

01669

6.
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"FACTORES QUE AFECTAN LA PRESENTACION DEL
ESTRO INDUCIDO CON UN ANALOGO DE LA
PROSTAGLANDINA F2 ALFA EN VACAS HOLSTEIN"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

(reproducción animal)
P R E S E N T A :

MVZ. MAXIMINO MENDEZ MENDOZA

ASESORES:

MVZ MPA. ANTONIO PORRAS ALMERAYA

MVZ. MPA. JOEL HERNANDEZ CERON

MVZ. JORGE AVILA GARCIA

MEXICO, D. F.

JUNIO DE 1995

FALLA 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.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a la memoria de mi padre **EVODIO MENDEZ MARTINEZ**, de quien aprendí la tenacidad y constancia, y por quien trato de superarme siempre.

A Eva, Nestor, Nelly y Netzi
por su confianza y respeto, y
por la fuerza que me han dado
para seguir adelante.

A mi madre **Silvina Mendoza**, por su eterna bondad, a mis hermanos: **Hortensia, Levi, Mónica, Ma. Elena, Evodio, Francisco (D.E.P.), Jorge, Juventino, Mago** y a mis sobrinos.
Por su apoyo moral.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por todo el apoyo que siempre me han dado.

A Maru. Por sus acertados comentarios y su gran amistad.

A mis asesores Dr. Antonio Porras Almeraya, Dr. Joel Hernández Cerón y Dr. Jorge Avila García. Por su valiosa ayuda, por su amistad y confianza.

A los integrantes del jurado Dr. Luis Zarco, Dr. Javier Valencia, Dr. Arturo Olgufn, Dr. Salvador Romo y Dr. Antonio Porras, por sus oportunos comentarios, que enriquecieron este trabajo.

A Fernado Borderas, por su amistad y su valiosa ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

A todos los integrantes del Departamento de Reproducción: Mariana, Adriana, Vero Campos, Vero Caballero, Chepo, Ramón, Paco, Octavio, Carlos Esquivel, Beto, Cyntia, Carolina, Juan, Julio, Perla, Refugio, Miguel, Israel, Araminta, Vero Garza, Luis Galicia y Humberto. Por su ayuda desinteresada.

A los Dres. Carlos Galina, Rosa Páramo, Ivette Rubio. Por sus enseñanzas.

A MVZ Susana Rojas y MVZ Clara Murcia, por el procesamiento de las muestras en el laboratorio.

A la Organización Internacional de Energía Atómica por la donación del material y reactivos para el análisis de progesterona.

Al CONACYT: por facilitarme la beca-crédito para la realización de mis estudios de Maestría.

A Fundación UNAM por su apoyo económico.

A la FMVZ y la División de Estudios de Posgrado e Investigación por su colaboración y apoyo académico.

Al Dr. Rodolfo Rodríguez Maltos del Laboratorio Sanofi.

A Manuel Antonio Arena Enterría, Dueño del rancho "Santa Mónica" por facilitar los animales para el trabajo de investigación.

A Raúl Chávez García administrador del Rancho "Santa Mónica", por su colaboración y gran ayuda.

A la Universidad Autónoma de Puebla, por todas las facilidades que me brindó y la ayuda económica que me otorgó.

A la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.A.P., por la oportunidad que me dio de superarme.

A la familia Gil Merino, por su apoyo incondicional.

LISTA DE CONTENIDO

	página.
Resumen.....	1
Capítulo	
I. Introducción General.....	3
II. Revisión de Literatura.....	7
2.1. Ciclo estral.....	7
2.2. Desarrollo Folicular.....	11
2.3. Control Artificial del Ciclo Estral.....	13
2.4. Efecto del Estrés sobre la Reproducción.....	16
III. Inducción del estro en vacas Holstein con un análogo de la prostaglandina F2 α ; Influencia de la precisión en la palpación rectal del cuerpo lúteo, falla en la luteólisis y tamaño folicular.....	19
Introducción.....	19
Material y Métodos.....	20
Resultados.....	22
Discusión.....	25
IV. Influencia de los niveles plasmáticos de cortisol sobre la presentación del estro inducido con prostaglandina F2 α , en vacas Holstein.....	28
Introducción.....	28
Material y Métodos.....	29
Resultados.....	31
Discusión.....	33
V. Conclusiones Generales.....	35
VI. Literatura citada.....	36

LISTA DE CUADROS

	página
Cuadro 1. Distribución de estros en vacas Holstein en lactación tratadas con Prostaglandina F2 α	23
Cuadro 2. Comportamiento de las vacas tratadas con PGF2 α que no fueron observadas en estro.....	23
Cuadro 3. Porcentaje de vacas detectadas en estro y tiempo promedio de respuesta después de la aplicación de Prostaglandina F2 α de acuerdo al tamaño folicular.....	24
Cuadro 4. Niveles plasmáticos de cortisol (nmol/l), en vacas Holstein lactando o no, alrededor del estro inducido con PGF2 α	32
Cuadro 5. Concentraciones plasmáticas de Cortisol (nmol/l) y respuesta a la inducción de estro con Prostaglandina F2 α	32

MENDEZ MENDOZA MAXIMINO. Factores que afectan la presentación del estro inducido con un análogo de la prostaglandina F2 alfa en vacas Holstein. Bajo la supervisión de MVZ. Antonio Porras Almeraya, MVZ. Joel Hernández Cerón y MVZ. Jorge Avila García.

RESUMEN

Para llevar a cabo el presente estudio se realizaron dos experimentos. El primero tuvo como objetivo determinar de que manera la precisión en la palpación de un cuerpo lúteo, la sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto de la Prostaglandina F2 α (PGF2 α), y el estado de la población folicular al momento del tratamiento, influyen sobre la proporción de animales que manifiestan estro después de la aplicación de PGF2 α . Para tal fin, se seleccionaron 118 vacas Holstein en producción, que a la palpación rectal tuvieran un cuerpo lúteo; en ese momento se realizó un estudio ultrasonográfico para registrar la presencia y tamaño de los folículos, posteriormente se aplicaron 5 mg de un análogo de Prostaglandina F2 α por vía intramuscular (Prosolvin, Intervet, México). Se obtuvieron muestras de sangre antes de la administración de la PGF2 α y durante los 3 días siguientes al tratamiento, para la determinación de progesterona por radioinmunoanálisis. Los animales se reintegraron a sus corrales después del tratamiento. La detección de estros se realizó diariamente durante 144 horas, en dos períodos de 3 horas (7 a 10 am y 4 a 7 pm) por medio de observación visual de la conducta homosexual. Se consideró el inicio del estro cuando la vaca aceptó la monta por primera vez. Se evaluó la proporción de animales que tuvieron un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento (progesterona > 1 ng/ml), el porcentaje de ellos que sufrieron regresión del cuerpo lúteo (progesterona > 1 ng/ml en la primera muestra y niveles basales en las siguientes 72 h), y la influencia del tamaño del mayor folículo presente al momento del tratamiento sobre la presentación del estro (folículos \leq 10 mm y folículos > de 10 mm). El 82.2% (97/118) de las vacas tuvieron un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento con PGF2 α ; asimismo el 83.5% (81/97) de los animales con CL sufrieron regresión de éste y el 85.2% (69/81), de las vacas se observaron en calor. De los animales con CL, el 16.5% (16/97) no sufrieron regresión. Veintiun hembras no tuvieron cuerpo lúteo funcional, de ellas 42.8% (9/21) presentaron estro en el período de observación, siendo éste de 6 días. En el presente estudio el 66.1% de las vacas (78/118) tratadas mostraron calor durante las siguientes 144 h. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el porcentaje de vacas que presentaron estro y en el intervalo del tratamiento al inicio del estro entre vacas que tuvieron folículos mayores, menores o iguales de 10 mm. En este estudio, se encontró que la falta de presentación del estro en vacas Holstein tratadas con PGF2 α se explica en un 30% por la ausencia de un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento, en un 40% por la falla en la luteólisis y el 30% restante no manifestaron conducta estral durante el período de observación a pesar de tener un cuerpo lúteo al ser tratadas y que éste sufrió regresión.

El segundo experimento tuvo como propósitos: 1) conocer los niveles plasmáticos de cortisol en vacas en producción y en animales no lactantes, 2) conocer la influencia de las concentraciones de cortisol durante el proestro sobre la presentación del estro inducido con PGF2 α en vacas Holstein. Para tal fin se realizó un primer ensayo donde se compararon las concentraciones plasmáticas de cortisol en 12 vacas en lactación y 12 vacas no lactando, las cuales presentaron un cuerpo lúteo diagnosticado mediante palpación rectal. Los animales fueron tratados con 5 mg de un análogo de PGF2 α (Prosolvin, Intervet, México) y se tomaron muestras de sangre al momento del tratamiento (0 h), y durante las 24 y 48 horas siguientes. En un segundo ensayo, se compararon las concentraciones plasmáticas de cortisol de vacas que presentaron o no celo durante el período de observación. Para este fin se seleccionaron 118 vacas que a la palpación rectal tuvieran un cuerpo lúteo. Los animales elegidos recibieron 5

mg de un análogo de PGF 2α (Prosolvín, Intervet, México), en forma parenteral. Se obtuvieron muestras de sangre al momento del tratamiento y durante los siguientes tres días. En ambos ensayos se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona y cortisol por radioinmunoanálisis en fase sólida. Por medio de observación visual se detectaron estros durante 6 días, en dos períodos de 3 h (7 a 10 am y 4 a 7 pm). De esta forma fueron seleccionadas las vacas que tuvieron cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento con PGF 2α y que sufrieron luteólisis, en ellas se compararon los niveles plasmáticos de cortisol en las vacas que presentaron o no estro en las siguientes 144 h. En el primer ensayo, las vacas en lactación tuvieron concentraciones plasmáticas de cortisol más elevadas (60 ± 7 , 18 ± 4 y 14 ± 3 nmol/l, a las 0, 24, 48 horas postratamiento) que las vacas no lactantes (18 ± 9 , 12 ± 5 y 9 ± 5 nmol/l, a las 0, 24, 48 horas). Las diferencias entre grupos solo fueron significativas a las 0 horas ($P < 0.05$). En el segundo ensayo los resultados de las concentraciones plasmáticas de cortisol no fueron diferentes estadísticamente ($P > 0.05$) entre las 69 vacas que presentaron estro (70 ± 5 , 20 ± 2 , 19 ± 2 y 5 ± 14 nmol/l en los días 1, 2, 3 y 4 postratamiento) y las 12 vacas que no fueron observadas en calor (56 ± 12.2 , 19 ± 5.6 , 13 ± 4.4 , 7 ± 4 en los días 1, 2, 3 y 4). Se concluye que las concentraciones de cortisol no afectaron la presentación del estro inducido con PGF 2α en vacas Holstein.

CAPITULO I

INTRODUCCION GENERAL

En los últimos años se han empleado diversos métodos para mejorar la eficiencia reproductiva en el ganado bovino, siendo el más común la inducción y sincronización de estros. Una de las hormonas más utilizadas para éste fin ha sido la Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α), que se ha empleado desde hace un poco más de dos décadas en la inducción de celos. No obstante, aún se está buscando optimizar su uso para lograr mayores porcentajes de vacas que manifiesten celo, y a su vez aumentar el número de vacas inseminadas y gestantes.

