 3 grupos de vaquillas repetidoras como se menciona a continuación:

Grupo 1: 101 vaquillas repetidoras fueron reinseminadas 12 h en promedio después de la primera inseminación (2 inseminaciones con intervalo de 12 h).

Grupo 2: 126 vaquillas repetidoras a las cuales se les administraron 5000 UI de hCG por vía intramuscular al momento de la inseminación artificial.

Grupo 3: 105 vaquillas repetidoras utilizadas como testigos, es decir, con una sola inseminación y sin administración de hCG.

La detección de calores, la inseminación, y el diagnóstico de gestación se realizaron tal y como se mencionó en el experimento 1. Se calcularon los índices de concepción de los tres grupos y se compararon mediante la prueba de chi-cuadrada (53).

## IV RESULTADOS

### 4.1 ESTUDIO RETROSPECTIVO

De 6399 inseminaciones realizadas a través de un año, el 17.7 % (1138) se hicieron en vaquillas de cuatro o más servicios (vaquillas repetidoras) . Por otra parte, el índice de concepción en las vaquillas de primer servicio fue del 59.8 % disminuyendo en forma significativa ( $p < 0.05$ ) a 53.6 % y 39.2 % en las vaquillas de segundo y tercer servicio respectivamente, y alcanzando su valor más bajo ( 27.1 %) en el grupo de vaquillas repetidoras (cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de las inseminaciones realizadas durante el periodo de mayo de 1986 a abril de 1987 de acuerdo al número de servicios de las vaquillas.

Servicio	Número de inseminaciones	Porcentaje	Índice de* Concepción
Primero	3208	50.13 %	59.8 %
Segundo	1369	21.39 %	53.6 %
Tercero	684	10.68 %	39.2 %
Cuarto o más	1138	17.7 %	27.1 %
Total	6399	100 %	-----

\* Las diferencias en el índice de concepción entre grupos son significativas ( $p < 0.05$ )

En el cuadro 2 se muestran las causas de desecho de las vaquillas del centro de recría. Se desecharon 262 vaquillas por diversos motivos. El desecho por infertilidad ocupó el primer lugar y contribuyó con el 71.37 % del total. En el cuadro 3 se clasifican los casos de infertilidad de acuerdo a la causa diagnosticada por medio del examen del aparato reproductor a través de la palpación rectal y confirmadas mediante la observación de los órganos genitales después del sacrificio. Las anomalías anatómicas adquiridas, tales como adherencias, salpingitis, hidrosalpinx, piosalpinx, cervicitis y quistes representan el 65.77 % del total de las eliminaciones por desordenes reproductivos, el 20.32 % lo conforman vaquillas con alteraciones anatómicas congénitas (Freemartin e hipoplasia genital) y el 13.9 % restante de las vaquillas desechadas por causa reproductiva no presentan anomalías genitales aparentes.

**Cuadro 2. Causas de desecho en vaquillas de reemplazo durante el periodo de mayo de 1986 a abril de 1987.**

Causa	No. de vaquillas	Porcentaje (%)
Infertilidad	187	71.3
Patología digestiva	13	4.9
Patología Respiratoria	39	14.8
Patología del ap. locomotor	14	5.3
Otras*	9	3.4
Total	262	100.0

\* Cardiopatías y reacción positiva a la prueba de tuberculina.

**Cuadro 3. Alteraciones del aparato reproductor en las vaquillas desechadas por infertilidad.**

Tipo de alteración	Número	Porcentaje (%)
Anormalidades anatómicas adquiridas	123	65.7
Anormalidades anatómicas congénitas	38	20.3
Sin anomalías aparentes	26	13.9
Total	187	100.0

#### 4.2 EXPERIMENTO 1

Las observaciones realizadas mediante palpación rectal al momento de la inseminación artificial y a las 24 y 36 h después se muestran en el cuadro 4. El 100 % de las vaquillas repetidoras y de primer servicio presentaron un folículo preovulatorio al momento de la inseminación. La ovulación ocurrió normalmente durante las 24 h siguientes a la inseminación en el 90.7 % de las vaquillas repetidoras y en el 93.7 % de las de primer servicio. En las vaquillas restantes la ovulación se retrasó, ocurriendo en todas ellas dentro de las 12 h siguientes. La frecuencia de ovulación retardada no difirió ( $p > 0.05$ ) entre vaquillas repetidoras y de primer servicio. Aunque no hubo diferencias en la incidencia de ovulación retardada, la fertilidad de las vaquillas repetidoras fue menor ( $p < 0.05$ ) que la de vaquillas de primer servicio durante el periodo experimental.

Los índices de concepción que resultan al reagrupar a las vaquillas de acuerdo al tipo de ovulación, indican que el 42 % de las 19 vaquillas con ovulación retardada concibieron en el servicio experimental, no encontrándose diferencias ( $p > 0.05$ ) con el índice de concepción (44 %) de las vaquillas que ovularon normalmente (cuadro 5). Cabe señalar que las vaquillas con ovulación retardada que no quedaron gestantes ovularon normalmente en su siguiente ciclo.

Cuadro 4. Incidencia de ovulación retardada en vaquillas repetidoras y de primer servicio.

PARAMETRO	VAQUILLAS	
	Repetidoras n=108	Primer Servicio n=134
FOLICULO AL INSEMINAR	108 (100%)	134 (100%)
OVULACION:		
24 horas* post-IA	98 (90.7%)	125 (93.3%)
24 a 36 horas* post-IA	10 (9.3%)	9 (6.7%)
FALLA OVULATORIA*	0 (0%)	0 (0%)
CONCEPCION**	34 (31.5%)	74 (55.2%)

\* La diferencia entre grupos no es significativa ( $p > 0.05$ )

\*\* La diferencia entre grupos es significativa ( $p < 0.05$ )

Cuadro 5. Índice de concepción en vaquillas con ovulación normal y retardada.

