

01665



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNICA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON  
GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA Y  
NORGESTOMET SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE  
LA FASE LÚTEA EN VACAS Y NOVILLONAS CEBÚ  
EN EL TRÓPICO HÚMEDO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A :**

**SÁNCHEZ MUÑOZ JOSÉ BERNARDO**

**ASESORES: MPA. HECTOR BASURTO CAMBEROS  
PhD. CARLOS GALINA HIDALGO**



México, D.F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS

### A DIOS

Por haberme permitido alcanzar una meta mas en mi vida que sin lugar a dudas a servido para encontrarme una vez mas con el amor de mi vida, mi familia. Gracias Señor por esta oportunidad y permitirme llegar a este momento.

Al CONACyT por la beca otorgada para la realización de esta maestría y al sistema de investigación del golfo (SIGOLFO) por el financiamiento del proyecto “Efecto combinado de la edad al destete del becerro y sincronización del estro sobre el anestro posparto y eficiencia reproductiva en vacas Brahman en amamantamiento restringido en el trópico húmedo” (clave: 97-01-015) del cual formó parte este trabajo.

A los miembros del jurado Dr. Alejandro Villa Godoy, Dr. Joel Hernández Cerón, y en especial a la Dra. Teresa Sánchez Torres Esqueda por los comentarios, orientaciones y sugerencias vertidas para enriquecer este trabajo

A Dr. Pedro Ochoa Galván por su desinteresado apoyo en la asesoría para realizar el análisis estadístico.

A toda mi familia en especial a Irene y a mi sobrino Ricardo por apoyarme siempre y compartir con ustedes un poco de amor.

Al personal de campo del módulo de producción de vaquillas F1 “La Soledad” por su amistad y apoyo incondicional para la realización del trabajo de campo.

A todo el personal académico de CEIEGT por su apoyo, consejos, orientaciones y vivencias compartidas.

A mi Asesor y amigo MVZ MPA. Hector Basurto Camberos a quien debo en gran parte la realización de este trabajo, gracias por haberme brindado tu confianza y amistad.

A mi tutor y asesor PhD. Carlos Galina Hidalgo por sus orientaciones y tiempo dedicado a la revisión y conclusión de este trabajo.

## DEDICATORIAS

A MIS PADRES: **Guadalupe Muñoz García (+) y Benjamín Sánchez Crespo**

Porque han sido ellos un ejemplo de amor, trabajo y sacrificios y por haber forjado en mi ese espíritu de lucha y dedicación. Su recuerdo y enseñanzas por siempre me acompañarán.

A mi esposa **Maye** por el incalculable amor que siempre me ha dado y el apoyo, sacrificios y desvelos que ha tenido siempre para mis mas grandes tesoros, mis hijos. Te amo mi negrita por haber compartido conmigo tantos y tantos momentos de alegría, tristezas y este gran sentimiento nuestro amor. (el amor no es un simple sentimiento es una decisión es una acción.... eres tu).

A mis hijos **Mariela Carolina, Christian Bernardo y Karina Guadalupe** quienes siempre han sido la razón de mi existir por ellos y por los momentos de amor y alegría que siempre me han dado.

## CONTENIDO

	Página
Agradecimientos	I
Dedicatorias	II
<b>RESUMEN</b>	III
<b>I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	1
<b>II. REVISIONE DE LITERATURA</b>	
4	
2.1 Endocrinología del posparto	4
2.2 Inducción de la actividad ovárica	7
2.3 características de la Gonadotropina Coriónica equina (eCG) su uso en la reproducción	6
2.4 Condición corporal y reproducción	13
2.5 Formación, mantenimiento y regresión del cuerpo lúteo	16
<b>III. EXPERIMENTO I</b>	
Efecto de la Gonadotropina Coriónica equina y Norgestomet mas Valerato de Estradiol sobre las características de la fase lútea en vacas cebú posparto en el trópico húmedo	23
<b>INTRODUCCIÓN</b>	23
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	25
Localización	25
Manejo	25
Animales y Diseño Experimental	25
Análisis estadístico	28
<b>RESULTADOS</b>	30
<b>DISCUSIÓN</b>	40
<b>CONCLUSIONES</b>	50
<b>IV. EXPERIMENTO II</b>	
Efecto del Norgestomet aplicado en diferentes etapas del ciclo estral sobre la Concentración de progesterona y la duración de la fase lútea en novillonas Cebú Gyr en el Trópico Húmedo	51
<b>INTRODUCCIÓN</b>	51
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	54
Localización	54
Manejo	54
Animales y Diseño Experimental	54
Análisis estadístico	56
<b>RESULTADOS</b>	57
<b>DISCUSIÓN</b>	63
<b>CONCLUSIONES</b>	69
<b>V. LITERATURA CITADA</b>	70

## **LISTA DE CUADROS**

- Cuadro 1.** Inducción del estro y ovulación en respuesta al tratamiento hormonal
- Cuadro 2.** Tiempo de presentación del estro sincronizado en respuesta al tratamiento hormonal
- Cuadro 3.** Efecto del tamaño del folículo al inicio del tratamiento sobre la presentación del estro
- Cuadro 4.** Efecto del tipo de amamantamiento sobre la presentación del estro
- Cuadro 5.** Efecto de la condición corporal al tratamiento (CCT) sobre la presentación del estro.
- Cuadro 6.** Tiempo de presentación del estro sincronizado por efecto del tratamiento hormonal y tipo de amamantamiento.
- Cuadro 7.** Concentración de progesterona durante el ciclo por tratamiento hormonal
- Cuadro 8.** Efecto del tratamiento hormonal sobre la duración de la fase lútea y del ciclo estral.
- Cuadro 9.** Interacción tratamiento hormonal y tipo de amamantamiento sobre la duración del ciclo estral.
- Cuadro 10.** Efecto del tipo de amamantamiento sobre la tasa de fertilidad y tasa de gestación.
- Cuadro 11.** Tasa de fertilidad (TF) y tasa de gestación (TG) obtenida según escala de condición corporal al tratamiento (CCT).