Se conoce que en un ciclo estral normal la regresión del cuerpo lúteo (CL) depende de la secreción pulsátil de PGF2 α endógena alrededor del día 16 - 18 del ciclo (86,101). Por éste motivo, cuando se administra la PGF2 α (natural o sintética) a un grupo de animales entre el día 6 - 16 del ciclo estral, se produce la regresión del cuerpo lúteo, por lo que resulta en un alto grado de estros sincronizados (6,63,80,92). Cuando se administra la PGF2 α , el celo ocurre dentro de las siguientes 144 horas, y la fertilidad obtenida cuando se insemina después del estro observado es similar a la lograda en el estro natural (23,33,48). Sin embargo, existe variación en el intervalo desde la aplicación de la PGF2 α hasta la presentación del estro, lo cual depende en parte de la etapa del diestro en que se encuentra el animal al momento del tratamiento (39,63,80,92). King, y cols., (39), observaron que las novillas inyectadas en la etapa temprana del ciclo tuvieron un intervalo más corto (47.6 ± 1.4 horas) que aquellas inyectadas en la etapa tardía del diestro (59.7 ± 1.4 horas).

La diferencia en el intervalo del tratamiento a la presentación del estro se encuentra directamente relacionada con el grado de desarrollo folicular que existe en las diferentes etapas del diestro (63,72,100). De esta manera, se ha observado que el tamaño del folículo presente en los ovarios en el momento del tratamiento con PGF2 α es un factor importante que afecta éste intervalo (72,98,100). Así, cuando el tratamiento se realiza en vacas con folículos con más de 15 mm de diámetro el estro tarda menos en presentarse que en aquellas vacas que al

momento del tratamiento tienen en los ovarios folículos medianos (10 mm) o pequeños (5 mm o menores) (98,100). Si se aplica PGF2 α a vacas en las que la única referencia es la presencia del CL, existe la posibilidad de que tengan diferente población folicular en ese momento, lo que ocasiona que el intervalo entre la aplicación de la hormona y la presentación del estro sea variable (49,56,72).

Se ha observado variabilidad en la respuesta asociada a la edad. En vaquillas Holstein que recibieron PGF2 α , el 95% mostraron calor dentro de las siguientes 144 horas (33). En contraste, solo mostraron signos de estro, en los 6 días postratamiento entre el 40 y el 60%, de las vacas adultas inyectadas con PGF2 α cuando presentaban un CL (56,61,77,102).

Otro factor que puede afectar los resultados al utilizar PGF2 α es el tratar vacas que aparentemente tienen un cuerpo lúteo a la palpación rectal, pero que en realidad carecen de éste. Se debe tener en cuenta que la precisión en el diagnóstico de CL por palpación rectal se encuentra entre un 60 y un 90% (41,56,61,77,91). Lo anterior indica que entre el 10 al 40% de las vacas seleccionadas mediante palpación rectal para ser tratadas con PGF2 α , en realidad no tienen un CL funcional y por lo tanto no responden al tratamiento.

En este rubro también hay que tener presente que algunas vacas pueden no sufrir luteólisis, aún teniendo cuerpos lúteos funcionales, como lo señalan algunos estudios donde la efectividad del tratamiento con PGF2 α para inducir lisis del CL fue del 91% (61). La principal causa de esta falla es el tratamiento de vacas que se encuentran en el día 4 o 5 del ciclo estral, las cuales tienen un cuerpo lúteo que ya produce progesterona pero que aún no es sensible a la PGF2 α (56,92). Esto ha motivado la utilización de tratamientos consistentes en dos aplicaciones de PGF2 α , con un intervalo de entre 8 y 24 h, o las combinaciones de PGF2 α con oxitocina, con el fin de asegurar la luteólisis. Sin embargo, estos tratamientos no han modificado la proporción de animales observados en estro (3,4).

La alimentación y la producción de leche, también pueden afectar la respuesta a la PGF2 α , ya que las vacas altas productoras y que se encuentran en balance energético negativo tienen más folículos pequeños y pocos folículos grandes (45,88). Comparativamente, las vacas

en balance positivo de energía tienen folículos más grandes. Estas diferencias pueden provocar que en las vacas altas productoras que se encuentran en balance energético negativo, se obtenga una baja respuesta y sea común un intervalo a la presentación del estro de más de 144 h a partir del tratamiento (45,88).

Además de los factores ya mencionados, existen otros que influyen directamente sobre el desempeño reproductivo del ganado y particularmente sobre la proporción de vacas observadas en estro después de la administración de $\text{PGF2}\alpha$, tales como la eficiencia en la detección de estros (8,102). Diversos estudios han encontrado una eficiencia en la detección de estros en hatos comerciales de aproximadamente 50 - 60% (56,96,102); lo cual quiere decir que se pierden entre 40 y 50% de los calores en cada ciclo. Dentro de los factores que determinan esta baja eficiencia destacan: El tiempo dedicado a la observación de calores (56,66,102), el tipo de instalaciones (66,96), la jerarquía de las vacas (69) y las condiciones climáticas (10,50,94).

Las condiciones de estrés, tanto físicas como emocionales (estrés ambiental, de manejo); en que viven las vacas lecheras en lactación es otro factor que posiblemente influya sobre la respuesta al estro. Se ha observado que la eficiencia reproductiva es alterada en el ganado sujeto a estrés (50,52,94). Los estresores que más afectan son: temperatura, humedad, vientos, interacción entre especies, densidad del hato, jerarquía, manejo y transporte (36,50,52,83). Cuando los animales se estresan liberan cantidades elevadas de cortisol, el cual inhibe la secreción de la Hormona Luteinizante (LH) (37,44,82), el crecimiento folicular (36,50,52,82), la secreción de estradiol (36,37,94) y la expresión del estro (82). Algunos autores (19,36,37,44), han demostrado que el cortisol en altas concentraciones inhibe la secreción de $17\text{-}\beta$ estradiol y reduce el número de receptores a LH en cultivos de células de la granulosa (37). En un estudio donde se buscó la relación del cortisol con la manifestación del estro inducido con $\text{PGF2}\alpha$ en novillas, se encontró que las novillas con niveles elevados de cortisol muestran menor intensidad del estro, mientras que en las novillas que presentaron niveles bajos de cortisol el estro se manifestó con mayor intensidad, lo cual fue medido con base en el número de montas recibidas (69). También hay evidencia de que el estrés

ocasionado por altas temperaturas disminuye la intensidad del estro (10,19,50,69). En vacas altas productoras se observaron concentraciones elevadas de cortisol propias de la lactación (36,89,94), así como por las condiciones de manejo (36,50). Sin embargo, no existe información acerca de la influencia de la concentración plasmática del cortisol sobre la manifestación del estro y en forma particular sobre el estro inducido con PGF2 α .

Objetivos

1. Determinar de que manera la precisión en la palpación de un cuerpo lúteo, la sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto de la PGF2 α y el estado de la población folicular al momento del tratamiento, influyen sobre la proporción de animales que manifiestan estro después de la aplicación de PGF2 α a vacas Holstein en producción.
2. Determinar los niveles plasmáticos de cortisol en vacas en producción comparadas contra vacas no lactando y relacionar las concentraciones de cortisol con la manifestación del estro en vacas Holstein en lactación tratadas con PGF2 α .

CAPITULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1 CICLO ESTRAL

Todas las hembras domésticas muestran períodos regulares de receptividad sexual o estro. La vaca es una especie poliéstrica continúa, que una vez alcanzada la pubertad presenta ciclos estrales durante todo el año y solo son interrumpidos en condiciones fisiológicas cuando ocurre la gestación (16) o si se presentan algunas condiciones patológicas.

La duración promedio del ciclo estral bovino es de 18-22 días (15). Existe variación entre individuos y dentro de los mismos individuos (15); ésta variación obedece básicamente a la longitud de la fase lútea y particularmente al momento en que ocurre la luteólisis ocasionada por la liberación uterina de $PGF2\alpha$ (27,46). El ciclo estral se divide en 4 etapas las cuales se describen a continuación:

Proestro. Fase que precede al estro y se caracteriza por el crecimiento del folículo ovulatorio. Durante ésta etapa el folículo preovulatorio alcanza su madurez bajo la influencia de la Hormona Luteinizante (LH) y la Hormona Folículo Estimulante (FSH) (14,23,63). El folículo secreta grandes cantidades de estrógenos los cuales alcanzan su pico máximo cuando se inicia la receptividad sexual. La secreción pulsátil de LH aumenta después de la caída de los niveles de progesterona y se caracteriza por aumento de la frecuencia y disminución en la amplitud de los pulsos; la FSH es liberada en forma paralela a la LH (31,84). Cada pulso de LH es seguido por un incremento en la concentración de estradiol y éste a su vez estimula una secreción mayor de LH, estableciéndose un mecanismo de retroalimentación positiva que desencadena la liberación preovulatoria de LH (31,84).

Estro. Período en que la hembra acepta el macho, con una duración promedio de 18 horas. Existe variación en la duración del estro entre razas individuos, y aún entre un ciclo y otro del mismo individuo, llegando a tener un rango de 12 - 24 horas (16,43).

Esta etapa se caracteriza por un estímulo al sistema nervioso central causado por la secreción máxima de estrógenos que provocan los signos de celo y la receptividad sexual. El pico preovulatorio de LH ocurre en promedio dos horas después de haber iniciado el estro, y dura en promedio 14 horas (70).

Existen variaciones individuales en la intensidad de los signos del celo. Estos suelen ser más intensos en las novillas que en las vacas (30,66,102). Cuando la vaca está en celo busca a otras, a las que lame y huele la zona perineal. Durante el estro la vaca tenderá a montar a otras vacas, sin embargo el signo positivo del estro es cuando la vaca se deja montar. Existe una descarga genital de moco transparente y claro cuya elasticidad permite que se adhiera a la cola y flancos. La vulva se encuentra ligeramente edematosa, congestionada y hay una pequeña elevación de la temperatura corporal. La cola puede estar ligeramente levantada. El pelo de la base de la cola suele encontrarse erizado y su piel a menudo con escoriaciones producidas por la monta de otras vacas (66).

Mejastro. Se inicia cuando la hembra deja de ser receptiva hacia el macho o cuando no acepta la monta de otra compañera y tiene una duración promedio de 4 - 5 días (15). En esta etapa tiene lugar la ovulación, que es espontánea y se lleva a cabo 12 horas después de finalizado el estro, es decir, 30 horas en promedio después de iniciado éste (70). Algunas hembras muestran una descarga sanguinolenta en esta etapa.

En esta fase hay una caída rápida de los niveles de estrógenos y LH, y se inicia la formación del cuerpo lúteo (CL) aumentando paulatinamente las concentraciones de progesterona (23,31). Durante esta etapa se presenta un aumento secundario en los niveles de FSH. Este incremento tiene influencia sobre el reclutamiento de folículos primordiales para el siguiente ciclo (87,88).

El CL se forma a partir del folículo ovulado, por lo tanto, la preparación de células lúteas para la subsecuente síntesis y secreción de progesterona empieza durante la fase folicular previa a la ovulación (27). Una vez ocurrida ésta, el espacio ocupado por el folículo es poblado por células de la granulosa y de la teca interna (93).

El cuerpo lúteo está formado por dos tipos de células: Las células grandes y las células chicas. Las células grandes se originan a partir de las células de la granulosa y las células chicas a partir de la teca interna. Las primeras desarrollan una gran capacidad para la síntesis de progesterona en forma autónoma, independientemente de la LH, además producen oxitocina y tienen receptores para la Prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}). En contraste, las células chicas poseen receptores para LH, a la cual responden aumentando la producción de progesterona, no secretan oxitocina y no tienen receptores para PGF_{2α} (93).

Esta etapa termina cuando el cuerpo lúteo alcanza su plena funcionalidad, es decir cuando las concentraciones de progesterona plasmática son mayores a 1 ng/ml (6,23).