Tipo de Ovulación	Número de Vaquillas	Gestantes	Vacias	Índice de Concepción
Normal	223	100	123	44.8 %
Retardada	19	8	11	42.1 %
Total	242	108	134	44.6 %

No hubo diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ )

### 4.3 EXPERIMENTO 2

Las concentraciones de progesterona plasmática fueron similares en las vaquillas con ovulación normal y en aquellas con ovulación retardada, no encontrándose diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los grupos en ninguno de los días estudiados (cuadro 6 y figura 1).

Cuadro 6. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas con ovulación retardada y ovulación normal a,b.

Vaquillas con			
Día	Ovulación retardada (n=15)	Ovulación normal (n=15)	Media
0	0.44 ±0.09	0.30 ±0.11	0.37
1	0.37 ±0.15	0.37 ±0.19	0.37
2	0.35 ±0.16	0.35 ±0.16	0.35
3	0.45 ±0.15	0.53 ±0.16	0.49
4	0.70 ±0.16	0.85 ±0.24	0.77
5	1.16 ±0.23	1.33 ±0.55	1.22
6	1.69 ±0.34	1.92 ±0.54	1.80
7	2.13 ±0.64	2.27 ±0.67	2.20

- a) Los datos son presentados como media ± desviación estandar  
 b) No hubo diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ )

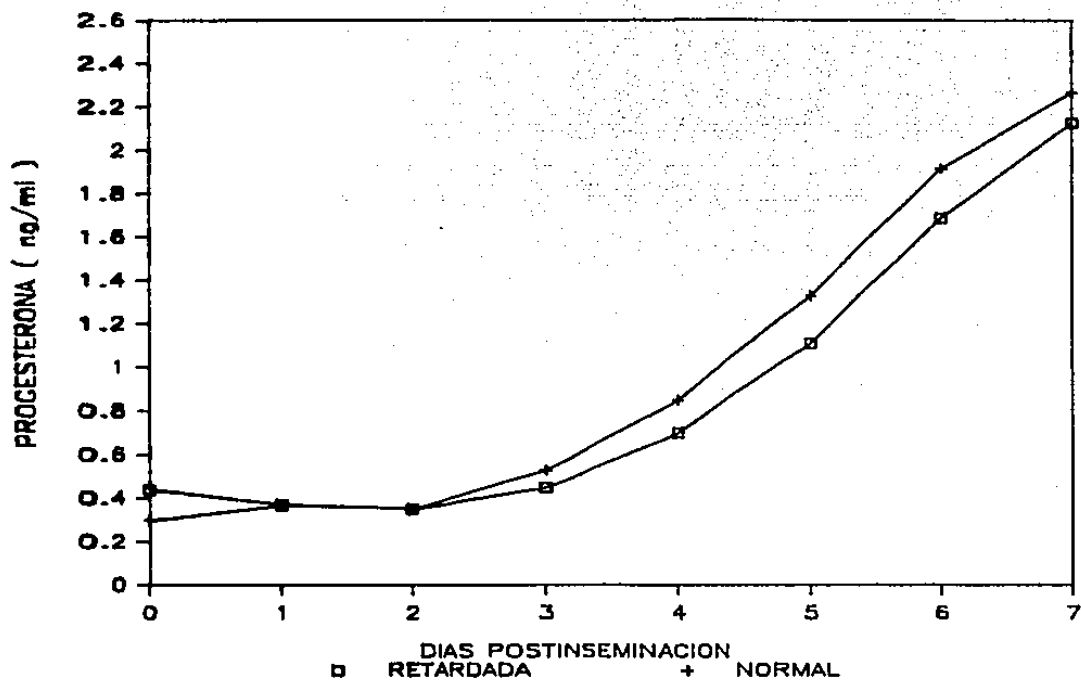


Figura 1. Concentración de progesterona en el día del servicio (día 0) y los primeros 7 días postservicio en 15 vaquillas con ovulación retardada y 15 con ovulación normal. Las diferencias no son significativas.



Al agrupar las vaquillas que fueron positivas al diagnóstico de gestación a los 45 días y compararlas con las que no concibieron, no se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) en la concentración de progesterona plasmática durante los días 0 a 7 postservicio (cuadro 7 y figura 2).

Cuadro 7. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas gestantes y no gestantes a,b.

Día	Vaquillas	
	Gestantes (n=13)	No gestantes (n=17)
0	0.38 ±0.10	0.36 ±0.14
1	0.36 ±0.16	0.38 ±0.19
2	0.36 ±0.15	0.34 ±0.17
3	0.50 ±0.17	0.49 ±0.15
4	0.83 ±0.23	0.74 ±0.20
5	1.33 ±0.43	1.19 ±0.43
6	1.85 ±0.48	1.75 ±0.45
7	2.00 ±0.48	2.35 ±0.70

a) Los datos son presentados como media ± desviación estandar.

b) No hubo diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ ).