### **EXPERIMENTO II.**

- Cuadro 1.** Efecto de la aplicación del norgestomet en diferentes días del ciclo estral sobre la presentación del estro y el tiempo de presentación post-tratamiento.
- Cuadro 2.** Efecto del día de aplicación del norgestomet sobre la duración de la fase lútea y el ciclo estral.
- Cuadro 3.** Aplicación del norgestomet en diferentes días del ciclo estral y su efecto sobre la concentración de progesterona.

## LISTA DE FIGURAS

### Experimento I

**Figura 1.** Efecto del tipo de amamantamiento sobre la ganancia de peso desde el parto al destete.

**Figura 2.** Efecto del tipo de amamantamiento sobre la variación de la condición corporal desde el parto hasta el destete.

### Experimento II

**Figura 1.** Efecto del día de aplicación del tratamiento sobre la presentación del estro.

**Figura 2.** Niveles de progesterona por día de muestreo.

**Figura 3.** Efecto de la aplicación del norgestomet sobre la concentración de progesterona por día de muestreo.

**Figura 4** Niveles de progesterona antes y después del tratamiento por día del ciclo.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Cuadro de ANDEVA para mediciones repetidas de progesterona mediante un modelo de Split –Plot.

**Anexo 2.** Esquema de inducción del estro, determinación de progesterona y ultrasonografía experimento I.

**Anexo 3.** Esquema de sincronización del estro, determinación de progesterona y ultrasonografía experimento II (Fase I).

**Anexo 4.** Esquema de sincronización del estro, determinación de progesteron y ultrasonografía experimento II (fase II).



## RESUMEN

**Sánchez Muñoz Bernardo:** EFECTO DEL TRATAMIENTO CON GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA Y NORGESTOMET SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FASE LÚTEA EN VACAS Y NOVILLONAS CEBÚ EN EL TRÓPICO HÚMEDO. (Asesores: MVZ. MPA. Hector Basurto Camberos, PhD. Carlos Galina Hidalgo).

Con el objetivo de determinar si en vacas en anestro se reducen las concentraciones de progesterona y la duración de la fase lútea cuando son inducidas al estro y a la ovulación utilizando Gonadotropina Coriónica equina (eCG) y norgestomet mas valerato de estradiol (NG + VE), 51 vacas cebú Brahman (Experimento I) con 51 días posparto promedio, fueron asignadas al azar en un diseño factorial de 3 x 3, a uno de tres manejos del amamantamiento; restringido y destete a los 60 días (ARD60), restringido y destete a los 180 días (ARD180) y continuo con destete a los 180 días (ACD180), y a uno de 3 tratamientos hormonales; eCG (T1), eCG + NG + VE (T2) y NG (T3). Las vacas del T1 (n=18) recibieron 250 UI de eCG, a los grupos T2 (n=15) y T3 (n=18) se les aplicó un implante auricular (9 días) con 3 mg de norgestomet mas 2 ml de una solución inyectable con 3 mg de norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol al momento de la inserción, recibiendo además el T3 250 UI de eCG al retiro del implante. La detección de estros se realizó durante 100 horas continuas a partir del fin de los tratamientos. Los ovarios fueron monitoreados por ultrasonografía el día del inicio del tratamiento para determinar el efecto del tamaño del folículo sobre la respuesta al tratamiento hormonal. La determinación de progesterona se realizó por radioinmunoanálisis en fase sólida para lo cual se obtuvieron muestras de sangre dos veces por semana durante tres semanas a partir del fin del tratamiento. Los resultados fueron analizados por ANOVA para muestras repetidas de progesterona, las variables discretas fueron analizadas por  $\chi^2$ . Se observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en cuanto al porcentaje de presentación del estro que fue del 33.3%, 80.3% y 83.3%, no existiendo diferencia ( $P > 0.05$ ) en las concentraciones de progesterona  $1.78 \pm 0.38$ ,  $3.30 \pm 0.42$ ,  $2.59 \pm 0.47$  ng/ml, pero si para la duración de la fase lútea ( $P < 0.05$ ) que fue de 10.8, 14.1 y 15.2 días para el T1, T2 y T3 respectivamente.

Un segundo experimento se realizó con el objetivo de determinar el efecto de la aplicación del norgestomet en la fase temprana (con CL) y tardía (sin CL) del ciclo estral sobre la concentración de progesterona y la duración de la fase lútea. Se utilizaron 18 novillonas cebú Gyr (*Bos indicus*) ciclando, con un peso promedio de 350 kg. Los animales fueron previamente sincronizados con el propósito de unificar al grupo en la misma etapa del ciclo estral, una vez presentado el celo natural se formaron al azar cuatro grupos: grupo I (n=5) se le aplicó un implante de norgestomet (3 mg) subcutáneamente en la parte externa de la oreja, en el día 0 (día del estro), el grupo II (n=5), III (n=4) y IV (n=4) recibieron el mismo tratamiento al día 5, 10, 15 del ciclo respectivamente, en todos los grupos el implante se retiró 9 días después. Se colectaron muestras de sangre dos veces por semana durante 3 semanas antes, durante y al final del tratamiento para cuantificar los niveles de progesterona por medio de un radioinmunoanálisis en fase sólida. Se consideró un cuerpo lúteo funcional cuando las concentraciones de  $P_4$  fueron  $>$  a 1ng/ml y la duración de la