Diestro. Este período se caracteriza por la presencia de un cuerpo lúteo funcional; ésta etapa se conoce también como la fase lútea del ciclo estral y tiene una duración de 12 días en promedio (15). El cuerpo lúteo alcanza su máximo tamaño entre el séptimo y el octavo día del diestro. En esta fase se incrementan las concentraciones de progesterona, llegando a su máximo nivel el día 12 del ciclo, y se mantienen elevadas hasta el día 17 o 18 (12).

Las concentraciones de FSH fluctúan durante este período y los estrógenos también varían según se presenten las ondas de desarrollo folicular (12,87). La LH se secreta en forma pulsátil con baja frecuencia ya que el estradiol y la progesterona juntos ejercen una inhibición sobre su secreción (84).

A partir del día 16 del ciclo estral se inicia la secreción pulsátil de la PGF_{2α}, que causa la regresión del cuerpo lúteo (13,46). Para que ocurra la regresión natural de esta glándula temporal es importante que se establezca una secreción pulsátil de PGF_{2α} (pulsos cada 6 a 8 horas) (75,101). Esto se demuestra por el hecho de que la secreción de pulsos de PGF_{2α} más espaciados, no provoca la regresión del cuerpo lúteo (99).

Para que inicie la secreción de PGF_{2α} se requiere de la exposición previa a progesterona (10 días en promedio), ésta hormona tiene efecto directo sobre la inhibición de la síntesis de receptores a estrógenos en el útero. Después de 10 a 12 días de exposición se pierden receptores a progesterona, (regulación a la baja), y se forman receptores a estradiol (47). El estradiol producido por el folículo dominante estimula en el endometrio la formación

de receptores a oxitocina, y a su vez ésta hormona estimula la síntesis de $\text{PGF2}\alpha$ uterina (46,47).

En el ovino y bovino se han encontrado sitios de unión específicos para $\text{PGF2}\alpha$ en las células lúteas. El número y la afinidad de estos sitios de unión (receptores) varía según la etapa del ciclo en la cual se encuentre el animal, y esto determina diferencias en la sensibilidad a la $\text{PGF2}\alpha$ (90).

La concentración de receptores para $\text{PGF2}\alpha$ en las células lúteas aumenta progresivamente desde el día 3 del ciclo hasta el día 18, cuando alcanza su nivel máximo (90). La $\text{PGF2}\alpha$ se une a sus receptores en las células grandes y promueve la acumulación de altos niveles de Ca^{++} en el interior de las células, lo cual causa el deterioro de las células grandes, las cuales además producen factores citotóxicos para las células chicas, lo que finalmente resulta en la destrucción tanto de las células grandes como de las chicas (32). Asimismo, McCracken y cols., (46), han demostrado que la $\text{PGF2}\alpha$ causa alteraciones físicas en la estructura de la membrana de la célula lútea, lo que se manifiesta como un mecanismo de desacople en el sistema LH-Adenilciclasa (46).

La administración de la $\text{PGF2}\alpha$ natural o cualquiera de sus análogos entre el día 6 al 16 ocasiona regresión del cuerpo lúteo (33). Sin embargo, algunos cuerpo lúteos son refractarios al efecto de la $\text{PGF2}\alpha$ debido a que en el momento de la aplicación de la hormona no tienen un cuerpo lúteo susceptible de ser lisisado por dicha hormona a pesar de tener un cuerpo lúteo funcional (56,61,96). La causa se desconoce, en algunos casos se explica por la falta de madurez de dicha estructura, ya que frecuentemente los cuerpos lúteos del día 5 a 6 son resistentes al efecto de la $\text{PGF2}\alpha$ debido a la falta de receptores para esta hormona. Algunos investigadores han utilizado en vacas una doble dosis de $\text{PGF2}\alpha$ con intervalo de 24 h o la administración de oxitocina 8 h después de la inyección de $\text{PGF2}\alpha$ con resultados pobres en el porcentaje de vacas observadas en calor (3,4).

2.2. DESARROLLO FOLICULAR

La foliculogénesis es un proceso que se inicia desde etapas muy tempranas de la vida del animal, y es continuo durante casi toda la vida del mismo; dos semanas después del nacimiento existen folículos en todas sus etapas de desarrollo, a excepción de folículos antrales (74). El número de folículos presentes en el ovario se establece durante el desarrollo embrionario. Así, al nacer una ternera, tiene en cada ovario unos 150 000 ovocitos primarios (18,34).

Desde el punto de vista hormonal el proceso de desarrollo folicular comprende dos etapas: La basal, que se lleva a cabo en ausencia de gonadotropinas, y la tónica, la cual depende del aporte de gonadotropinas (5,18).

Etapas Basal. Se considera que un gran número de folículos primordiales reinician su desarrollo poco después del nacimiento, y muchos otros degeneran al mismo tiempo. Aún no se conoce el mecanismo por el cual ciertos folículos son elegidos para dejar la reserva de folículos primordiales y convertirse en folículos primarios para continuar su desarrollo.

El primer signo morfológico del inicio del crecimiento folicular es el reinicio de la proliferación de las células de la granulosa, las cuales cambian su forma de aplanadas a cuboidales aumentando su tamaño hasta alcanzar su máximo desarrollo en etapas tempranas de la foliculogénesis (85).

Durante la vida temprana, cuando se está formando la gónada, es posible que las gonadotropinas actúen sobre la multiplicación y organización de las células de la rete ovarii, y consecuentemente en el número de folículos de mayor desarrollo. Las gonadotropinas intervienen en la formación del antro; en animales tratados con estas hormonas se provoca que el antro aparezca más temprano y los folículos tengan un antro más desarrollado que el correspondiente a su nivel de desarrollo (54). Sin embargo, la reiniciación del crecimiento de folículos primordiales y la adquisición de dependencia de FSH por el folículo preantral son independientes de la acción de las gonadotropinas, y por tanto probablemente están implicadas en la regulación parácrina y autócrina (53), donde estos factores propician que en la etapa

basal el folículo no necesite la intervención de las gonadotropinas, para desarrollarse.

Etapa Tónica. En esta etapa los folículos son dependientes de las gonadotropinas, en particular de FSH en un principio, para luego establecerse una interacción de factores ovario-pituitario-hipotalámicos y factores parácrinos que controlan la selección y dominancia folicular (17,24).

Esta etapa consta de tres procesos, definidos como: Reclutamiento, Selección y Dominancia (18).

En primer lugar ocurre el reclutamiento, que consiste en la estimulación del crecimiento de un conjunto de folículos (onda u oleada), de entre los cuales surgirá el que llegará a ovular. Para que un folículo pueda ser reclutado y seguir su desarrollo, debe haber alcanzado la etapa de dependencia de gonadotropinas, la cual se obtiene cuando los folículos tienen aproximadamente 4-5 mm. de diámetro (18). Se considera que en el caso de los bovinos se reclutan de 5 a 6 folículos por oleada y esto se logra con niveles basales de gonadotropinas, especialmente FSH (25).

Una vez reclutados, se realiza la selección del folículo dominante, el cual continuará creciendo mientras que los demás folículos sufren atresia. Esto es debido a que el folículo dominante produce sustancias que directa o indirectamente inhiben el desarrollo de los otros folículos (24,25). Hay dos mecanismos posibles para que se desarrolle esta relación, uno es el indirecto, en el cual el folículo más grande inhibe el crecimiento del resto de los folículos produciendo sustancias como la inhibina y el estradiol, que actúan sobre la hipófisis reduciendo la secreción de FSH a niveles insuficientes para mantener la viabilidad de los folículos chicos (7,42,76). El otro es directo, por medio de la secreción de factores parácrinos que reducen la sensibilidad de folículos pequeños a la FSH. Por ejemplo, el factor de crecimiento epidermal (EGF) actúa en folículos pequeños reduciendo la capacidad de aromatización de las células de la granulosa, mientras que la activina y el EGF actúan sobre las células de la teca reduciendo la síntesis de andrógenos (18).

El folículo seleccionado ejercerá dominancia sobre el resto de los folículos. La

dominancia se refiere al crecimiento selectivo de un folículo y la atresia que éste provoca en los demás, llamados folículos subordinados. El folículo dominante es más sensible a las gonadotropinas que los demás folículos, por lo que no sufre atresia a pesar de provocar con sus secreciones una reducción en la producción hipofisiaria de FSH (24,25). Además existen factores autócrinos tales como el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1) que se encuentra en mayor concentración en los folículos grandes, estimulando el crecimiento de éstos (20,53).

Los bajos niveles de FSH causados por la producción de inhibina por el folículo dominante, aunados a los efectos de factores parácrinos como las prostaglandinas y angiotensina (55,97), y sustancias con actividad similar a la renina y prorenina (73), actúan probablemente disminuyendo el flujo sanguíneo hacia folículos menos desarrollados, lo cual provoca su atresia.

En ausencia de regresión lútea, después de varios días el folículo dominante sufre atresia, con lo que comienza una nueva oleada (24,65,71). El desarrollo de folículos ováricos en la vaca es una secuencia dinámica de eventos organizados y a esto se le conoce como ondas u oleadas foliculares. Se ha demostrado que hay 2 a 3 ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral bovino (76).

Durante el diestro pueden coexistir en la misma vaca uno o más folículos en diversos estados de desarrollo con el cuerpo lúteo propio de este período y dependiendo de la presencia o no del cuerpo lúteo funcional, los folículos sufrirán atresia o continuarán su desarrollo hasta llegar a ovular (24).

2.3. CONTROL ARTIFICIAL DEL CICLO ESTRAL

El control del ciclo estral se realiza con el propósito de lograr una mayor eficiencia en el proceso reproductivo, y por lo tanto poder inseminar más vacas y tener un número mayor de vacas gestantes.

Se han desarrollado básicamente dos métodos hormonales para el control del ciclo

estral en bovinos:

a) Los progestágenos, que actúan simulando la vida funcional de un cuerpo lúteo, provocando un efecto de retroalimentación negativo sobre la secreción de gonadotropinas.

b) La Prostaglandina $F2\alpha$, que acorta la vida media del cuerpo lúteo provocando su regresión.

Los progestágenos son utilizados ampliamente en muchas especies domésticas como método de control del ciclo estral, particularmente para sincronizar el celo en grupos de hembras. En general, cuando la administración de progestágenos se suspende, los animales muestran estro de 3 a 5 días después de suprimir el tratamiento, siendo el estro seguido por ciclos estrales de duración normal (35,59).

La aplicación de un progestágeno (por 7 a 12 días) provoca una buena sincronización de estros, lo que facilita el uso de la inseminación artificial (95). Con este método, la proporción de animales que son observados en estro fluctúa entre el 45% y el 88% (1,2).

Existen diversos factores que pueden modificar la respuesta a la inducción del estro con progestágenos, entre ellos se encuentran: La duración de la aplicación del fármaco utilizado, la etapa del ciclo estral en que se realiza el tratamiento, el estado fisiológico del animal (vacas ciclando y no ciclando), la condición corporal, la edad de la hembra, el efecto del año y época, y el tipo racial (59).

El mecanismo de acción de la Prostaglandina $F2\alpha$ consiste en ejercer una acción luteolítica. Se han desarrollado diversos análogos sintéticos de ésta hormona con el propósito de utilizarlos en forma exógena, como un método efectivo para lograr la sincronización y la ovulación en el ganado bovino (9,40,64,68).

La aplicación de la $PGF2\alpha$ entre los días 6 a 16 del ciclo estral ocasiona regresión del CL en las siguientes 48 horas (6,39,46,86). Al disminuir los niveles de progesterona, se produce un incremento en los niveles de estradiol y hormona luteinizante, que son seguidos por la presentación de estro y ovulación (6,29,64).