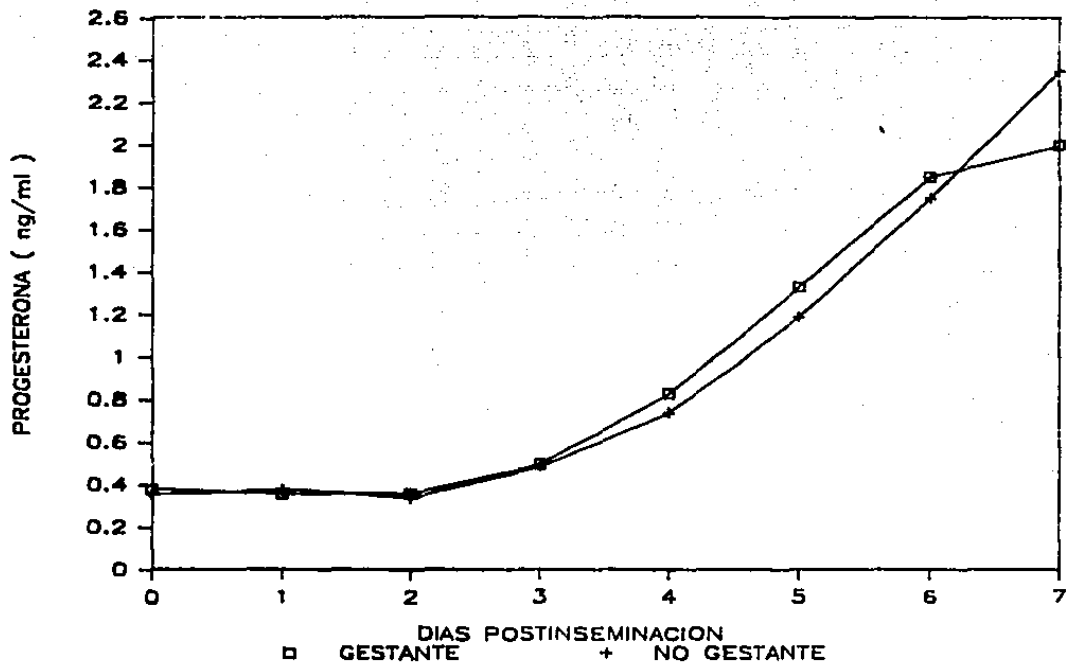


Figura 2. Concentración de progesterona en el día del servicio (día 0) y los primeros 7 días postservicio en 13 vaquillas gestantes y 17 no gestantes. Las diferencias no son significativas.

El perfil de progesterona plasmática fue similar entre vaquillas repetidoras y de primer servicio. No se observaron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) en los días 0 a 7 postinseminación (cuadro B y figura 3).

Cuadro B. Concentración de progesterona plasmática (ng/ml) durante los días 0 a 7 postinseminación en vaquillas repetidoras y de primer servicio a,b.

Vaquillas		
Día	Repetidoras (n=18)	Primer servicio (n=12)
0	0.39 ±0.12	0.35 ±0.13
1	0.29 ±0.17	0.48 ±0.10
2	0.27 ±0.14	0.46 ±0.10
3	0.42 ±0.14	0.60 ±0.11
4	0.71 ±0.16	0.87 ±0.25
5	1.28 ±0.42	1.20 ±0.46
6	1.87 ±0.41	1.71 ±0.53
7	2.20 ±0.55	2.21 ±0.76

- a) Los datos son presentados como media ± desviación estandar  
 b) No hubo diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ )

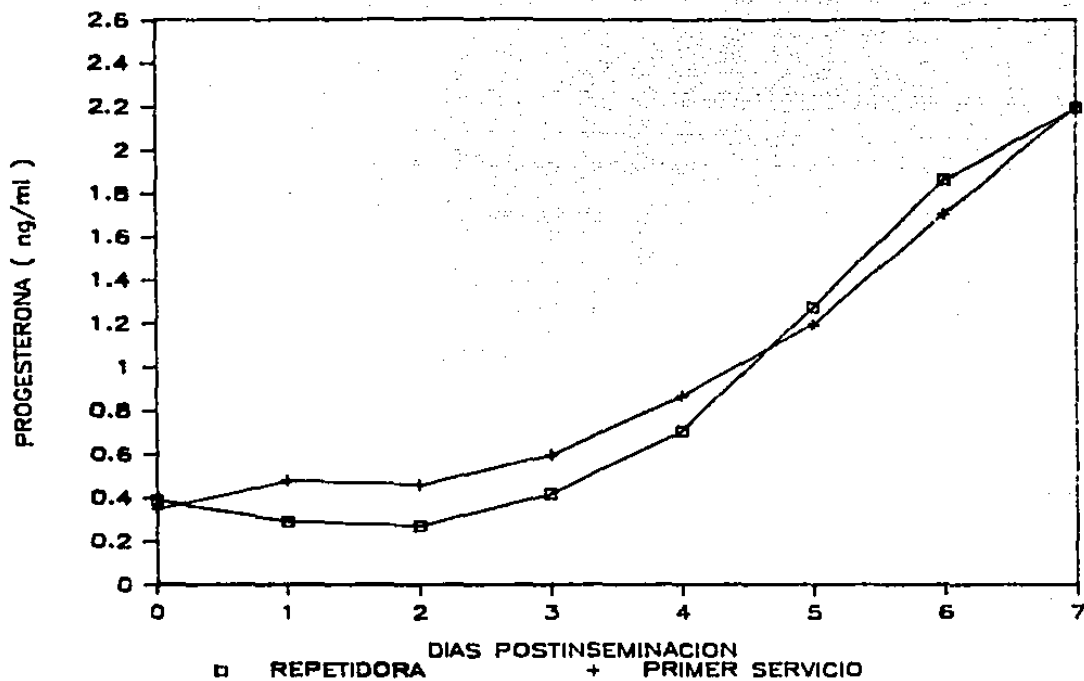


Figura 3. Concentración de progesterona en el día del servicio (día 0) y los primeros 7 días postservicio en 18 vaquillas repetidoras y 12 de primer servicio. Las diferencias no son significativas.

#### 4.4 EXPERIMENTO 3

Los tratamientos utilizados no afectaron el índice de concepción (cuadro 9), el cual no fue diferente ( $p > 0.05$ ) entre vaquillas repetidoras reinseminadas 12 horas después de la primera inseminación (34.6%), vaquillas repetidoras inyectadas con 5000 UI de hCG al momento de la inseminación (26.7%) y vaquillas repetidoras del grupo testigo (30.5%).

Cuadro 9. Índice de concepción en vaquillas repetidoras reinseminadas, inyectadas con 5000 UI de hCG, y testigos.

Tratamiento	No Vaquillas	Gestantes	Vacias	Índice de Concepción
Reinseminación	101	35	66	34.6 %
hCG	126	33	93	26.7 %
Testigos	105	32	73	30.5 %

No hubo diferencias significativas entre grupos ( $p > 0.05$ )

## V. DISCUSION

### 5.1 ESTUDIO RETROSPECTIVO

Los datos obtenidos en el presente estudio aportan un marco de referencia sobre la importancia del síndrome de la vaquilla repetidora en las condiciones de producción del Centro de Recría del Complejo Agropecuario de Tizayuca Hgo. Los resultados indican que el 17.7 % de las vaquillas inseminadas a través de un año pertenecen al grupo de vaquillas repetidoras, situación que coincide con lo citado por Ayalon (1) en vacas adultas (10 a 18 %). Es importante señalar que en la literatura revisada no se encontró información sobre la incidencia del síndrome de repetición de servicios en vaquillas de reemplazo y que la comparación de la incidencia entre vaquillas y vacas adultas es inadecuada debido a que las vacas adultas ya han sido expuestas al parto, a la producción de leche y en ocasiones a otros eventos detrimentales como distocias o abortos, situaciones que no han ocurrido en las vaquillas.