fase lútea se determinó considerando los días en que los niveles de  $P_4$  fueran  $> 1$  ng/ml. Los resultados se analizaron mediante ANOVA por split-plot para muestras repetidas de progesterona, la determinación de diferencias entre medias por día de muestreo se calculó mediante la prueba de Tukey y para la variable discreta presentación del estro se utilizó  $Ji^2$ . No se observó efecto sobre la concentración de progesterona entre los grupos tratados el día 0, 5, 10 y 15 del ciclo, al compararlos con el ciclo previo al tratamiento y un ciclo después ( $P > 0.05$ ), pero sí sobre el día del ciclo en el que los niveles de progesterona disminuyeron a menos de 1 ng/ml ( $P < 0.03$ ) siendo menor para los animales del grupo I, así mismo se observó una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en cuanto a la duración de la fase lútea del siguiente ciclo ( $10.2 \pm 1.3$  días) en los animales del grupo I, con respecto a los del grupo II, III y IV en donde se observaron valores de  $13.2 \pm 1.5$ ,  $14.2 \pm 1.7$  y  $17.3 \pm 1.5$  días respectivamente. Se concluye que las evidencias encontradas en el presente trabajo de investigación permiten decir que el tratamiento con eCG utilizado para la inducción del estro en vacas cebú posparto y la aplicación de norgestomet durante la fase temprana de formación del CL afectan la duración de la fase lútea pero no las concentraciones de progesterona, lo que conllevaría implicaciones sobre la fertilidad en vacas que son inseminadas después del estro sincronizado

**Palabras clave:** Fase Lútea, Progesterona, eCG, Norgestomet, Cebú

**Bernardo Sánchez Muñoz:** Effect of the treatment with Equine gonadotrophin and norgestomet on the characteristics of the luteal phase in Zebu cattle in the humid tropics of Mexico. (tutors MVZ. MPA. Hector Basurto Camberos, PhD. Carlos Galina Hidalgo).

### Abstract

With the objective of determining if cows in anoestrous following estrous induction decreased the progesterone concentrations and the duration of the luteal phase following Equine gonadotrophin (eCG) and norgestomet and estradiol valerate (NG + VE), 51 Brahman cows (Experiment I) with an average of 51 days postpartum, were assigned at random in a 3 x 3 factorial design to one of three treatments 1. Restricted suckling with weaning at 60 days (ARD60), 2. Restricted suckling with weaning at 180 days (ARD180) and 3. continuous suckling with weaning at 180 days (ACD180). Also, to one of three hormonal treatments; eCG (T1), eCG + NG + VE (T2) and NG (T3). The cows of the T1 (n=18) were given 250 UI of eCG, in the case of groups T2 (n=15) and T3 (n=18) an implant containing three mg of norgestomet was placed for 9 days in the ear. Also, a 2 ml injection containing 3mg of norgestomet and 5 mg of estradiol valerate was given at the moment of the insert. Furthermore, cows in treatment 3 received 250 UI of eCG at the moment of implant withdrawal. Estrous behavior was monitored continuously for 100 hours starting from the end of the treatments. The ovaries were scanned using ultrasonography the day of the beginning of the treatment to determine the effect of the size of the follicle on the response to the hormonal treatment. Progesterone was determined using solid phase radioimmunoassay from blood samples obtained twice per week during three weeks starting from the end of treatment. The results were analyzed by ANOVA for repeated samples of progesterone, the discrete variables were analyzed by  $J_i^2$ . Estrus was observed in 33.3%, 80.3% and 83.3% for the three treatments respectively, ( $P > 0.05$ ). Average progesterone concentrations was non-significantly different ( $1.78 \pm 0.38$ ,  $3.30 \pm 0.42$ ,  $2.59 \pm 0.47$  ng/ml) however the duration of the luteal phase was different 10.8, 14.1 and 15.2 days for T1, T2 and T3 ( $P < 0.05$ ).

A second experiment was carried out with the objective of determining the effect of the application of norgestomet in the early phase (with CL) and late (without CL) of the cycle on the progesterone concentrations and the duration of the luteal phase. To this effect, 18 Gyr heifers were used. All of them were cycling prior to treatment with an average weight of 350 kg. The animals were previously synchronized with the purpose of unifying the group to the same stage of the cycle. Once estrus was observed, four groups were formed, the first (n=5) an implant of norgestomet (3 mg) was placed subcutaneously in the external part of the ear, at day 0 (day of estrus), Group II (n=5), III (n=4) and IV (n=4) received the same treatment a day 5, 10, 15 of the cycle respectively, in all the groups the implants was removed nine days later. Blood samples were collected twice before treatment and for 6 weeks to determine progesterone levels using solid phase radioimmunoassay. The presence of a CL was determined when two samples were above 1ng/ml. The length of the luteal phase was determined based on the number of days with progesterone levels above 1 ng/ml.

Results were analyzed using ANOVA and a split-plot for repeated samples of progesterone. The determination of differences for the days of sampling was calculated using Tukey for the discrete variable of estrous response a  $J_i^2$  test was used. There was no effect over the concentration of progesterone between the treated groups on day 0, 5, 10 and 15 of the cycle when compared to the previous cycle and the following cycle after treatment ( $P > 0.05$ ). However, it was an effect on the day of the cycle in where the progesterone concentrations were below 1ng/ml ( $P < 0.03$ ) being smaller for the animals of the group I, likewise a significant difference was observed ( $P < 0.05$ ) for the duration of the luteal phase on the following cycle ( $10.2 \pm 1.3$  days) for the animals in group I, compared to those in group II, III and IV corresponding values were  $13.2 \pm 1.5$ ,  $14.2 \pm 1.7$  and  $17.3 \pm 1.5$  days respectively. It is concluded that the evidence obtained in the present research is conclusive to ascertain that the treatment with Equine gonadotrophin utilized in the protocol and when the norgestomet is applied at the early stages of CL formation affects the duration of the luteal phase, however progesterone concentrations is not affected in the experimental cattle. This finding suggests a possible implication in the fertility of cows inseminated following estrous synchronization.