Las vacas que son tratadas con PGF2 α por lo regular manifiestan el celo dentro de los cinco días siguientes a la aplicación de la hormona (58). La proporción de animales que presentan estro se encuentra entre el 50% y el 93% (58). El porcentaje de hembras que presentan celo y el intervalo entre el tratamiento y el inicio del calor varían según diversos factores, tales como: La edad del cuerpo lúteo en que se aplica la prostaglandina, ya que solo se logra su efecto luteolítico cuando se administra entre los días 6 y 16 del ciclo estral (6,46,86). La PGF2 α no ejerce ninguna acción luteolítica durante los primeros días del ciclo, lo cual se debe a la falta de receptores para PGF2 α cuando ésta estructura se está formando (21,63,92).

Otra determinante que afecta la respuesta es la etapa del diestro en que se encuentra el animal cuando se aplica la hormona (39,63,92). Watts y Fuquay (92), encontraron que los animales inyectados en la etapa temprana del ciclo tienen un intervalo al estro más corto (59.3 ± 5.0 horas) ($P < 0.01$), que aquellas inyectadas en la etapa tardía del diestro (72.0 ± 2.1 horas) ($P < 0.01$). Sin embargo, el porcentaje de hembras que presentaron calor fue menor durante el diestro temprano comparado con aquellas que se encontraban en diestro tardío (43% y 100 % respectivamente).

Las diferencias encontradas en las distintas etapas del diestro tienen relación con el desarrollo folicular (49,63). Algunos investigadores (24,72,98,100), han encontrado que la población folicular presente al momento del tratamiento con PGF2 α influye sobre la respuesta. De esta manera, cuando los animales tenían folículos grandes (> 15 mm) al momento del tratamiento, presentaron intervalos más cortos que aquellos que tenían folículos pequeños (< 5 mm). Zarco, y col., (100) concluyen que cuando más avanzado se encuentra el desarrollo folicular al momento de la aplicación de la PGF2 α , menor será el tiempo que transcurre hasta el inicio del estro y los celos se concentrarán más entre 72 y 96 horas después del tratamiento.

Otra razón por la que al utilizar la PGF2 α se obtienen pobres resultados es debido a que la precisión en el diagnóstico de cuerpo lúteo por palpación rectal, es variable, fluctuando del 80% al 90% (41,56,61,91). Esto indica que aproximadamente entre el 10% y 20% de las

vacas diagnosticadas con un CL tratadas con PGF2 α , en realidad no tienen un cuerpo lúteo funcional y por tanto no responden al tratamiento.

En estudios llevados a cabo por Stevenson y col., (81), se encontró que el 13% de las vacas que tenían un cuerpo lúteo funcional al ser tratadas con PGF2 α no sufrieron luteólisis; esto indica que la prostaglandina falla en la inducción de lisis en cierta proporción de los animales tratados, por causas no bien establecidas (30,81).

Es importante tomar en cuenta que aunados a los factores antes mencionados, existen otros aspectos que influyen directamente sobre la proporción de vacas observadas en estro después del tratamiento con PGF2 α . Tal es el caso de la eficiencia en la detección de estros (8,102). Se ha encontrado que un porcentaje importante de vacas no son detectadas en calor aún cuando la PGF2 α haya inducido luteólisis completa (56,61), lo que probablemente se deba a una deficiencia en la detección de estros. Por esta razón solamente se inseminan entre el 40% y 50% de las vacas tratadas, dejándose de inseminar un porcentaje considerable de éstas, lo que resulta en un reducido número de gestaciones (102).

2.4. EFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LA REPRODUCCION

El estrés es definido como un evento físico, ambiental, y psicológico que cambia significativamente la homeostasis del animal (36). Se ha observado que la eficiencia reproductiva es alterada en el ganado sujeto a estrés (36,50,52).

Existen muchos tipos de estresores que afectan al animal, sobre todo al ganado lechero dentro de los más comunes se encuentran los ambientales, los sistemas de manejo de las explotaciones intensivas, las instalaciones, los jerárquicos y los emocionales. Estos pueden afectar las funciones del animal, y consecuentemente el crecimiento, la producción de leche o el funcionamiento del sistema reproductivo (51).

Todos los estresores, ya sean físicos o emocionales, son percibidos por el Sistema Nervioso Central (SNC), el cual integra esa información y dicta cuales de los sistemas fisiológicos responderán al mantenimiento de la homeostasis (51). Indudablemente, la

reproducción en el macho y la hembra es vulnerable al efecto del estrés, sin embargo, la hembra es más sensible (51).

La reproducción se rige en una serie de eventos endócrinos cuidadosamente sincronizados, donde una alteración en su secuencia alterarían el proceso reproductivo. El ciclo estral, y particularmente los eventos neuroendócrinos periovulatorios son las etapas reproductivas más susceptibles al efecto del estrés (36,51).

Bajo condiciones de estrés se liberan concentraciones elevadas de cortisol (19,36,94). Esta hormona tiene la capacidad de bloquear el comportamiento estral (19,36,82), inhibe la secreción preovulatoria de LH y en consecuencia la ovulación (19,44,82,83,89). Algunos autores (19,37,44,67), han demostrado que el cortisol en altas concentraciones inhibe la secreción de 17- β estradiol y reduce el número de receptores a LH en cultivos de células de la granulosa (37). Rubio, (69), buscando la relación del cortisol con la manifestación del estro inducido con PGF 2α en novillas, encontró que las novillas con niveles elevados de cortisol muestran menor intensidad del estro, mientras que en las novillas que tenían niveles bajos de cortisol el estro se manifestó con mayor intensidad. Si esta condición se presentara en las vacas lecheras, posiblemente estaría afectando el número de animales detectados en celo.

Existen estresores físicos y emocionales que afectan la intensidad y manifestación del estro debido a la producción de niveles elevados de cortisol; dentro de los más conocidos está el estrés calórico, el cual también ocasiona disminución en la fertilidad, y si las condiciones de estrés son muy severas puede ocasionar anestro (10).

En animales domésticos la ovulación puede ocurrir sin la expresión del estro (51). Este fenómeno se ha notado en especial en ganado lechero cuando las vacas son mantenidas bajo condiciones de estrés (51). Así, cuando se aumenta el número de vacas en el hato, provenientes de otro lugar, se provoca estrés causado por el nuevo ambiente, donde se compete para establecer y mantener la dominancia, o por la comida, lo que produce una tensión constante y resulta en un efecto negativo para la reproducción (50,51). La información disponible del efecto del estrés sobre la reproducción proviene de experimentos donde se han

administrado a ganado bovino dosis altas de cortisol o de la Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH) (82,89). De esta manera, se han logrado asociar los niveles de cortisol con los disturbios de la ovulación, la conducta estral y la duración del ciclo estral (19,51,82). Sin embargo, no se conoce el efecto de las concentraciones normales de cortisol sobre los eventos neuroendócrinos del ciclo estral y particularmente sobre la manifestación del estro.

CAPITULO III

INDUCCION DEL ESTRO EN VACAS HOLSTEIN CON UN ANALOGO DE LA PROSTAGLANDINA F2 α ; INFLUENCIA DE LA PRECISION EN LA PALPACION RECTAL DEL CUERPO LUTEO, FALLA EN LA LUTEOLISIS Y TAMANO FOLICULAR.

INTRODUCCION

En los últimos años se han utilizado diferentes métodos para inducir el estro en el ganado bovino lechero, práctica común, que permite mejorar sustancialmente su eficiencia reproductiva. Al respecto, el método más utilizado es la aplicación de prostaglandina F2 α (PGF2 α), esta hormona causa la regresión del cuerpo lúteo (CL) al emplearse entre el día 6 a 16 del ciclo estral, y el consecuente estro se presentará 48 a 96 horas después del tratamiento. Sin embargo, el número de animales que presentan estro puede variar entre el 40 % y 95 % (33,56,61,72,77). Esta variabilidad en la respuesta puede obedecer a diversos factores, destacando: La precisión en la palpación de un cuerpo lúteo (41,56,77,91), la sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto de la PGF2 α (56,61,81,92), la etapa del diestro y el estado de la población folicular al momento del tratamiento (63,72,100), así como la eficiencia de la detección de estros (8,102).

Usualmente, las hembras a tratar se seleccionan con base a la presencia de un CL durante la palpación por vía rectal. Existen estudios que indican que la precisión en la palpación rectal del CL puede variar entre el 80 al 85 %, lo que indica que entre el 15 al 20% de las vacas seleccionadas no tienen un CL al momento del tratamiento y consecuentemente no responden al mismo (41,56,61,81,92). Además, se conoce que entre el 9% y el 13% de las vacas con cuerpo lúteo funcional no sufren luteólisis cuando son tratadas con la dosis habitual de PGF2 α (61,81).

Por otra parte, la etapa del diestro en que se aplica la PGF2 α influye sobre el número de hembras que manifiesten estro, así como en el tiempo de su expresión (39,63). Watts y Fuquay (92), observaron que vaquillas lecheras tratadas con PGF2 α durante el diestro temprano manifestaron su estro más rápido (59.3 \pm 5.0 h) que aquellas tratadas en el diestro

medio o tardío (70.5 ± 2.2 y 72.0 ± 2.1 h respectivamente), en tanto que el porcentaje de animales observados en celo fue de 43%, 83% y 100% respectivamente. Esta variación ha sido atribuida al estado de la población folicular y particularmente, al tamaño del folículo presente al momento del tratamiento (26,72,100). En la actualidad, se conoce que durante el ciclo estral de la hembra bovina ocurren de 2 a 3 ondas de crecimiento folicular (24,65,71), esto ocasiona que al momento de administrar la PGF2 α , se puedan encontrar folículos en diferentes estadios de desarrollo. Algunos estudios han demostrado que si la aplicación de la PGF2 α se acompaña con la presencia de un folículo ≤ 5 mm de diámetro, el tiempo a la manifestación del estro será mayor que cuando se encuentra un folículo de más de 10 mm (24,72,100.). Además, Gasca y col., (1992) (26), señalan que un menor porcentaje de hembras son detectadas en estro (65.5%) cuando el tratamiento es aplicado en presencia de folículos pequeños, en comparación con los animales que presentaban folículos mayores de 10 mm (90.5%). Esta diferencia puede ocasionar que las vacas que presentan folículos pequeños al momento de recibir la PGF2 α tengan una pobre respuesta al tratamiento inductor del estro.

La influencia de los factores antes señalados sobre la respuesta a la inducción de estros con PGF2 α , en ganado bovino lechero, generalmente se han evaluado por separado o derivan de estudios con objetivos diferentes. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue determinar de que manera la precisión en la palpación de un cuerpo lúteo, la sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto de la PGF2 α y el estado de la población folicular al momento del tratamiento, influyen sobre la proporción de animales que manifiestan estro después de la aplicación de PGF2 α a vacas Holstein en producción.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en un hato comercial de ganado bovino productor de leche, "Rancho Santa Mónica", localizado en el kilómetro 33.5 de la carretera federal México- Texcoco, en el municipio de Cuautlalpan, Estado de México, con características de clima templado, a una altura de 2250 metros sobre el nivel del mar.

El rancho cuenta con 456 vacas Holstein en producción, más un 25 % de novillas de reemplazo. Las vacas se manejan en un sistema de estabulación permanente, con un régimen de sanidad y manejo rutinario para este tipo de explotación. La dieta de estos animales está compuesta por; alfalfa henicada (50%), Ryegrass (20%), ensilado de maíz (10%) y concentrado (20%).

Para la realización de este estudio se utilizaron 118 vacas en lactación, con diferente número de partos. La selección de estas hembras se realizó tomando en consideración los siguientes criterios: Estar clínicamente sanas, el aparato genital en condiciones óptimas para la reproducción, tener más de 60 días posparto, sin registro de haber sido detectadas previamente en celo, y con la presencia de un cuerpo lúteo diagnosticado mediante palpación rectal al momento de recibir el tratamiento.