La fertilidad obtenida en vaquillas con diferente número de servicios previos coincide con lo observado por otros investigadores en condiciones diferentes (22,23); es notable la reducción del índice de concepción posterior al tercer servicio, en donde decrece hasta el 23 %, indicando que el porcentaje de animales con infertilidad verdadera va aumentando en el grupo de vaquillas que quedan vacías después de cada servicio.

En las vacas adultas el síndrome de repetición de servicios provoca un aumento en los días abiertos que puede resultar en una disminución en la producción láctea del hato (6,37). La importancia económica del síndrome de repetición de servicios en vaquillas es evidente si se considera la baja fertilidad que se obtiene en este tipo de animales lo que causa un mayor gasto por concepto de semen y un retraso en la ocurrencia del primer parto, lo cual aumenta los días de estancia en el centro de cría, provocando gastos mayores en alimentación y mano de obra, retrasándose además el comienzo de la producción de leche (66). Por otra parte, un porcentaje importante de las vaquillas repetidoras es eliminado por infertilidad, con lo que se provoca que un animal al que se le ha invertido más dinero y tiempo de lo normal sea enviado al rastro sin haber llegado a producir leche. Por ésta razón la infertilidad en vaquillas es más grave que en vacas, ya que éstas últimas normalmente se encuentran produciendo leche mientras se está tratando de dejarlas gestantes, de tal forma que si finalmente son enviadas al rastro por infertilidad, por lo menos estuvieron produciendo hasta el momento de ser sacrificadas.

Debido al bajo índice de concepción de las vaquillas con más de tres servicios, el costo de mantenerlas durante un ciclo estral más es muy elevado en relación a la probabilidad de que queden gestantes en el siguiente servicio, y la probabilidad de que finalmente tengan que ser eliminadas por infertilidad es muy elevada. Por tal motivo se sugiere

infertilidad es muy elevada. Por tal motivo se sugiere eliminar a las vaquillas a más tardar después del cuarto servicio infertil.

En el presente trabajo se observa que las fallas reproductivas representaron la causa principal de desecho en vaquillas entre los 7 meses de edad y los 45 días de gestación; el 71 % de las vaquillas enviadas al rastro fue por fallas de esta naturaleza. Los resultados obtenidos coinciden con las observaciones realizadas en ganado lechero adulto en el que, de igual forma, las fallas reproductivas representan la causa principal de eliminaciones (56).

Las anomalías anatómicas adquiridas tales como salpingitis, piosalpinx, hidrosalpinx, perisalpingitis, adherencias y quistes ováricos representaron el 65.7 % de las causas de desecho por infertilidad. Diversos autores han encontrado alteraciones del aparato reproductor en vacas y vaquillas repetidoras. De Kruij (32) observó que el 19 % de las vacas de 4 servicios presentaron anomalías genitales. Asimismo Maurer y Echterkamp (38), encontraron que el 15 % y 8 % de las vaquillas y vacas repetidoras respectivamente, tuvieron algún tipo de alteración anatómica del aparato reproductor. Evidentemente existe una notable diferencia en la frecuencia de estas alteraciones entre el presente trabajo y los citados anteriormente, la cual se debe fundamentalmente a las características de los animales bajo estudio. Las observaciones realizadas en el presente trabajo fueron hechas en vaquillas desechadas por infertilidad mientras que en las



investigaciones citadas se llevaron a cabo en vacas y vaquillas de 4 servicios seleccionadas al azar.

## 5.2 EXPERIMENTO 1

La ovulación retardada en vacas repetidoras ha sido informada por diversos autores (32,43,46,68), sin embargo su frecuencia y su efecto sobre la fertilidad no están establecidos. En el presente estudio se observó que la ovulación ocurrió durante las 24 h siguientes al servicio (o dentro de las 36 h después del inicio del estro) en el 90.7 % de las vaquillas repetidoras y en el 93.7 de las de primer servicio. En las vaquillas restantes la ovulación se llevó a cabo durante las 12 h siguientes.

El momento de ovulación en vaquillas ha sido objeto de diversas investigaciones (8,55), particularmente Rothschuh et al (50), en un estudio dirigido a caracterizar los eventos periovulatorios en vaquillas Holstein del centro de cría de Tizayuca utilizaron detección continua de estros las 24 horas del día y consideraron el comienzo del estro como el momento en que la vaquilla se deja montar por primera vez. Ellos encontraron que el intervalo entre el inicio del estro y la ovulación fue de  $29.9 \pm 0.1$  h. La pequeña desviación estandar observada por estos autores indica que el intervalo estro-ovulación es muy constante, lo que sugiere que si el intervalo entre la detección del estro y la inseminación es de 12 horas en promedio, la mayoría de los

animales ovularán alrededor de 17 horas después de la inseminación.

Bajo estas circunstancias es evidente que las vaquillas que en el presente trabajo aún no habían ovulado dentro de las 24 h siguientes al servicio tuvieron un retraso en la ovulación. Esto coincide con lo señalado por Zemjanis (68), quien considera que clínicamente se habla de ovulación retardada cuando la ovulación no sucede durante las 24 h siguientes al servicio o al pico del estro. Considerando este concepto se puede afirmar que en el presente estudio el 9.3 % y 6.7 % de las vaquillas repetidoras y de primer servicio respectivamente, presentaron esta anomalía. Los resultados obtenidos coinciden con las observaciones realizadas por varios autores (32,43,46,68), quienes encontraron incidencias de ovulación retardada que fluctúan entre el 2 y el 19 %.

En el presente estudio no se encontraron diferencias en la incidencia de ovulación retardada entre las vaquillas repetidoras y las de primer servicio. Los resultados en este caso indican que, aunque la ovulación tardía llega a ocurrir, no es una anomalía propia de las vaquillas repetidoras ya que ocurre con la misma frecuencia en vaquillas de primer servicio.