**Key Words:** Luteal phase, Progesterone, eCG, Norgestomet, Zebu.

# EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA Y NORGESTOMET SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FASE LÚTEA EN VACAS Y NOVILLONAS CEBÚ EN EL TRÓPICO HÚMEDO

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

A pesar de la adaptabilidad del ganado cebú (*Bos indicus*) a las condiciones ambientales y nutricionales que prevalecen en las regiones tropicales, el largo periodo de inactividad ovárica posparto en las vacas representa uno de los principales obstáculos para mejorar la eficiencia reproductiva de los hatos productores de carne en estas regiones (Fallas, 1987; Galina and Arthur 1989; Fuentes *et al.*, 1998).

Algunas medidas consideradas para reducir el anestro posparto y la infertilidad se basan en mejorar las practicas nutricionales, sistemas de amamantamiento, manejo posparto y estimulación hormonal entre otras, (Fuentes *et al.*, 1988; Anta *et al.*, 1989; Williams 1990; Soto 1997). Por otro lado para inducir el celo y la ovulación posparto se han utilizado compuestos hormonales basado en progestágenos, (Macmillan and Peterson 1993; Zarco y Hernández 1997; Macmillan and Burke 1996; Cavalieri *et al.*, 1998) análogos de factor liberador de gonadotropinas (GnRH) y gonadotropinas placentarias en combinación con diferentes métodos de control del amamantamiento (Ramírez *et al.*, 1996; Twagiramungu *et al.*, 1995; Helmer and Britt 1987). El uso de estas sustancias hormonales puede ser efectivo en la inducción del estro y la ovulación, pero es posible que la actividad ovárica no se mantenga o bien la tasa de fertilidad al primer servicio postratamiento sea baja (Hunter, 1991) esto se atribuye entre otras causas a trastornos en el transporte de gametos, (Hafez, 1996; John *et al.*, 1999) ovulación de folículos dominantes con ovocitos degenerados, estros anovulatorios, duración, presencia o ausencia de folículos al momento del tratamiento y más recientemente se ha establecido la posibilidad de explicar que la estimulación inducida por diferentes tratamientos hormonales afecta la duración de la siguiente fase lútea (Garverick *et al.*, 1992) caracterizada por la presencia de un cuerpo luteo (CL) de vida corta, lo que originaría una rápida caída de los niveles de progesterona, menor fertilidad y como consecuencia la repetición del estro. Esto es contrario a lo

observado en vacas con fases lúteas normales en donde se muestran elevadas concentraciones de progesterona y mayor fertilidad (Smith *et al.*, 1994; Yusoff, 1994).

En un ciclo estral normal la fase lútea comprende del día 4-5 al 16-17 (Smith *et al.*, 1994) periodo en el cual el CL secreta progesterona en niveles mayores a 1 ng/ml, alcanzando su mayor concentración hacia el día 8-10 en concordancia con el mayor desarrollo del CL.

En la vaca existen varias condiciones fisiológicas en las cuales se presentan fases lúteas de corta duración debido a la regresión prematura del CL observándose éstas en la primera ovulación puberal y en la primera ovulación posparto (Calderón *et al.*, 1998). Niswender *et al.* (1994) mencionan que un cuerpo lúteo de vida corta se caracteriza por provocar elevaciones transitorias de progesterona que rara vez llegan a ser mayores de 1 ng/ml y su regresión ocurre 5-6 días después de la ovulación.

En cuanto a la etiología del CL de vida corta existen dos teorías que postulan que por un lado estos son resultado de la ovulación de un folículo inmaduro que se desarrollo en un ambiente hormonal inadecuado y por el otro que los CL de vida corta son normales y que su regresión prematura obedece a la liberación anticipada de prostaglandina F<sub>2</sub> alfa (PGF<sub>2α</sub>) (Garverick *et al.*, 1992; Niswender *et al.*, 1994; Hernández, 1997). Sin embargo, Hunter, (1991) encontró que folículos que dieron origen a CL de vida corta presentan menor actividad esteroidogénica y menor número de receptores para la hormona luteinizante (LH) que cuando son de duración normal. Así mismo Ramírez-Godinez *et al.* (1981) encontraron niveles menores de hormona folículo estimulante (FSH) 4 días antes de la ovulación en vacas que desarrollaron CL de vida corta.

Se han observado variaciones en la duración de la fase lútea en aquellos animales en los que se ha inducido la actividad ovárica posparto utilizando diferentes productos hormonales, así estudios realizados por García-Winder *et al.* (1986), e Inskeep *et al.* (1995) observaron que vacas en anestro posparto tratadas con norgestomet presentaron un incremento en la secreción pre ovulatoria de LH acompañada de un CL normal comparativamente con vacas no tratadas.

Sheffel *et al.* (1982) mencionan que en vacas posparto, la administración de progestágenos antes de Gonadotropina Coriónica humana (hCG) indujo el estro en el 75%

de los animales tratados y el 88% formaron un CL de vida normal, cuando se administró hCG la vida media fue de 19.6 días en comparación con vacas tratadas únicamente con Gonadotropina Coriónica equina (eCG) antes Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (PMSG) en donde solo fue de 13.4 días.