Para determinar la presencia y tamaño de los folículos, se realizó un estudio ultrasonográfico. Para este fin, se utilizó un equipo Tokio Keiki LS-1000 con transductor rectal de arreglo lineal de 5.0 Mhz, siguiendo la técnica descrita por Pierson *et al* (57).

Una vez realizada la ultrasonografía se aplicaron 5 mg de un análogo de Prostaglandina F₂α (Prosolvin-Intervet, México), por vía intramuscular, registrándose fecha y hora de la aplicación.

Se determinaron los niveles plasmáticos de progesterona obteniendo muestras de sangre cada 24 horas durante tres días seguidos, comenzando inmediatamente antes de aplicar la PGF₂α. Se utilizó un radioinmunoanálisis de fase sólida para cuantificar las concentraciones de progesterona (62, 78). El coeficiente de variación intraensayo para control bajo fue de (20.14%) y para el control alto fue de (7.46%). El coeficiente de variación interensayo para el control bajo fue de (21.28%) y para el control alto de (4.32%).

Se consideró que existía un cuerpo lúteo funcional cuando los niveles plasmáticos de progesterona fueron superiores a 1 ng/ml al momento de tomar la muestra (6).

Los animales tratados permanecieron en sus corrales correspondientes, en los cuales se realizó la detección de estros durante 6 días en dos periodos diarios de 3 horas cada uno (7 a

10 am y de 4 a 7 pm), por medio de la observación visual de la conducta homosexual de las vacas. Se consideró el inicio del estro cuando la vaca se dejó montar por primera vez.

La respuesta al tratamiento se evaluó de la siguiente forma:

- a. Número de hembras tratadas que manifestaron estro e intervalo de tiempo desde la aplicación de la PGF2 α al inicio del calor.
- b. La precisión en el diagnóstico de un cuerpo lúteo por vía rectal se calculó mediante la relación del número de vacas detectadas con cuerpo lúteo funcional (con niveles \geq a 1 ng/ml de progesterona plasmática) sobre el total de vacas tratadas.
- c. La sensibilidad del cuerpo lúteo al efecto de la PGF2 α se determinó calculando el porcentaje de vacas que tuvieron un cuerpo lúteo funcional al aplicar el tratamiento (progesterona plasmática \geq a 1 ng/ml), y que posteriormente presentaron niveles de progesterona menores a 1 ng/ml (a las 48 horas siguientes).
- d. Para determinar el efecto de la población folicular al aplicar la PGF2 α , las hembras tratadas se clasificaron en: Clase I, vacas con folículos \leq 10 mm al aplicar el tratamiento, y Clase II, vacas con folículos mayores a 10 mm. El porcentaje de vacas que manifestaron estro entre clases así como el tiempo de inicio del mismo, fueron comparados utilizando una prueba de t-student (79).

RESULTADOS

Del total de animales (n=118) que fueron seleccionados por palpación rectal para recibir la aplicación de PGF2 α , el 66.1% (78/118) de las vacas tratadas mostraron celo durante las siguientes 144 h postratamiento y el 33.9% restante (40/118) no se observaron en estro. En el Cuadro 1 se muestra la distribución de los estros de acuerdo al rango de horas en que se manifestaron y en el Cuadro 2 se muestra el comportamiento de las vacas que no fueron observadas en estro. El tiempo promedio desde el tratamiento al inicio del estro fue de 69.8 \pm 1.1 h con un rango de valores de 68.7 a 70.9 h para un intervalo de confianza al 95% y un coeficiente de variación de 27%.

Cuadro 1. Distribución de estros en vacas Holstein en lactación tratadas con Prostaglandina F2 α .

Rangos en horas postratamiento	Número	Porcentaje de estros	Porcentaje acumulado
0 - 24	0	0	0
25 - 48	11	9.3 %	9.3 %
49 - 72	42	35.6%	44.9%
73 - 96	20	17.0%	61.9%
97 - 120	2	1.7 %	63.6%
121- 144	3	2.5 %	66.1 %
Total	78	66.1%	---

Cuadro 2. Comportamiento de las vacas tratadas con PGF2 α que no fueron observadas en estro.

Comportamiento	Número	Porcentaje
Sin CL (<1ng/ml P4) *	12	10.2 %
Sin lisis de CL	16	13.5 %
vacas con CL y lisis No observadas en estro	12	10.2 %
Total	40	33.9 %

* P4 = progesterona

La precisión en el diagnóstico de un cuerpo lúteo por palpación rectal fue de 82.2% (97/118), es decir, 21 vacas no tenían un cuerpo lúteo funcional al momento de aplicar el tratamiento. Sin embargo, de las 21 vacas que no tuvieron un cuerpo lúteo funcional, nueve presentaron estro en las siguientes 144 h postratamiento, lo que indica que CL se encontraba

en regresión natural.

Por otra parte, el 16.5% de las 97 vacas detectadas con un cuerpo lúteo funcional mantuvieron niveles de progesterona plasmática mayores a 1 ng/ml después de la aplicación de la PGF2 α , lo que indica, que ésta no fue capaz de provocar la regresión del cuerpo lúteo.

De las 118 vacas en estudio 78 (66.1%) presentaron celo dentro de las siguientes 144 horas, después de la aplicación de la PGF2 α y el 33.9% (40/118) de las vacas no manifestaron estro después del tratamiento, de ellas 12 tuvieron niveles plasmáticos de progesterona menores a 1 ng/ml, al re alizar el tratamiento, en 16 vacas no hubo luteólisis a pesar de tener un cuerpo lúteo funcional al ser tratadas, y 12 no fueron detectadas en estro a pesar de haber tenido un cuerpo lúteo funcional y haber sufrido regresión del cuerpo lúteo, como lo indican sus niveles plasmáticos de progesterona.

El 37.3% (44/118 vacas) presentaron folículos iguales o menores a 10 mm (clase I), y el 62.7% (74/118 vacas) tuvieron folículos mayores de 10 mm (clase II). El 68.2% (30/44) y el 64.8% (48/74) de las vacas con folículos clase I y II respectivamente, presentaron estro, sin que dichas diferencias fueran estadísticamente significativas. En el Cuadro 3, se muestra para cada clase el porcentaje de hembras que manifestaron celo así como el tiempo promedio de respuesta.

Cuadro 3. Porcentaje de vacas detectadas en estro y tiempo promedio de respuesta después de la aplicación de Prostaglandina F2 α de acuerdo al tamaño folicular.

Clase	n	Porcentaje de hembras detectadas en estro % (n)	Tiempo promedio de respuesta (h) X \pm E.E.*
I (fg** \leq 10 mm)	44	68.2 ^a (30)	69.2 ^a \pm 4.8 h
II (fg > 10 mm)	74	64.8 ^a (48)	70.8 ^a \pm 3.8 h

Valores de columna con diferente literal son estadísticamente significativos.

* E.E. = error estándar.

** fg = folículo.

El tiempo promedio desde el tratamiento hasta el inicio del estro para folículos clase I, fue de 69 ± 4.8 h, con un intervalo de confianza al 95 %, que varía de 64.2 a 73.8 h y un coeficiente de variación fue de 31.4 %. Para folículos clase II fue de 70.8 ± 3.8 h, con un intervalo de confianza al 95 %, que varía de 67.0 a 74.6 h y un coeficiente de variación de 24.3%. No se encontraron diferencias estadísticas entre grupos.

DISCUSION

El porcentaje de animales observados en estro conductual (66.1%) después del tratamiento con PGF2 α es similar al encontrado por otros autores con el mismo tipo de ganado, el cual fluctúa entre 45% y 70% (56,61,77,102). Esta proporción de animales que presentaron estro es baja si se compara con la obtenida en vaquillas, donde hasta un 95 % de hembras tratadas son observadas en calor (33).

El tiempo transcurrido desde el tratamiento con PGF2 α hasta el inicio del estro tuvo una media general de 69.8 ± 1.1 horas, manifestándose el 93.5% de los estros dentro de las siguientes 96 postratamiento, lo cual coincide con lo señalado por otros investigadores (100).

La precisión en el diagnóstico del cuerpo lúteo funcional por palpación rectal encontrada en éste trabajo (82.2%), se encuentra dentro del rango (75% a 90%) señalado en otros estudios, (56,61,77,91). Sin embargo, en este estudio el 42% (9/21) del total de vacas que no presentaron cuerpo lúteo manifestaron estro conductual, lo que significa que ya se encontraba el cuerpo lúteo en regresión natural al momento del tratamiento (23,27,31,43). Lo anterior significa que en el 17.8% (21/118) de las vacas tratadas la no presentación de conducta estral obedeció a la falta de un cuerpo lúteo funcional al aplicar el tratamiento. El error en la identificación de un CL durante la palpación es una situación común cuando se emplea ésta técnica, aunque la falla es más grave aun cuando vacas que si tienen un CL no son seleccionadas para recibir el tratamiento con PGF2 α (falsos negativos) (56,61), lo que

ocasiona que se pierda la oportunidad de inducir el estro, y consecuentemente la inseminación se retrasa. Desafortunadamente en el presente trabajo no fue posible obtener la información para evaluar la incidencia de este tipo de error.

En el 83.5% de las vacas que tenían un cuerpo lúteo funcional ocurrió la regresión del mismo; esto es similar a lo observado en otros estudios, donde se señala que el tratamiento con PGF2 α fue efectivo en inducir luteólisis en el 84% al 91% de los animales tratados (61,77). Es posible que una proporción del 16.5% de las vacas con cuerpo lúteo que no sufrieron luteólisis, se encontraran entre el día 5 ó 6 del ciclo estral, cuando algunos cuerpos lúteos aun no son sensibles a la acción de la PGF2 α a pesar de ya producir cantidades significativas de progesterona (56).

No se encontró asociación entre el tamaño del folículo presente al aplicar el tratamiento con el porcentaje de vacas que manifestaron estro; así, el 68.2% de las vacas con folículos iguales o menores a 10 mm de diámetro presentaron estro, contra el 64.8% de las que tuvieron folículos mayores de 10 mm. Esto es diferente a lo encontrado por Gasca y cols. (26), quienes señalan que el 65% de las vaquillas tratadas con PGF2 α y en presencia de folículos menores a 5 mm presentaron estro, en contraste con el 90% de estros observados en aquellas hembras que tenían folículos mayores a 10 mm. Entre clases, tampoco se encontraron diferencias significativas para el tiempo promedio que tardó en presentarse el estro; siendo de 70.8 h para la clase con folículos grandes (> 10 mm) y de 69.2 h en la clase con folículos pequeños (\leq 10 mm). Este resultado difiere con lo encontrado en otros estudios, donde se ha observado que el tiempo desde el tratamiento hasta el inicio del estro es menor cuando el tratamiento inductor se acompaña con la presencia de folículos grandes (mayores a 10 mm) (72,100). Posiblemente, la forma en que se clasificaron los folículos en éste estudio no permitió observar variaciones en el tiempo de manifestación del estro, ya que la clase I incluyó folículos de una amplia variedad de diámetros.

Del total de vacas que tuvieron un cuerpo lúteo funcional al aplicar la PGF2 α , solamente 81 vacas (83.5%) sufrieron luteólisis, de éstas 69 se observaron en calor y 12 vacas

no se lograron observar. Esto significa que un porcentaje considerable (14,8%) de vacas se dejó de inseminar por falta de observación del celo. Existen diversos factores que afectan la eficiencia y la precisión en la detección de estros, como: La intensidad de la manifestación del estro, las condiciones ambientales, los pisos resbalosos, el tiempo y la hora de observación (66).