Estudios anteriores (63,68) señalan que cuando la ovulación se retrasa la concepción se afecta debido a que los espermatozoides envejecen, perdiendo su capacidad para fertilizar. Además, se ha sugerido que si la ovulación se retrasa, el ovocito puede sufrir alteraciones en su

maduración que conducen a una falla en la fertilización o muerte embrionaria temprana. Asimismo, la posible asincronía hormonal existente en las vaquillas con ovulación retardada puede afectar la concepción (19,39,63). Bajo estos conceptos, era de esperarse que las vaquillas que ovularon en forma tardía no concibieran. Sin embargo, en el presente estudio la fertilidad no se afectó en las vaquillas que presentaron ovulación retardada, ya que el índice de concepción no fue diferente entre vaquillas con ovulación retardada y aquellas con ovulación normal. Además 8 de 19 vaquillas con ovulación retardada quedaron gestantes en el primer servicio, y las restantes ovularon normalmente en su siguiente ciclo y eventualmente concibieron. Estos resultados no concuerdan con lo observado por Watson y Macdonald (63), quienes encontraron que ninguna de las 7 vacas que no ovularon durante las 24 h siguientes a la inseminación concibió.

Del presente estudio se concluye que la ovulación retardada tiene una frecuencia baja y que dicha frecuencia es similar en vaquillas repetidoras y de primer servicio. Además no se observó ningún efecto sobre la fertilidad en las vaquillas que presentaron esta anomalía. Estos elementos permiten sugerir que la ovulación retardada no es una causa importante del síndrome de repetición de servicios en vaquillas Holstein.

### 5.3 EXPERIMENTO 2

Los resultados del presente trabajo indican que no existen diferencias significativas entre las vaquillas con ovulación normal y aquellas con ovulación retardada respecto a la concentración de progesterona durante los días 0 a 7 postservicio. Estos resultados no concuerdan con lo encontrado por Watson y Macdonald (63), quienes observaron que las vacas que no ovularon durante las 24 h siguientes a la inseminación tuvieron concentraciones de progesterona más bajas de lo normal durante los 5 días siguientes a la inseminación. Es posible que en vacas en producción el estrés de la lactación conduzca a un retraso en la ovulación o a desbalances endócrinos que no ocurren en vaquillas.

Christenson et al (8) observaron que un intervalo largo entre el inicio del estro y el pico preovulatorio de LH estuvo asociado con un retraso de la ovulación en vaquillas. Asimismo, Gustafsson et al (19) mencionan que el intervalo entre el comienzo del estro y el pico de LH es más largo en vaquillas repetidoras que en vaquillas de primer servicio. Maurer y Echterkamp (39), en un estudio dirigido a conocer las asincronías hormonales y su asociación con el desarrollo embrionario, encontraron que las vacas y vaquillas que tuvieron embriones con anomalías presentaron un pico preovulatorio de LH de baja magnitud y un intervalo largo entre el comienzo del estro y el pico de LH, provocando una concentración subnormal de progesterona durante los 6 días

siguientes a la inseminación. Estos autores no determinaron si la asincronía hormonal afectó el momento de ovulación en las vaquillas estudiadas.

Los resultados de los trabajos anteriores indican la posibilidad de que las vaquillas que en el presente estudio presentaron un retraso de la ovulación tuvieron también una asincronía hormonal en torno al estro. Sin embargo esto no es factible, ya que en el presente trabajo se comprobó que las vaquillas con ovulación retardada tienen concentraciones de progesterona durante los primeros 7 días postservicio similares a las de las vaquillas con ovulación normal.

Es posible que, aunque la concentración de progesterona no difieran en vaquillas con ovulación retardada y normal, existan en las vaquillas repetidoras otro tipo de alteraciones que afecten la fertilidad mediante una reducción en la función del cuerpo lúteo. Por esta razón se compararon las concentraciones de progesterona de vaquillas repetidoras (independientemente de si habían tenido o no ovulación retardada) con los de vaquillas de primer servicio, no observándose diferencias en las concentraciones de progesterona plasmática durante los días 0 a 7 después de la inseminación entre estas dos clases de vaquillas. Estos resultados difieren de los expresados por Gustafsson et al (19) y Maurer y Echterkamp (38), quienes señalan diferencias significativas en las concentraciones de progesterona en los días 6 a 7 postservicio al comparar vacas y vaquillas repetidoras con no repetidoras. Asimismo, estos autores

encontraron diferencias en los cambios hormonales durante el estro y metaestro entre los dos grupos de hembras estudiados.

El establecimiento de la preñez depende de una secuencia precisa de eventos hormonales que provocan cambios en las secreciones uterinas, así como modificaciones en la estructura del endometrio. Estos cambios proporcionan un ambiente uterino apropiado para el desarrollo embrionario. La progesterona ha sido la hormona más discutida como causa de falla en la concepción; diversos estudios realizados en vacas y vaquillas (14,39,61) indican que durante la gestación temprana (día 7 postinseminación) las concentraciones de progesterona plasmática son más altas que en vacas o vaquillas no gestantes. Sin embargo, en el presente trabajo se encontró que no hubo diferencias en la concentración de progesterona durante los primeros 7 días postservicio entre vaquillas gestantes y no gestantes. Esto coincide con lo informado por Ayalon (1) y por Linares *et al* (36), quienes no encontraron diferencias en la concentración de progesterona en vacas que tuvieron embriones normales comparados con aquellas con embriones degenerados en el día 7 postinseminación, lo que indica que no existe relación significativa entre morfología embrionaria y concentración de progesterona plasmática.