Hampton *et al.* (1999) observaron que la administración de progestágenos en etapas tempranas del ciclo estral en hembras ciclando induce una regresión prematura del CL por liberación anticipada de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  desde el útero.

Burns *et al.* (1993) al analizar el efecto de la administración de Norgestomet en vacas durante los días 9-14 del ciclo, observaron la presencia de un CL de menor tamaño y menores concentraciones de progesterona, en comparación con vacas sin tratamiento. Lo anterior demuestra que tanto el uso del factor liberador de gonadotropinas (GnRH) y de gonadotropinas placentarias afecta la concentración de progesterona y la duración de la fase lútea.

Existen pocas evidencias en ganado cebú que expliquen si la baja fertilidad observada posterior a la inducción y sincronización del estro se deba a la variación en la duración y concentración de progesterona de la fase lútea que se presenta en respuesta a los diferentes tratamientos empleados.

## **OBJETIVO GENERAL.**

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar si la aplicación de Gonadotropina Coriónica equina y norgestomet mas valerato de estradiol en hembras anéstricas, y la aplicación de norgestomet en diferentes etapas del ciclo en novillonas afectan las concentraciones de progesterona y las características de la fase lútea.

## II REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Endocrinología del posparto.

El restablecimiento de la actividad reproductiva normal en el posparto temprano ha sido descrita por varios autores (Peters y Lamming 1986; Spicer y Echtenkamp 1986; Nett, 1987) basándose esta sobre una cooperación extremadamente coordinada entre el hipotálamo, hipófisis, ovarios y el útero. Durante este periodo debe presentarse un balance coordinado entre el sistema endocrino y el sistema reproductivo; una homeostasis entre las cantidades liberadas de GnRH del hipotálamo, la FSH, hormona, LH y prolactina de la adenohipófisis, la prostaglandina del útero y los esteroides gonadales estradiol y progesterona ( $P_4$ ) (Leslie, 1983).

Diversos estudios han demostrado claramente que la LH es el factor limitante más importante para el restablecimiento temprano de la actividad ovárica después del parto, durante la preñez y alrededor del parto los altos niveles de esteroides suprimen el eje hipotálamo hipofisiario ocasionando una marcada disminución de las concentraciones de LH al momento del parto (Nett, 1987). Inmediatamente después de este, los niveles basales en plasma de FSH y LH son bajos sin la liberación episódica necesaria sin embargo, los niveles de FSH permanecen bajos únicamente por unos cuantos días antes y después del parto (Schams *et al.*, 1978), se ha observado que en la mayoría de las vacas lecheras hay un incremento 5 días después del parto por lo que no se considera que la FSH sea un factor que limite el restablecimiento de la ciclicidad ovárica después del parto (Nett, 1987) por el contrario, el incremento de los niveles plasmáticos de FSH resulta en crecimiento folicular y secreción de estradiol, el cual ejerce un estímulo de retroalimentación positiva para la liberación de LH (Lamming *et al.*, 1981) sin embargo esta liberación es de baja frecuencia y amplitud (Savio *et al.*, 1990).

El cambio endocrino más consistente que precede a la ovulación en el periodo posparto, es la presentación o incremento en la frecuencia del patrón pulsátil de secreción de LH en tal sentido, se ha sugerido que una mínima frecuencia pulsátil de LH (1 pulso/hora) es esencial para terminar el desarrollo del folículo ovárico que conduzca a la ovulación (Peters y Lamming 1984). Por otro lado el nivel de progesterona declina



rápidamente durante las últimas 48 horas antes del parto y permanece en niveles muy bajos (<0.5 ng/ml) a través del periodo posparto temprano, lo cual es consecuencia del CL de la preñez. (Leslie, 1983).

Estudios realizados por Peter y Lamming (1984) han demostrado que en cerca de un 50% de las vacas el primer ciclo de progesterona ( $P_4$ ) es de una duración menor a 10 días sugiriéndose que esta es secretada por un folículo luteinizado que no llega a ovular o por un cuerpo lúteo normal que presenta un insuficiente número de receptores de LH para responder de manera máxima al estímulo luteotrófico, una tercera probabilidad es que se produzca un insuficiente estímulo luteotrófico para mantener el cuerpo lúteo por el periodo normal de su vida media (Leslie, 1983).

Todos estos cambios ocurren de manera concurrente y se ha estimado que la recuperación gradual del mecanismo de retroalimentación positiva del ciclo ovárico puede comenzar dos semanas después del parto (Peter y Lamming 1984).

Por otro lado se ha tratado de explicar las interrelaciones y el control endocrino que se presenta durante el desarrollo normal del posparto:

1. - La concentración plasmática de GnRH inmediatamente después del parto se encuentra en bajas cantidades, y la frecuencia con que es secretada es inadecuada para estimular una liberación de gonadotropinas e inducir la ciclicidad ovárica.

2. - La concentración de FSH aumenta inmediatamente después del parto, estimulando el desarrollo folicular, sin embargo una correlación negativa ha sido observada entre el anestro posparto y la concentración plasmática de FSH:

3. - El incremento gradual en la frecuencia de los pulsos y concentración plasmática de LH, estimulan un desarrollo folicular y el consecuente retorno a la ciclicidad ovárica.

4. - El desarrollo folicular parece ser modulado mayormente por la secreción de FSH, y con esto el inicio de secreción de estradiol y de inhibina lo que ocasiona una recuperación gradual del mecanismo de retroalimentación positiva que regula los ciclos ováricos entre la segunda y tercera semana posparto (Peter y Lamming 1984).