En este estudio, se encontró que la falta de presentación de estro en vacas Holstein tratadas con $\text{PGF2}\alpha$ se debe en un 30% de los casos a la ausencia de un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento, en un 40% de los casos a falla en la luteólisis, y en el 30% restante se produjo una falla en la detección de estros.

CAPITULO IV

INFLUENCIA DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE CORTISOL SOBRE LA PRESENTACION DEL ESTRO INDUCIDO CON PROSTAGLANDINA F2 α EN VACAS HOLSTEIN

INTRODUCCION

La inducción del estro con prostaglandina F2 α (PGF2 α) es una técnica ampliamente utilizada en el ganado bovino, particularmente en el ganado productor de leche. La administración de la PGF2 α entre los días 6 a 16 del ciclo estral ocasiona la regresión del cuerpo lúteo y el estro se presenta dentro de las siguientes 144 horas (23,29,33). En este tipo de ganado, se han observado porcentajes de respuesta que fluctúan entre el 40% y 60% de hembras en calor (56,61,72,77), aunque en vaquillas los resultados son mejores ya que entre el 85% y 95% de las hembras son observadas en estro (33). Esta respuesta tan variable puede obedecer a diversos factores, destacando: La precisión de la palpación rectal del cuerpo lúteo (41,56,61,91), la baja eficiencia en la detección de calores (8,56,102), resistencia de algunos cuerpos lúteos al efecto luteolítico de la PGF2 α (56,61,92) y posiblemente las condiciones de estrés en que viven las vacas lecheras en lactación (36,51,52,94).

El estado metabólico de la vaca en lactación durante el periodo posparto puede afectar el control neuroendócrino de la actividad ovárica (45,88). De esta forma, son más frecuentes los problemas de baja fertilidad y las alteraciones de la ovulación (quistes ováricos) en las vacas en producción que en las vaquillas o vacas no lactantes (11,38). Se sabe que la lactación, las condiciones de manejo de los sistemas de producción intensiva, así como las condiciones ambientales (temperatura, humedad, vientos) imponen un estado de estrés en la vaca lechera que afecta el comportamiento reproductivo de estos animales (36).

El estrés es definido como un estado de tensión nervioso ocasionado por eventos físicos, ambientales, psicológicos o emocionales, el cual altera significativamente la homeostasis del animal (36,50). La reproducción depende de eventos fisiológicos rigurosamente sincronizados, donde cualquier cambio ocasiona que este proceso falle (51). Sin embargo, no todos los eventos que intervienen en el ciclo reproductivo son igualmente

susceptibles al efecto del estrés; son más vulnerables los eventos neuroendócrinos periovulatorios (51).

En general se sabe que el estrés ocasiona una elevación de los niveles de cortisol (19,50,52,94) y ésta hormona inhibe la secreción preovulatoria de la Hormona Luteinizante (LH) (37,44,67,82), el crecimiento folicular (50,52,82), la secreción de estradiol (36,37,44,67) y la conducta estral (50,82).

La información disponible del efecto del estrés sobre la reproducción proviene de experimentos donde se han administrado a vacas dosis altas de cortisol o de la Hormona Adenocorticotrópica (ACTH) (82,89). De ésta manera, se ha logrado asociar los niveles de cortisol con los disturbios de la ovulación, la conducta estral y en la duración del ciclo estral (19,51,82).

En vacas en producción se observan concentraciones elevadas de cortisol propias de la lactación (36,67,94), del nivel de producción (36,67), así como por factores ambientales (10,36,67,83). En condiciones de manejo de hatos lecheros comerciales no se han realizado estudios tendientes a conocer la influencia de la concentración de cortisol sobre los eventos reproductivos y particularmente en la presentación del estro. Por tal motivo, el primer objetivo de éste trabajo fue el de determinar las concentraciones de cortisol en vacas en producción y vacas no lactantes. El segundo objetivo fue el de conocer la influencia de las concentraciones plasmáticas de cortisol sobre la manifestación del estro inducido con $\text{PGF}_2\alpha$ en vacas Holstein en lactación.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en un hato comercial de ganado bovino productor de leche, localizado en el kilómetro 33.5 de la carretera federal México-Texcoco, en el municipio de Cuautlalpan, Estado de México, con características de clima templado, a una altura de 2250 metros sobre el nivel del mar.

El hato cuenta con 456 vacas de raza Holstein Friesian en producción, más el 25% de

becerras de reemplazo. Las vacas se manejan en un sistema de estabulación permanente, bajo régimen de alimentación, sanidad y manejo rutinario para este tipo de explotación. La dieta ofrecida a estos animales estuvo compuesta principalmente por alfalfa henificada (50%), Ryegrass (20%), ensilado de maíz (10%) y concentrado (20%).

Se realizó un primer estudio (Ensayo I) para determinar y comparar los niveles plasmáticos de cortisol en vacas en lactación y vacas no lactantes. Se seleccionaron 24 hembras que se encontraban ciclando y se constituyeron dos grupos: Grupo I 12 vacas lactando y Grupo II, 12 vacas que no lo estaban; debido a que se encontraban en un periodo de descanso después de un programa de transferencia de embriones.

Las vacas seleccionadas presentaron un cuerpo lúteo diagnosticado por medio de palpación rectal. En ese momento recibieron 5 mg de un análogo de PGF₂ α (Prosolvín, Intervet, México). Se obtuvieron muestras de sangre al momento del tratamiento (0 h), a las 24 y 48 siguientes. Las muestras se tomaron por punción de la vena coccígea, utilizando tubos al vacío con 0.1 g de fluoruro de sodio y 90 U.I. de heparina como anticoagulante (62). La sangre se centrifugó a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos para separar el plasma el cual se conservó a -20 °C hasta su análisis. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona y cortisol mediante radioinmunoanálisis de fase sólida (22,78). Para progesterona, el coeficiente de variación intraensayo para el control bajo fue de (20.14%) y para el control alto fue de (7.46%). El coeficiente de variación interensayo para el control bajo fue de (21.28%) y para el control alto fue de (4.32%). Mientras que para cortisol, el coeficiente de variación intraensayo para el control bajo fue de (9.24%) y para el control alto fue de (4.36%). El coeficiente de variación interensayo para el control bajo fue de (13.26%) y para el control alto fue de (4.28%).

Se compararon los niveles de cortisol entre grupos mediante análisis de varianza utilizando al grupo y día como variables independientes (79).

Un segundo estudio (Ensayo II) se realizó con el propósito de conocer la influencia de los niveles de cortisol sobre la presentación del estro inducido con un análogo de PGF₂ α . Se seleccionaron 118 vacas con 60 o más días posparto, clínicamente sanas y que a la palpación

rectal tuvieron un cuerpo lúteo.

Una vez detectado el cuerpo lúteo por palpación rectal se aplicaron 5 mg de un análogo de prostaglandina F₂α (Prosolvin, Intervet, México), por vía intramuscular. Se obtuvieron muestras de sangre al momento del tratamiento y durante los tres días siguientes. Las muestras se manejaron en forma similar al ensayo anterior. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de progesterona y cortisol por radioinmunoanálisis en fase sólida (22,78).

Los animales se reintegraron a sus corrales correspondientes, en los cuales se realizó la detección de estros de 7 a 10 a.m. y de 4 a 7 p.m. por medio de observación visual de la conducta homosexual. Se consideró el inicio del estro cuando la vaca se dejó montar por primera vez.

Se determinó la proporción de vacas con cuerpo lúteo funcional (progesterona > 1 ng/ml) del total seleccionado, y el porcentaje de las vacas que sufrieron luteólisis (progesterona > 1 ng/ml en la primer muestra y niveles basales durante las siguientes 72 h). Se seleccionaron las vacas que tuvieron cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento con PGF₂α y que sufrieron luteólisis, y en ellas se compararon las concentraciones de cortisol en las vacas que presentaron o no estro en las siguientes 144 h. Se utilizó un análisis de varianza utilizando en grupo y el día como variables independientes (79).

RESULTADOS

Los niveles plasmáticos de cortisol de las vacas en lactación y no lactantes del primer ensayo se muestran en el cuadro 4. Se observó que las vacas en producción tuvieron concentraciones de cortisol más altas que las vacas no lactantes, sin embargo solo fueron significativas ($P < 0.05$) en el día 1. Los niveles de cortisol disminuyeron conforme transcurrieron los días de muestreo en ambos grupos.

Cuadro 4. Niveles plasmáticos de cortisol (nmol/l) en vacas Holstein lactando o no alrededor del estro inducido con PGF2 α a.

Hora *	Grupos	
	Lactantes (n=12)	No lactando (n=12)
0	60.1 \pm 6.8 a	18.2 \pm 9.6 b
24	18.4 \pm 3.7 a	12.7 \pm 5.3 a
48	14.2 \pm 3.4 a	9.3 \pm 4.9 a

Las literales diferentes en el mismo renglón indican que hubo diferencias significativas (P< 0.05), entre grupos.

a) Los datos se presentan como media \pm error estandar.

* Hora 0: Hora de la administración de PGF2 α .

El 82.2 % (97/118) de las vacas seleccionadas tuvieron un cuerpo lúteo funcional (progesterona > 1 ng/ml) al momento del tratamiento y de estas el 83.5 % (81/97) sufrió regresión del cuerpo lúteo. El 85.2 % (69/81) de las vacas que tuvieron regresión del cuerpo lúteo presentaron estro dentro de las 144 h después del tratamiento con PGF2 α .

Las concentraciones de cortisol se muestran en el Cuadro 2. No se encontraron diferencias en los niveles de cortisol entre las vacas que presentaron calor y las que no fueron observadas en estro.

Cuadro 5. Concentraciones Plasmáticas de Cortisol (nmol/l) y respuesta a la inducción de estro con Prostaglandina F2 α a.

Día *	Grupos	
	Vacas observadas en estro (n=69)	Vacas no observadas en estro (n=12)
1	70.9 \pm 4.9	56.1 \pm 12.2
2	20.8 \pm 2.0	19.4 \pm 5.6
3	19.1 \pm 2.3	13.5 \pm 4.4
4	5.4 \pm 1.4	7.8 \pm 3.4

No se encontraron diferencias estadísticas entre grupos.

a) Los datos se presentan como media \pm error estandar.

* Día 1: Día de la aplicación de la PGF2 α .

DISCUSION

Las concentraciones plasmáticas de cortisol en vacas en lactación fueron más altas que en las vacas no lactando, aunque las diferencias solo fueron significativas ($P < 0.05$) en el día de la administración de la PGF 2α . Estos resultados coinciden con lo publicado por diversos autores, quienes además señalan que las concentraciones de cortisol se incrementan conforme aumenta la producción de leche ya que el cortisol participa directamente en la lactogénesis (36). Sin embargo, en éste estudio no se puede precisar si la concentración alta de cortisol en las vacas en lactación también es consecuencia del estrés ocasionado por las condiciones de manejo y por los factores ambientales como señalan algunas investigaciones (19,36,50).

El cortisol ha sido considerado como un indicador hormonal del estado de estrés en que se encuentran los animales (50). En condiciones de estrés, ya sea crónico o agudo, se ha observado un incremento de las concentraciones plasmáticas de cortisol, esta hormona capacita a los animales para tolerar condiciones de tensión produciendo ajustes fisiológicos y metabólicos para mantener la homeostasis (36,51).

Los niveles plasmáticos de cortisol disminuyeron en ambos ensayos conforme transcurrieron los días de muestreo. En la primera muestra se observaron concentraciones más altas, lo cual coincide con el día de mayor manejo, ya que se realizó la palpación rectal, la toma de muestra sanguínea y el ultrasonido. Estos resultados coinciden con los de otros autores quienes observaron que prácticas de manejo tan simples como la palpación rectal o la toma de muestras de sangre provoca un estado de estrés que se manifiesta en un incremento en las concentraciones de cortisol (36,50,94).