La asociación entre la concentración de progesterona y la sobrevivencia embrionaria durante los primeros días después del servicio es escasa y la información disponible es contradictoria. Mientras unos autores (14,39,61) han

observado concentraciones más altas de progesterona en el día 7 postinseminación en las hembras gestantes o en aquellas con embriones normales que en las no gestantes o con embriones anormales en su desarrollo, otros (1,36) han encontrado que la concentración de progesterona es similar en los grupos mencionados. Por otra parte, en transferencia de embriones la administración de progesterona a las receptoras en el momento de la transferencia no ha mejorado el índice de concepción (26,62). Además, Hawk et al (27) encontraron que una dosis de progesterona capaz de mantener la gestación en vaquillas de primer servicio ovariectomizadas no fue capaz de hacerlo en vaquillas repetidoras ovariectomizadas, indicando que la infertilidad en estos animales tenía un origen diferente a la deficiencia de progesterona.

Ayalon (1), y Linares et al (36), señalan que las concentraciones de progesterona circulante deberán ser tomadas con precaución debido a que reflejan la actividad del cuerpo lúteo y no la actividad de la progesterona en los receptores uterinos.

En el presente trabajo no se encontró ninguna evidencia que indique que la deficiencia en la función del cuerpo lúteo durante los primeros 7 días postservicio sea una causa significativa de infertilidad en vaquillas Holstein. Se conoce que tanto en vacas y vaquillas repetidoras como en animales normales la mayor parte de las pérdidas embrionarias se producen durante los primeros 7 días postservicio (1,2,20,21,35,59), por esta razón el hecho de que la

producción de progesterona durante este periodo crítico sea normal en vaquillas repetidoras indica que la infertilidad de estos animales no está asociada con deficiencias en la función lútea.

Aunque no se cuantificó la progesterona plasmática después del día 8, una diferencia en ese periodo sería más probablemente el resultado de la mortalidad embrionaria que la causa de la misma, ya que como se indicó, el periodo crítico cuando ocurre la mortalidad embrionaria es el de los primeros 7 días postservicio.

#### 5.4 EXPERIMENTO 3

Numerosos han sido los tratamientos tendientes a resolver, en la práctica, el problema de subfertilidad en vacas y vaquillas repetidoras. De esta forma, se ha utilizado doble inseminación con intervalo de 12 h (43), monta directa (12), servicio con semen de toros cebuinos (5), administración intrauterina de antibióticos 24 h después de la inseminación (18), uso de productos hormonales tales como gonadotropina coriónica humana (hCG) y factores de liberación (GnRH) al momento de la inseminación (25,34,41,43). No obstante, los resultados obtenidos son variables y en terminos generales el índice de concepción continua sin mejorarse.

En el presente trabajo se observó que la doble inseminación, así como la administración de hCG al momento del servicio no mejoraron la fertilidad. El índice de



concepción no fue diferente entre vaquillas reinseminadas (34.6 %), vaquillas inyectadas con 5000 UI de hCG al momento de la inseminación (26.7 %) y grupo testigo (30.5 %). Estos resultados se pueden comparar con lo observado por Graden et al (17) quienes midieron el índice de fertilización en los óvulos recuperados después del sacrificio de las vacas estudiadas y encontraron que el índice de fertilización en vacas repetidoras reinseminadas (66.7%) no fue diferente al de vacas repetidoras con una sola inseminación (68.6%). Asimismo, Wilcox y Pfau (64) y Gwazdauskas et al (22) señalan que la doble inseminación no mejora el índice de concepción en vacas y vaquillas no repetidoras.

Por otro lado, Hansel et al (25) en un estudio bajo condiciones de campo con vacas repetidoras observaron que la administración de 1500 UI de hCG al momento de la inseminación artificial no incrementó el índice de concepción, situación que coincide con los resultados del presente estudio, en donde es evidente que la concepción no difirió entre vaquillas repetidoras inyectadas con hCG y vaquillas repetidoras sin tratar.

La falta de efecto benéfico de la reinseminación o la administración de hCG apoyan la hipótesis de que la ovulación retardada no es una de las causas importantes del síndrome de repetición de servicios en vaquillas Holstein.

## VI. CONCLUSIONES

1. El síndrome de la vaquilla repetidora contribuye en forma importante en la infertilidad de las vaquillas Holstein.
2. La baja fertilidad de las vaquillas que han tenido más de tres servicios infértiles sugiere la necesidad de una pronta eliminación para evitar un gasto extra con pocas probabilidades de resultar en gestación.
3. La ovulación retardada no desempeñó un papel relevante como factor causal en el síndrome de la vaquilla repetidora y su presentación no afectó la fertilidad.
4. La frecuencia de ovulación retardada fue baja en general y no fue diferente estadísticamente entre vaquillas repetidoras y de primer servicio.
5. Los perfiles de progesterona plasmática durante los días 0 a 7 postinseminación fueron similares en las vaquillas con ovulación retardada y en aquellas que ovularon normalmente. Asimismo, no se encontraron diferencias en la concentración de progesterona en los días 0 a 7 postservicio al comparar vaquillas gestantes con no gestantes o vaquillas repetidoras con animales de primer servicio. Esto indica que la infertilidad de las vaquillas repetidoras no está relacionada con deficiencias en la función del cuerpo lúteo.
6. La doble inseminación (reinseminación), así como la administración de 5000 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) al momento del servicio no mejoraron el índice de concepción en vaquillas repetidoras.

## VII BIBLIOGRAFIA

1. Ayalon, N.: The repeat breeder problem. Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I. Champaign, Urbana, USA, vol. 3: 41-50 (1984).
2. Ayalon, N.: Embryo mortality in cattle. Zuchthyg., 16: 97-109 (1981).
3. Baker, T.G.: Oovogenesis y ovulación. En: Austin y Short Celulas germinales y fertilización. vol. 1. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F., 1972.
4. Boyd, H., Bacsich, P., Young, A. and Mc Cracken, A.J.: Fertilization and embryonic survival in dairy cattle. Br. Vet. J. 125: 87-97 (1969).
5. Calderón, M. de C.J., Velazquez E. A., Garza R.J. y Valencia J.: Aspectos inmunológicos de la infertilidad en bovinos y su repercusión en la reproducción. Vet. Méx., 11: 63-70 (1980).
6. Call, E.P. and Stevenson, J.S.: Current challenges in reproductive management. J. Dairy Sci., 68: 2799-2805 (1985).
7. Casida, E.L.: Present status of the repeat-breeder cow problem. J. Dairy Sci., 44: 2323-2329 (1961).
8. Christenson, R.K., Echterkamp, S.E. and Laster, D.B.: Oestrus, LH, ovulation and fertility in beef heifers. J. Reprod. Fert., 43: 543-546 (1975).
9. Davidge, T.S., Wiebold, L.J., Senger, P.L. and Hillers, K.J.: Influence of varying levels of blood progesterone upon estrous behavior in cattle. J. Anim. Sci., 64: 126-132 (1987).
10. Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Vantol, M.T.H. and Willemsse, A.H.: Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrous period. Anim. Reprod. Sci., 10: 275-292 (1986).
11. Diskin, M.G. and Sreenan, J.M.: Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. J. Reprod. Fert., 59: 463-468 (1980).
12. Drost, M.: A practice approach to the infertile cow. The Bovine Practitioner, 12: 117-121 (1980).