Estudios realizados por Lamming *et al.* (1981) y Williams, (1990) han demostrado que existe una menor descarga de LH en respuesta a la GnRH en vacas que amamantan en comparación con vacas que son ordeñadas, esto demuestra que el amamantamiento

disminuye el efecto del GnRH sobre la estimulación de la producción de LH por las células hipofisarias, demostrándose la mediación del eje hipotálamo hipofisario y el efecto de amamantamiento sobre la actividad reproductiva posparto.

Peters y Lamming (1984) sugieren que el eje ovarico - uterino ejerce un efecto inhibitorio sobre la secreción hipofisaria de LH durante el posparto temprano, ya que luego de la histerectomía experimental se observa un rápido incremento en la concentración de gonadotropina en el plasma.

Los cambios en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas pueden ser estimulados por la intervención en la respuesta pituitaria a la estimulación de la GnRH en el posparto temprano. Al parecer la pituitaria aumenta la capacidad de máxima respuesta hacia el día 20-30 posparto (Williams, 1990). Los patrones de secreción basal de LH y FSH están caracterizados por una discontinua y rítmica liberación de ambas gonadotropinas, las cuales a su vez son controladas por un mecanismo de retroalimentación negativo de los esteroides ováricos progesterona y estradiol.

En un estudio realizado por Peters y Lamming (1986) en ganado de carne encontraron que si existe una liberación temprana de LH durante el posparto se logra un retorno rápido a la actividad ovárica lo cual indica que una liberación pulsátil pero deficiente de GnRH durante el posparto temprano, contribuye grandemente al deterioro de los ciclos ováricos y consecuentemente al mantenimiento del anestro. Se ha sugerido que el ovario regula la secreción de LH en el bovino, siendo el estradiol el encargado de inducir la liberación de niveles preovulatorios de LH y FSH, seguidos de una fase lútea, no obstante como se ha mencionado la FSH no se considera un factor limitante para el retorno a la actividad ovárica y se ha observado la interacción importante con factores intraováricos que interactúan con las gonadotropinas.

Los esteroides ováricos tienen función de agentes autocrinos, al actuar sobre las células que los producen, como agentes paracrinos, al influir sobre las células adyacentes y como agentes endocrinos clásicos, transportándose vía sanguínea a las células blanco distantes (Murphy y Pescador, 1997).

Posterior al parto, la concentración de progesterona circulante y la tasa de excreción urinaria de estrógenos disminuye, se producen fluctuaciones en las concentraciones de

progesterona y  $17\beta$ -estradiol, asociadas con las ondas de crecimiento folicular y el desarrollo del CL seguido de la primera ovulación (Garverick y Smith 1993).

Con la disminución en los niveles de estradiol se estimula la restauración de la sensibilidad pituitaria a la GnRH y se incrementa a su vez la liberación de GnRH, con aumento en la frecuencia y amplitud de LH, asimismo se estimula la actividad de los folículos ováricos produciendo un incremento de la secreción de estradiol, con aumento de la respuesta hipofisiaria a la GnRH.

En resumen, se ha sugerido que el desarrollo folicular posparto puede ser iniciado por la secreción de FSH en conjunto con la LH produciendo un estímulo sobre la liberación de  $17\beta$ - estradiol, estableciéndose el patrón de secreción de FSH y LH que desencadenaran el crecimiento folicular con la consecuente ovulación y la formación del primer cuerpo lúteo posparto.

## **2.2 Inducción de la actividad ovárica.**

Han sido publicados diferentes métodos para la inducción, sincronización del estro y la ovulación (Patterson *et al.*, 1989; Odde, 1990; Larson y Ball 1992, Beal, 1998; Ryan *et al.*, 1999 y Patterson *et al.*, 2000) en donde se pone de manifiesto la variación en los tratamientos empleados así como la evolución en el conocimiento de la fisiología reproductiva. Patterson *et al.*, (2000) mencionan que son cinco fases o periodos de evolución de los métodos para el control del ciclo estral en la vaca, la primer fase se caracterizó por la prolongación de la fase lútea del ciclo estral o por el establecimiento de una fase lútea artificial por la administración de progestágenos o progesterona exógena. Posteriormente en una segunda fase los agentes progestacionales fueron combinados con estrógenos y gonadotropinas, en tanto la fase tres incluyó el uso de prostaglandinas y sus análogos como agentes luteolíticos. Así mismo tratamientos con progestágenos combinados con prostaglandinas caracterizaron la cuarta fase. Investigaciones recientes empleando la ultrasonografía para conocer la dinámica folicular y el desarrollo del cuerpo lúteo han extendido el conocimiento del ciclo estral bovino y particularmente el recambio folicular que ocurre durante las ondas foliculares, por lo que ahora se conoce que el control del ciclo estral requiere de la manipulación de las ondas foliculares y de la fase lútea.

Se sabe que para lograr una mayor precisión en la sincronización e inducción del estro, se debe considerar el grado de desarrollo del folículo dominante al finalizar el tratamiento con progesterona o progestágenos o durante la luteólisis inducida usando  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Adams, 1994) si se desea tener un ovocito competente. Esta situación ha sido motivo de extensas investigaciones en donde se ha tratado de demostrar que la utilización de  $\text{P}_4$  y estradiol en concentraciones altas al inicio del tratamiento suprimen a la FSH y LH haciendo que el folículo subordinado no se seleccione o que el folículo sufra atresia suprimiéndose esta dominancia e iniciando la emergencia de una nueva onda folicular de 3 a 5 días después. El estradiol aplicado al inicio del tratamiento tiene un efecto luteolítico (Bo *et al.*, 1996) sin embargo, cuando este se aplica en el diestro tardío es menos efectivo pues la luteólisis ocurre espontáneamente 48-72 horas del inicio del tratamiento reduciéndose drásticamente los niveles de progesterona por el efecto sinérgico de  $\text{P}_4$  y estradiol sobre el control en la liberación de LH pudiéndose ocasionar la permanencia del folículo dominante (Burke *et al.*, 1996; Bergfeld *et al.*, 1996), si el implante es mantenido por 9 días, la inyección es necesaria para inducir la regresión del cuerpo lúteo en vacas durante la primera mitad del ciclo estral, al respecto Thatcher *et al.* (1986) reportaron picos de 15-keto -13,14-dihydro-prostaglandina  $\text{F}_{2\alpha}$  (PGFM) después de iniciada la luteólisis concluyendo que esta es iniciada por provocar una liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  desde el útero.