La información disponible del efecto del cortisol sobre la reproducción proviene de experimentos donde se han administrado a vacas dosis altas de cortisol o de la Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH) (82,89); de ésta manera, se ha logrado asociar ésta hormona con los eventos neuroendócrinos periovulatorios (51,52). Así, se conoce que bloquea la ovulación inhibiendo el pico de LH y además disminuye la intensidad del estro

(19,36,44,82,83). Por otra parte, se han asociado concentraciones elevadas de cortisol con incidencia de quistes ováricos, los cuales ocurren con mayor frecuencia en vacas altas productoras (38,67,94).

Las concentraciones de cortisol en los diferentes días de muestreo de las vacas que presentaron estro fue similar a la de las vacas que no se observaron en calor (Cuadro 5). Lo anterior indica que, si bien el cortisol está relacionado con la disminución del comportamiento estral en los bovinos (36,51), éste no tuvo asociación con la proporción de animales que son detectados en calor después de tratamiento con $\text{PGF2}\alpha$. Estos resultados contrastan con lo encontrado por Rubio (1988), quien estudió la actividad estral de vaquillas con diferente concentración de cortisol y encontró que los animales con mayor nivel de cortisol tuvieron menor actividad estral (69).

La proporción de animales que tuvieron un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento con $\text{PGF2}\alpha$ (82.2%) y el porcentaje de vacas que sufrieron luteólisis (83.5%) son similares a los encontrados por otros autores (61,81) y explica en parte, el porcentaje de animales que no presentaron estro (61,77). Solo 12 vacas (14.8%) que tuvieron un cuerpo lúteo funcional y sufrieron luteólisis no fueron observadas en calor, probablemente debido a una pobre manifestación del estro ocasionada por factores intrínsecos o ambientales, algunos de ellos no establecidos (10,36,51,56).

La vaca lechera vive sometida a condiciones de manejo intensivas tales como alta producción de leche, dos o tres ordeños al día, y lotificación frecuente donde se mezclan animales de diferentes características, condiciones todas ellas que ocasionan estrés crónico o agudo y que pueden alterar el proceso reproductivo (36,50,67,83,94). Sin embargo, los resultados del presente trabajo indican que el estrés ocasionado por las condiciones anteriores, medido a través de las concentraciones de cortisol, no interfiere con la manifestación y detección del estro. Por tal motivo es necesario poner atención a otros factores que influyen la manifestación del estro y que tienen un peso específico mayor, tales como el tiempo dedicado a la observación de calores y el horario en que se realizan estas funciones.

CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES

- * La respuesta obtenida en la inducción del estro en vacas tratadas con $\text{PGF2}\alpha$ seleccionadas por la presencia de un cuerpo lúteo diagnosticado por palpación rectal, fue del 66 %.
- * En éste estudio, el 18% de las vacas seleccionadas mediante palpación rectal de un CL, no tuvieron un cuerpo lúteo funcional al momento de aplicar el tratamiento.
- * En el 16% de las vacas con cuerpo lúteo funcional no hubo luteólisis después del tratamiento con una dosis habitual de un análogo de $\text{PGF2}\alpha$.
- * No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de vacas que presentaron estro y en el intervalo del tratamiento al inicio del estro entre vacas que tuvieron folículos mayores, y menores o iguales a 10 mm.
- * Las vacas en lactación tuvieron concentraciones más elevadas de cortisol que aquellas que no estaban lactando. Si bien el cortisol está relacionado con la manifestación del estro en los bovinos, no se encontró relación con la manifestación del estro en animales tratados con $\text{PGF2}\alpha$.
- * La falta de respuesta a la inducción del estro con $\text{PGF2}\alpha$, se explica en un 30% de los casos por la ausencia de un cuerpo lúteo funcional al momento del tratamiento, en un 40% por falla en la luteólisis y el 30% restante de los animales no manifestaron conducta estral durante el periodo de observación.

CAPITULO VI

LITERATURA CITADA

1. Anderson, G.W., Babonis, G.D., Riesen, J.W. and Woody, C.O.: Control of estrus and pregnancy in dairy heifers treated with syncro-Mate-B. *Theriogenology*, **17**: 623-633 (1982).
2. Aragón, C.L.J.: Actividad sexual de vacas Holstein gestantes hacia hembras sincronizadas con un progestágeno. Tesis de licenciatura *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Universidad Nacional Autónoma de México; México, D.F. (1993).
3. Archbald, L.F., Risco, C., Chavatte, P., Constant, S., Tran, T., Klapstein, E. and Elliot, J.: Estrus and pregnancy rate of dairy cows given one or two doses of prostaglandin F2 alpha 8 or 24 hours apart. *Theriogenology* **40**: 873-884, (1993).
4. Archbald, L.F., Constant, S., Tran, T., Risco, C., Klapstein, E. and Elliot, J.: Effect of sequential treatment with prostaglandin F2 alpha and/or oxytocin on estrus and pregnancy rate of lactating dairy cows. *Theriogenology* **42**: 773-780 (1994).
5. Arendsen de Wolff-Exalto, E.: Influence of gonadotrophins on early follicle cell development and early oocyte growth in the immature rat. *J. Reprod. Fertil.* **66**: 537-544 (1982).
6. Beal, W.E., Milvae, R.A. and Hansel, W.: Oestrus cycle length and plasma progesterone concentrations following administration of Prostaglandin F2 α early in the bovine oestrus cycle. *J. Reprod. Fertil.* **59**: 393-396 (1980).
7. Beard, A.J., Savva, D., Glencross, R.G., McLeod, B.J. and Knight, P.G.: Treatment of ovariectomized heifers with bovine follicular fluid specifically suppresses pituitary levels of FSH-Beta messenger RNA. *J. Mol. Endocrinol.* **3**: 85-92 (1989).
8. Belchner, A: A dairy herd program. *Agri-practice* **7**: 7-12 (1986)
9. Betteridge, K.J., Sugden, E.A. and Eaglesome, M.D.: Synchronization of estrus and ovulation in cattle with the prostaglandin analogue AY 24655. *Can. J. Anim. Sci.* **57**: 23-32 (1977).
10. Bond, J. and McDowell R.E.: Reproductive performance and physiological responses of beef females as affected by a prolonged high environmental temperature. *J. Anim. Sci.* **35**: 820 - 829 (1972).
11. Bosu, W.T.K. and Peter, A.T.: Evidence for a role of intrauterine infections in the Pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, **28**: 725-736 (1987).
12. Britt, J.H.: Advances in reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* **64**: 1368-1402 (1981).
13. Bygdeman, M.: Effects of prostaglandins on the genital tract. *Acta Vet. Scand. suppl.* **77**: 47-54 (1981).
14. Day, B.N.: Estrous cycle regulation. Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Urbana, Illinois, 1984., 1-8. University of Illinois. Urbana-Champaign, Illinois (1984).
15. Derivaux, J.: Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los animales domésticos. Ed., *Accibia, Zaragoza, España*, (1961).

16. Downey, B.R.: Regulation of oestrus cycle in domestic animals: A review. Can. Vet. J., **21**: 301-306 (1980).
17. Diancourt, M.A., Fry, R.C., Clarke, I.J. and Cahill, L.P.; Follicular Growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. J. Reprod. Fert., **79**: 635-641 (1987).
18. Diancourt, M. A.: Follicular Dynamics in sheep and cattle. Theriogenology **35**: 55-79 (1991).
19. Echterkamp, S.E.: Relationship between LH and Cortisol in acutely stressed beef cows. Theriogenology **22**: 305-311 (1984).
20. Echterkamp, S.E., Spicer, L.J., Gregory, K.E., Canning, S.F. and Hammond, J.M.: Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. Biol. Reprod. **43**: 8-14 (1990).
21. Farías, R.R. y Menéndez, T.M.: Efecto de la oxitocina o cipionato de estradiol en la sincronización estral con prostaglandina en vaquillas Holstein. Memorias, Reunión de Investigación Pecuaria en México: p. 120 (1986).
22. Farmer, R. and Pierce C. Plasma cortisol determination: Radioimmunoassay and competitive protein binding compared. Clin Chem. **20**: 365 - 372 (1974).
23. Findlay, J.K., Robertson, D.M., Clarke, I.J., Klein, R., Doughton, B.W., Xiao, S., Russel, D.L. and Shukovski, L.: Hormonal regulation of the reproduction. General concepts. Anim. Reprod. Sci., **28**: 319-328 (1992).
24. Fortune, J., Sirois, J., Turzillo, A.M. and Lavoit, M.: Follicle selection in domestic animals. J. Reprod. Fert. (suppl), **43**: 187-198 (1991).
25. Fortune, J.E.: Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility?. Anim. Reprod. Sci., **33**: 111-125 (1993).
26. Gasca, G.S., Porras, A.A. y Lima, T.V.: Influencia del grado de desarrollo folicular al momento de la inducción del estro con prostaglandina F2 alfa sobre la respuesta al estro, en vaquillas Holstein. XVII Congreso Nacional de Buiatría, Tabasco, México, pp. 85-87 (1992).
27. Garverick, H.A., Zollers, W.G. and Smith, M.F.: Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. Anim. Reprod. Sci. **28**: 11-124 (1992).
28. Guilbault, L.A., Thatcher, W.W., Collier, R.J. and Wilcoux, C.J.: Periparturient endocrine changes of conceptus and maternal units in Holstein heifers bearing genetically different conceptuses.: J. Anim. Sci. **61**: 1505-1515 (1985).
29. Hafs, H.D. and Manns, J.G.: Onset of oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with Prostaglandin F2 alfa. Anim. Prod. **21**: 13-20 (1975).
30. Halbert, G.W., Leslie, K.E., Walton, J.S. and Betteridge, K.J.: Evaluation of return to estrus in superovulated dairy heifers following prostaglandin treatment. Theriogenology **21**: Abs. 201 (1989).
31. Hansel, W. and Convey E.: Physiology of estrous cycle.: J. Anim. Sci., **57**: 404-424 (1983).
32. Hansel, W., Ailla, H.W., Dowd, J.P. and Milvae, R.A.: Differential origin and control mechanisms in small and large bovine luteal cells. J. Reprod. Fert. **43**: 77-89 (1991).