13. Echterkamp, S.E.: Relationship between LH and cortisol in acutely stressed beef cows. Theriogenology, 22: 305-311 (1984).
14. Erb, R.E., Garverick, H.A., Randel, R.D., Brown, B.L. and Callahan, C.J.: Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile insemination of dairy cows. Theriogenology, 5 : 227-241 (1976).
15. Francos, G., Davidson, M. and Mayer, E.: The influence of some nutritional factors on the incidence of repeat breeder syndrome in high-producing dairy herds. Theriogenology, 7 : 105-111 (1977).
16. Garcia, de M.E.: Apuntes de climatología. 3a Ed. LINAM, México, D.F., 1980.
17. Graden, A.P., Durward O., Mochow, C.R. and Mutter, L.R.: Causes of fertilization failure in repeat breeding cattle. J. Dairy Sci., 51 : 778-780 (1985).
18. Gupta, E., Sinha, A.K., and Krishnaswamy, A.: Studies on the efficacy of some postservice intrauterine infusions on the conception rate of repeat breeding cattle. Theriogenology, 20: 559-564 (1983).
19. Gustafsson, H., Larsson, K., Kindahl, H. and Madej, A.: Sequential endocrine changes and behaviour during oestrus and metoestrus in repeat breeder and virgin heifers. Anim. Reprod. Sci., 10: 261-273 (1986).
20. Gustafsson, H.: Assessment of embryonic development in repeat breeder and virgin heifers by different methods. Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I. Champaign, Urbana, USA, vol. 3 : 41-50 (1984).
21. Gustafsson, H.: Characteristics of embryos from repeat breeder and virgin heifers. Theriogenology, 23 : 487-498 (1985).
22. Gwazdauskas, F.C., Whittier, W.D., Vinson, W.E. and Pearson, R.E.: Evaluation of reproductive efficiency of dairy cattle with emphasis on timing of breeding. J. Dairy Sci., 69 : 290-297 (1986).
23. Gwazdauskas, F.C., Lineweaver, J.A. and Vinson, W.E.: Rates of conception by artificial insemination of dairy cattle. J. Dairy Sci., 64 : 358-362 (1981).
24. Hansel, W. and Convey, M.E.: Physiology of the estrous cycle. J. Anim. Sci., 57, suppl. 2: 404-424 (1983).

25. Hansel, W., Spalding, R.W., Larson, L.L., Laster, D.B., Wagner, J.F. and Braun, R.K.: Influence of human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in lactating dairy and beef cows. J. Dairy Sci., 59: 751-759 (1976).
26. Hasler, F.J., Bowen, A.R., Nelson, D.L. and Seidel, E.G.: Serum progesterone concentration in cows receiving embryo transfers. J. Reprod. Fert., 58: 71-77 (1980).
27. Hawk, W.H., Brinsfield, H.T., Turner, D.G., Whitmore, E.G. and Norcross, A.M.: Embryo survival in first-service and repeat-breeder cattle after ovariectomy and hormone therapy. J. Dairy Sci., 46: 1397-1401 (1963).
28. Hunter, R.H.F.: Transport and storage of spermatozoa in the female tract. Proc. 9th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I. Madrid, Spain, vol. 2: 227-233 (1980).
29. Hunter, R.H.F.: Towards 100% fertilization in inseminated cows, with particular reference to the site of sperm storage. Anim. Breed. Abstr., 52: 1-5 (1984).
30. Hunter, R.H.F.: Fertility in cattle: Basic reasons why late insemination must be avoided. Anim. Breed. Abstr., 53: 83-87 (1985).
31. Jimenez, F., Galina, C.S., Ramirez, B. and Navarro-Fierro, R.: Comparative study of the concentrations of peripheral progesterone before and after PGF2 alfa injection between *Bos taurus* (Brown Swiss) and *Bos indicus* (indobrazil) in the tropics. Anim. Reprod. Sci., 9: 333-339 (1985).
32. Kruif, de, A.: Repeat breeders- a survey and study of cows upon fourth insemination. Bovine Practice., 11: 6-8 (1976).
33. Kruif, de, A. and Brand, A.: Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. N.Z. Vet. J., 26: 183-189 (1980).
34. Lee, C.N., Marucie, E., Pennington, J.A., Hoffman, W.F. and Brown, M.D.: Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. Am. J. Vet. Res., 44: 2160-2163 (1983).
35. Linares, T.: Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. Anim. Reprod. Sci., 4: 189-198 (1981-1982).
36. Linares, T., Larsson, K. and Edqvist, L.E.: Plasma progesterone levels from oestrus through day 7 after a.i. in heifers carrying embryos with normal or deviating morphology. Theriogenology, 17: 125-132 (1982).