En todo tratamiento hormonal tendiente a inducir el estro durante el posparto, es necesario considerar una exposición previa a progesterona para que el eje hipotálamo-hipofisiario desencadene los eventos hormonales que permiten que ocurra la ovulación (Dimminck *et al.*, 1991) se ha observado que en la primera ovulación posparto, así como en novillonas prepúberes, se presentan fases lúteas cortas sin manifestaciones externas de celo, por lo que bajo estas circunstancias el objetivo de utilizar progesterona es el de preparar al hipotálamo y al útero para lograr una ovulación acompañada de una fase lútea normal (Breuel *et al.*, 1993).

El Crestar (Norgestomet mas valerato de estradiol) es un procedimiento comercialmente utilizado tanto para la inducción como la sincronización del estro en ganado de leche como de carne. El procedimiento consiste en un implante de norgestomet y una inyección intramuscular que contiene norgestomet y valerato de estradiol

administrado al tiempo del retiro del implante. Se conocen tres mecanismos de acción de los productos que contienen estos principios; el primero es la supresión del estro que se logra por la difusión del norgestomet desde el implante que permanece durante 9 días (Kesler and Favero 1995). Segundo, la inyección causa la atresia del folículo antral y el reclutamiento de una nueva onda de folículos ováricos 4 a 5 días después de la administración (Vasconcelos *et al.*, 1994). Tercera, la inyección causa regresión del cuerpo lúteo (Kesler and Favero 1995). El implante permanece durante 9 días y la inyección es necesaria para inducir la regresión del cuerpo lúteo en vacas durante la primera mitad del ciclo siendo el valerato de estradiol que acompaña a la inyección el responsable de la regresión (Thatcher *et al.*, 1986). Sin embargo estudios realizados por Kojima *et al.*, (1992) han demostrado que la progesterona y el norgestomet a dosis usadas para la sincronización del estro, no imita eficientemente la función de la progesterona del cuerpo lúteo en cuanto a la inhibición en la secreción de LH lo que trae como consecuencia la permanencia de un folículo persistente y un incremento de los niveles de  $17\beta$  estradiol (Roberson *et al.*, 1989). Por el contrario se ha demostrado que el tratamiento con dosis altas de progesterona reduce la secreción de LH y el  $17\beta$  estradiol circulante (Bergfeld *et al.*, 1996).

### **2.3 Características de la Gonadotropina Coriónica equina (eCG) y su uso en la reproducción.**

La eCG ha sido utilizada en la reproducción básicamente para tres funciones; inducir el desarrollo folicular en hembras que son superovuladas, inducir el desarrollo folicular en hembras ovinas y bovinas en anestro e incrementar la tasa ovulatoria (Roser, 1999).

Los primeros reportes sobre el origen de la eCG se pensaba eran las células del epitelio coriónico en la placenta, llegándose posteriormente a determinar su origen trofoblástico y producción por las copas endometriales (Walker-Farmer y Popkoff 1979).

La eCG es detectada en yeguas gestantes alrededor del día 55 a 65 y desaparece de la circulación hacia los días 120 a 150 (Hafez, 1996). Esta hormona se secreta de manera tónica y no es regulada a través de mecanismos hormonales de retroalimentación como las gonadotropinas de origen hipofisiario (Thompson *et al.*, 1982).

La gonadotropina coriónica equina es un miembro de la familia de glucoproteínas en donde se incluyen la FSH, LH y la hormona estimulante de la tiroides. Una molécula de eCG esta constituida de dos subunidades glicosiladas diferentes llamadas  $\alpha$  y  $\beta$  unidas no covalentemente (Ungerfeld, 1995). La subunidad  $\alpha$  está compuesta de 96 amino ácidos y es idéntica a la de otras glicoproteínas, mientras que la subunidad  $\beta$  está constituida de 149 amino ácidos, tiene la misma estructura primaria que la LH equina y es en esta fracción en donde radica la especificidad biológica (Cupps, 1991) De las hormonas glicoprotéicas provenientes de diferentes especies la eCG se diferencia de las demás por su alto contenido de ácido siálico, mismo que determina la vida media de la molécula (Morell *et al.* , 1971). Como ocurre con otras glicoproteínas (LH y FSH ) se han observado distintas formas de eCG de acuerdo a cambios fisiológicos, existiendo diferencias en cuanto a sus propiedades químicas, biológicas e inmunológicas dadas estas por su composición de carbohidratos y aminoácidos (Aggarwal *et al.*, 1980).

En las preparaciones comerciales los procedimientos de purificación y extracción pueden eliminar parcialmente los carbohidratos, explicándose parte de la variabilidad que existe en la actividad biológica de los diferentes lotes y productos disponibles (Cupps, 1991).

La eCG es eliminada de la circulación a través de la captación por los receptores calcio dependiente de las células parenquimatosas del hígado una vez que ha perdido el ácido siálico (McIntosh *et al.*, 1975). La eCG también se excreta aunque en cantidades mínimas en la orina.