33. Hernández, C.J., Porras, A.A., Salgado, A.A. y Lima, T.V.: Inducción del estro con Prostaglandina F2 α . Efecto del intervalo entre tratamiento y la presentación del estro sobre el índice de concepción de vaquillas Holstein. Vet. Méx., 25: 19-27 (1994).
34. Hirshfield, A.N.; Development of follicles in the mammalian ovary. Int. Rev. Cytol. 124: 43-101 (1991).
35. Ireland, J.J., Roche, J.F.: Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. J. Reprod. Fert. 64: 295-302 (1982).
36. Johnson, H.D. and Vanjousack, W.J.: Stress and health of the dairy cow: Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. J. Dairy Sci. 59: 1603-1617 (1976).
37. Kawate, N., Inaba, T. and Mori, J. Effects of cortisol on the amounts of estradiol-17 β and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells. Anim. Reprod. Sci. 22: 15-25 (1993).
38. Kesler, D.J. and Garverick, H.A., Ovarian cysts in dairy cattle: A review. J. Anim. Sci., 55: 1147-1159 (1982).
39. King, M.E., Kiracofe, G.H., Stevenson, J.S. and Schalles, R.R.: Effect of stage of the estrous cycle on interval to estrus after PGF2 alfa in beef cattle. Theriogenology 18: 191-200 (1982)
40. Kiracofe, G.H., Wright, J.M. and Newby, T.J.: Reproductive characteristics of cyclic beef heifers treated with the prostaglandin analog Iuprostitol. Theriogenology 30: 931-936 (1988)
41. Landsverk, K. and Karlberg, K.: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. 11th. International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Dublin, Ireland, vol. 1: p. 99 (1988).
42. Larson, G.H., Mallory, D.S., Dailey, R.A. and Lewis, P.E.: Gonadotropin concentrations follicular development and luteal function in pituitary stalk-transected ewes treated with some bovine follicular fluids. J. Anim. Sci. 69: 4104-4111 (1991).
43. Larson, L.L. and Ball, P.J.H.: Regulation of estrous cycle in dairy cattle: A review. Theriogenology 38: 255-267 (1992).
44. Li, P.S. and Wargner, W.C.: Effects of hyperadrenal states on Luteinizing hormone in cattle. Biol. Reprod. 29: 11-24 (1983a).
45. Lucy, M.C., Staples, C.R., Michel, F.J. and Thatcher, W.W.: Energy balance and size number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 74: 473-482 (1991a).
46. McCracken, J.A. and Schramm, W.: Prostaglandins and corpus luteum regression. In: P.B. Curtis-Prior "A handbook of prostaglandins and related compounds". Edinburg, 1983 pp. 1-104.
47. McCracken, J.A., Schramm, W. and Okulicz, W.C.: Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF2 α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. Anim. Reprod. Sci. 7: 31-55 (1984).
48. Mcmillan, K.L. and Day, A.M.: Prostaglandin F2 alfa. A fertility drug in cattle ?. Theriogenology 18: 245-253 (1982).

49. Mcmillan, K.L. and Henderson, H.V.: Analyses of variation in the interval from an injection of Prostaglandin F2 α to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. **6**: 245-254 (1984).
50. Moberg, P. G.: Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cow.: J. Dairy Sci. **59**: 1618-1624 (1975).
51. Moberg, P. G.: Animal Stress. In: Moberg, P.G. (ed) "Influence of Stress on Reproduction: Measure of Well-being". American Physiological Society, 1985. pp. 215-237., U.S.A.
52. Moberg, P. G.: How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction in domestic animals.: J. Dairy Sci. **74**: 304-311 (1991).
53. Mondschein, J., Canning, S., Miller, D. and Hammond, J.: Insulin-like growth factors (IGFs) as autocrine/paracrine regulators of granulosa cell differentiation and growth: Studies with a neutralizing monoclonal antibody to IGF-1. Biol. Reprod. **40**: 79-85 (1989).
54. Mulheron, C.W., Quattropani, S.L. and Nolin, J.M.: On the intrinsic control of the developmental transition from primordial to primary follicle. Adv. Exp. Med. Biol. **219**: 737-742 (1987).
55. Murphy B. Claire E., Lindsell, E. and Xin - Min: Endogenous inhibitors of follicle development. Second Research Coordination Meeting of the FAO/IAEA Coordinated Research Programs, México, 1991.
56. Ortiz, O. y Zarco, L.: Determinación de los factores que afectan la respuesta a un programa de sincronización de estros con PGF2 α . XII Congreso de Ginecología: Tampico, México. pp. 748-752 (1986).
57. Pierson, R.A., Kastelic J.P. and Ginther O.J.: Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horse. Theriogenology **29**: 3-9 (1988).
58. Porras, A.I., Galina, H.C.S.: Utilización de la prostaglandina F2 α y sus análogos para la manipulación del ciclo estral bovino. Vet. Méx. **22**: 401-405 (1991).
59. Porras, A.A.I., Galina, H.C.S.: Utilización de los progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. Vet. Méx. **23**: 31-36 (1992).
60. Poyser, N.L.: Prostaglandin production by the uterus of the non-pregnant and early pregnant guinea-pig. Anim. Reprod. Sci. **7**: 1-30 (1984).
61. Plunkett, S.S., Stevenson, J.S. and Call, E.P.: Prostaglandin F2 α for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus. J. Dairy Sci. **67**: 380-387 (1984)
62. Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G. and Posadas, E.: Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. Theriogenology **35**: 511-521 (1990).

63. Refsal, K.R. and Seguin, B.E.: Effect of stage of diestrus and number of cloprostenol (ICI 80.996) injections on interval to estrus, LH peak and ovulation in heifers. Theriogenology **14**: 37-45 (1980).
64. Roche, J.F. and Ireland, J.J.: Manipulation of ovulation in cattle. Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Urbana, Illinois, 1984. PP. 9-17. University of Illinois. Urbana-Champaign, Illinois (1984).
65. Roche, J.E. and Boland M.P.; Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. Theriogenology **35**: 81-90 (1991).
66. Rodney D. Allrich.: Estrous behavior and detection in cattle. Vet. Clin. North. Am.: Food Anim. Pract. **2**: 249-262 (1993).
67. Rosenberg, M., Folman, Y., Herz, Z., Flamenbaum, I., Berman, A. and Kaim, M.: Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and oestradiol-17 β in high milk-yielding cows. J. Reprod. Fert., **66**: 139-146 (1982).
68. Rowson, L.E.A., Tervit, R. and Brand, A.: The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. J. Reprod. Fert., **142** (1972).
69. Rubio, I. Factors associated with oestrus expression and detection following sequential PGF 2α regimes. Thesis, Veterinary Medicine, Australian University (1988).
70. Rothschild, V.J., Zarco, Q.L. y Sagardía, R.J.: Caracterización de los eventos periovulatorios en vaquillas Holstein del centro de cría de Tizayuca, Hgo. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México 1987, México, D.F. 1987. pp 359-361. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria. México, D.F. (1987).
71. Savio, J.D., Boland, M.P. and Roche, J.F.; Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. J. Reprod. Fert. **88**: 581-591 (1990).
72. Scaramuzzi, R.J., Turnbull, K.E., and Nancarrow, C.D.: Growth of graafian follicles on cows following luteolysis induced by the Prostaglandin F 2α analogue, cloprostenol. Aust. J. Biol. Sci. **39**: 63-69 (1980).
73. Schultze, D., Brunswig, B. and Mukhopadhyay, A.K.: Renin and prorenin-like activities in bovine ovarian follicles. Endocrinology **124**: 1389-1398 (1989).
74. Seidal, G. and Niswender, G.: Control of folliculogenesis and ovulation in domestic animals: Puberal and adult function. IX Congreso Internacional de Reproducción, España, 1980.
75. Silvia, W.J. and Raw, R.E.: Regulation of pulsatile secretion of prostaglandin F 2α from the ovine uterus by ovarian steroids. J. Reprod. Fert. **98**: 341-347 (1993).

76. Sirois, J. and Fortune, J.E.: Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. Biol. Reprod. **29**: 308-317 (1988).
77. Slennig, B.D.: Comparison of a prostaglandin-F2 alfa - based reproductive program with an estrus detection-based reproductive program on a large commercial dairy herd. Theriogenology **21**: 673-685 (1992).
78. Srikandakumar, A., Ingraham, R.H., Ellsworth, M., Archbald, L.F., Liao, A. and Godke, R.A.: Comparison of a solid-phase, no-extraction assay for monitoring luteal function in the mare, bitch and cow. Theriogenology **26**: 779-793 (1986).
79. Steel, R.G. D. and Torrie, J.H.: Principles and procedures of statistics. Edit. McGraw-Hill; México, D.F. (1980).
80. Stevenson, J.S., Schmidt, M.K. and Call, E.P.: Estrus cycle, time of insemination and seasonal effects on estrus and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F2 α . J. Dairy Sci. **67**: 1798-1805 (1984).
81. Stevenson, J.S., Lucy, M.C. and Call, E.P.: Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F-2 α . Theriogenology **28**: 937-946 (1987).
82. Stoebel, D.P., and Moberg G.P.: Effect of adrenocorticotropin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrus behavior of cows. J. Dairy Sci. **65**: 1016-1024 (1982).
83. Stott, G.H. and Wiersma, F.: Climatic thermal stress, a cause of hormonal depression and low fertility in bovine. J. Biometeor. **17**: 115-119 (1973).
84. Stumpf, M., Day, L., Wolfe, M., Clutter, A., Stotts, J., Wolfe, P., Kittok, R. and Kinder, J.: Effect of estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. Biol. Reprod. **40**: 91-97 (1989).
85. Szollosi, D.: Interaction between oocyte and follicle in vivo. IX Congreso Internacional de Reproducción. pp. 56-60. España, 1980.
86. Thatcher, W.W., Mcmillan, K.L., Hansen P.J. and Drost, M.: Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology **31**: 149-164 (1989).
87. Turzillo, A. and Fortune, J.: Suppression of the secondary FSH surge with bovine follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. J. Reprod. Fert. **89**: 643-653, (1990).
88. Villa-Godoy, A., Hughes, T.L., Emery, R.S., Chapin, L.T. and Fogwell, R.L.: Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. **71**: 1063-1072 (1988).
89. Wagner, W.C., Strohhnen, R.E. and Harris P.A.: ACTH, corticoids and luteal function in heifers. J. Anim. Sci. **35**: 789-793 (1972).
90. Wakeling, A.E. and Green, L.R.: Corpus luteum prostaglandin receptors and luteolysis. Acta Vet. Scand. Suppl. **77**: 131-142 (1981).
91. Watson, E.D. and Munro, C.D.: A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. Br. Vet. J. **136**: 555-560 (1980).
92. Watts, T. and Fuquay, J.W.: Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F2 α during early, middle or late diestrus. Theriogenology **23**: 655-661 (1985).

93. Wiltbank, M.C. and Niswender, G.D.: Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. Anim. Reprod. Sci. **28**: 103-110 (1992).
94. Wise, M.E., Armstrong, D.V., Huber, J.T., Hunter, R. and Wiersma, F.: Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. J. Dairy Sci. **71**: 2480-2485 (1988).
95. Wishart, D.F., Young, I.M.: Artificial Insemination of progesterin (SC21009) treated cattle in predetermined times: Vet. Rec. **95**: 503-508 (1974).
96. Whittier, W.D., Gwazdauskas, F.C. and McGilliard, M.L.: Prostaglandin F₂ α usage in a dairy reproduction program for treatment of unobserved estrus, pyometra and ovarian luteal cysts. Theriogenology **32**: 693-704 (1989).
97. Xie, S., Broermann, D., Nephew, K., Ottobre, J., Day, M. and Pope, W.: Changes in follicular endocrinology during final maturation of porcine oocytes. Domestic Anim. Endoc. **7**: 75-82, (1990)
98. Zarco, L.: Desarrollo folicular en el momento del tratamiento con prostaglandina F₂ α en el ganado Holstein y su influencia sobre el tiempo que transcurre hasta el inicio del estro y la fertilidad del mismo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. N. A. M., D.F. (1981).
99. Zarco, L., Stabenfeldt, G.H., Kindahl, H., Quirke, J.F. and Granstrom, E.: Persistence of luteal activity in the non-pregnant ewe. Anim. Reprod. Sci. **7**: 245-267 (1984).
100. Zarco, L., Morán, E. y Galina, C.S.: Influencia del desarrollo folicular sobre la respuesta al tratamiento con prostaglandina F₂ α en ganado Holstein. Memorias Reunión de Investigación Pecuaria en México, pp. 185 (1985).
101. Zarco, L., Stabenfeldt, G.H., Quirke, J.F., Kindahl, H. and Bradford, G.E.: Release of prostaglandin F₂ alfa and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. J. Reprod. Fert. **83**: 517-526 (1988).
102. Zarco, Q.L.: Factores que afectan los resultados de la inseminación artificial en el bovino lechero. Vet. Méx. **21**: 235-240 (1990).