37. Louca, A.: Production losses in dairy cattle due to days open. J. Dairy Sci., 51: 573-583 (1968).
38. Maurer, R.R. and Echternkamp, S.E.: Repeat-breeder females in beef cattle: influences and causes. J. Anim. Sci., 61 : 624-636 (1985).
39. Maurer, R.R. and Echternkamp, S.M.: Hormonal asynchrony and embryonic development. Theriogenology, 17 : 11-22 (1982).
40. Maurer, R.R. and Chenault, J.R.: Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. J. Anim. Sci., 56 : 1186-1189 (1983).
41. Maurice, E., Ax, R.L. and Brown, M.D.: Gonadotropin-releasing hormone leads to improved fertility in "repeat breeder" cow. J. Dairy Sci., 65 suppl. 1 : 179 (1982) abstr.
42. Moberg, G.P. and Stoebel, D.P.: The effect of cortisol on ovulation in the dairy cow. Proc. 9th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I. Madrid, Spain, vol. 3: 103 (1980).
43. Nakao, T., Shirakawa, J., Tsurubayashi, M., Ohboshi, K., Abe, T., Sawamukai, Y., Saga, N., Tsunoda, N. and Kawata, K.: A preliminary report on the treatment of ovulation failure in cows with gonadotropin-releasing hormone analog or human chorionic gonadotropin combined with insemination. Anim. Reprod. Sci., 7: 489-495 (1984).
44. O'Connor, L.M., Baldwin, S.R. and Adams, S.R.: An integrated approach to improving reproductive performance. J. Dairy Sci., 68 (10): 2806-2816 (1985).
45. Peters, A.R.: Reproductive activity of the cow in the post-partum period. I Factors affecting the length of the post-partum acyclic period. Br. Vet. J., 140 : 76-85 (1984).
46. Rensburg, Van, S.W.J. and Vos, de, W.H.: Ovulatory failure in bovines. Onderstepoort J. Vet. Res., 29 (1): 55-78 (1962).
47. Rivera, S.S.: Sistema de manejo intensivo de becerras de la raza Holstein. Memorias del Curso de Actualización en Crianza de Becerras. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM México, D.F., 1981.
48. Roche, J.F., Bolandl, M.P. and Mc. Geady, T.A.: Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. Vet. Rec., 109: 401-404 (1981).

49. Rothschuh, V.J., Zarco, O.L. y Sagardia, R.J.: Estudio sobre los factores que afectan los resultados de la inseminación en vaquillas holstein. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. México, D. F. 1987 : 357-358. UNAM-INIFAP México, D. F. (1987).
50. Rothschuh, V.J., Zarco, O.L. y Sagardia, R.J.: Caracterización de los eventos periovulatorios en vaquillas holstein del centro de recría de Tizayuca. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México 1987. México, D. F. : 359-361. UNAM-INIFAP México, D. F. (1987).
51. Russell, O.C., Leslie, E.M. and Thompson, F.N.: Effects of progesterone or estradiol on uterine tubal transport of ova in the cow. Theriogenology, 13 : 141-154 (1980).
52. Senger, P.L., Hillers, J.K., Mitchell, J.R., Fleming, W.N. and Darlington, R.L.: Research summary of factors affecting conception to first service in dairy cows. Part I. Bulls, inseminators and semen quality. Procc. of the Annual Meeting Society for Theriogenology. 126-134 (1981).
53. Steel, R.G.D. y Torrie, J.H.: Bioestadística. Principios y procedimientos. Mac Graw Hill, México, 1985.
54. Stoebel, D.P. and Moberg, G.P.: Effect of adrenocorticotropin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. J. Dairy Sci., 65: 1016-1024 (1982).
55. Swanson, L.V. and Hafs, H.D.: LH and prolactin in blood serum from estrus to ovulation in holstein heifers. J. Anim. Sci., 33: 1038-1041 (1971).
56. Talavera, J.C., de la Fuente, G. y Berruecos, L.M.: Pérdidas económicas por problemas reproductores. III. Edad y causas por las que son desechadas en México las vacas lecheras estabuladas. Tec. Pec. Méx., No. 24: 21-23 (1973).
57. Tanabe, T.Y. and Casida, L.E.: The nature of reproductive failure of cows of low fertility. J. Dairy Sci., 32: 237-246 (1949).
58. Tanabe, T.Y. and Almquist, J.D.: Some causes of infertility in dairy heifers. J. Dairy Sci. 36: 586 (1953) abstr.
59. Thatcher, W.W., Bartol, F.F., Knickerbocker, J., Curl, J.S. and Wolfenson, D.: Maternal recognition of pregnancy in cattle. J. Dairy Sci., 67 : 2797-2811 (1984).
60. Thibier, M., Gouffe, D., Jean, O., Valognes, J., Daunizeau, A. and Humblot.: Enhancing the rate of recovery and quality of the embryos in repeat breeding cows by using a GnRH analogue injection at mid-luteal phase to breeding. Theriogenology, 24 : 725-736 (1985).

61. Thompson, F.N., Cleikis, T., Kiser, T.E., Chen, H.J. and Smith, Ch.K.: Serum progesterone concentration in pregnant and nonpregnant heifers and after gonadotropin releasing hormone in luteal phase heifers. Theriogenology, 13 : 407-417 (1980).
62. Walton, S.J., Martineau, A.N. and Stubbings, B.R.: Pregnancy rates in holstein embryo transfer recipients: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. Theriogenology, 26 : 837-845 (1986).
63. Watson, E.D. and Macdonald, J.B.: Failure of conception in dairy cattle: Progesterone and oestradiol  $17\beta$  concentrations and the presence of ovarian follicles in relation to the timing of artificial insemination. Br. Vet. J., 140 : 398-406 (1984).
64. Wilcox, C.J. and Pfau, K.O.: Effect of two services during estrus on the conception rate of dairy cows. J. Dairy Sci., 41: 997-998 (1958).
65. Wilmut, I., Sales, D.I. and Ashworth, C.J.: The influence of variation in embryo stage and maternal hormone profiles on embryo survival in farm animals. Theriogenology, 239 :107-119 (1985).
66. Zalce, P.J.: Planteamiento general de un programa de reproducción para un centro de cría. Memorias del Curso de Actualización en Crianza de Becerras. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM, México, D.F.: 248-252 (1981).
67. Zemjanis, R.: Anestrus in cattle. Current Therapy in Theriogenology. Morrow, D.A. (Ed) Saunders Co. Filadelfia, 1980.
68. Zemjanis, R.: "Repeat-breeding" or conception failure in cattle. Current Therapy in Theriogenology. Morrow, D.A. (Ed) Saunders Co. Filadelfia, 1980.