### **Mecanismo de acción.**

La importancia de las gonadotropinas en el crecimiento folicular depende de la fase de desarrollo en la que se encuentren los folículos (McNeilly *et al.*, 1991), el reclutamiento y desarrollo de folículos antrales en la vaca depende de la FSH, siendo necesaria una combinación de FSH y LH para lograr la ovulación de un folículo dominante (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

Se ha encontrado que las gonadotropinas exógenas como la eCG tienen una actividad mixta de FSH y LH actuando principalmente a través de su actividad FSH para incrementar el tamaño del folículo y la tasa de ovulación. En la vaca la eCG actúa como

agente superovulatorio aumentando el número de folículos primordiales que entran en la fase de crecimiento protegiendo a los folículos antrales de sufrir atresia (Moor *et al.*, 1984) aumentando el índice mitótico de las células de la granulosa de los folículos preantrales y de este modo la tasa de crecimiento (Driancourt y Fry 1992). Así, la gonadotropina moviliza los folículos más pequeños que se encuentran presentes en vacas en anestro posparto y que no llegan a crecer por deficiencia de FSH logrando con esto un mayor número de folículos disponibles para ovular (Scaramuzzi *et al.*, 1993).

El mecanismo de acción por el cual la eCG aumenta la tasa de ovulación pudiera también concentrarse en su capacidad de activar los sistemas enzimáticos de aromatización de las células de la granulosa, aumentando la secreción de estradiol por los folículos antrales (Mc Natty *et al.*, 1982), la sensibilidad de los folículos a las gonadotropinas está dada por el número de receptores a LH y FSH presentes en las células de la granulosa y la síntesis de estos receptores está influenciada por la concentración local de hormonas esteroideas (Webb and Ingham 1982). Los estrógenos incrementan entonces la sensibilidad de las células de la granulosa a la FSH y junto con la FSH inducen la formación de receptores para LH. Así es posible que aquellos folículos en los que las células de la granulosa contengan suficientes receptores para LH puedan ovular en respuesta al pico de LH (Bair, 1992).

La vida media característica de la eCG no solo induce el desarrollo folicular y la ovulación, sino que también permite que se estimule la secreción de estradiol después de la ovulación por nuevos folículos que continúan desarrollándose, (Driancourt y Fry, 1992) esto contribuye a la presentación de efectos secundarios indeseables como son la asincronía en el desarrollo folicular, y presentación de estros poco uniformes.

#### **Variación en la respuesta a eCG.**

Existen diversos factores que contribuyen a la variación en la respuesta ovárica a los tratamientos para inducir el desarrollo folicular y la ovulación; Driancourt *et al.*, (1985) mencionan que la condición ovárica al momento de la aplicación de la hormona es un factor importante ya que tanto en animales en anestro como gestantes existen ondas de desarrollo folicular en donde pueden observarse folículos de diferente tamaño. El que no ocurran ovulaciones durante estas fases se explica por la falta de exposición previa de los

foliculos a una cantidad adecuada de gonadotropinas y a la capacidad resultante de generar el pulso preovulatorio de LH (McNeilly *et al.*, 1991), se ha observado que una buena respuesta en la manifestación del estro y la ovulación está determinado en gran parte por la presencia de foliculos que responderán al momento de la administración de gonadotropinas y el grado de estimulación depende del número, tamaño y condición de las clases foliculares. Así cuando los foliculos presentan una condición similar de maduración el estímulo dado por las gonadotropinas es seguido por la ovulación, mientras que si hay heterogeneidad, la respuesta puede caracterizarse por una asincronía en el crecimiento folicular y luteinización de los foliculos.

Estudios realizados por Driancourt (1987) en ovinos superovulados muestran una correlación positiva entre foliculos menores de 2 mm y mejor respuesta concluyendo que los ovarios libres de foliculos grandes y ricos en foliculos chicos tienen la mejor respuesta, sin embargo las diferencias microscópicas en la población folicular al momento de la administración de eCG en bovinos no se han relacionado consistentemente a la subsiguiente respuesta ovulatoria, ya que la destrucción de todos los foliculos mayores de 1 mm no alteró los resultados al utilizar eCG (Driancourt y Fry 1992).

Los cambios en la ingesta de alimento, la condición y el peso corporal también provocan variaciones en la respuesta a gonadotropinas, esto puede estar mediado por modificaciones en los niveles de FSH en sangre, alterándose el patrón de exposición de los foliculos a esta gonadotropina o por un efecto directo en el ovario, en donde nutrientes específicos como la glucosa, insulina y el IGF-I aumentan la sensibilidad de los foliculos a las gonadotropinas (Downing y Scaramuzzi. 1991).

Las preparaciones hormonales de naturaleza proteica tienen la capacidad de provocar antigenicidad. La formación de anticuerpos podría llevar a una disminución en la respuesta ovárica inducida por gonadotropinas como la eCG sin embargo existe gran controversia al comparar los resultados entre estudios (Christie *et al.*, 1979). En las vacas la administración repetida de eCG provocó una condición refractaria de la respuesta ovárica a partir de la tercera inyección, esto en vacas superovuladas no así en vacas en donde se ha utilizado la eCG para incrementar la tasa ovulatoria o la inducción del desarrollo folicular en vacas en anestro (Jaainudeen *et al.*, 1966).



La dosis empleada es otro factor que modifica la respuesta a la eCG, se ha observado que los niveles de estradiol y progesterona secretados después de la estimulación ovárica con eCG, son dependientes con la dosis administrada y del tiempo de exposición de los folículos a la gonadotropina (Evans y Robinson 1980), a mayores dosis de eCG se deprime la tasa de ovulación, se reduce la tasa de recuperación de embriones y se aumenta la incidencia de cuerpos lúteos de corta duración (Rubianes *et al.*, 1996). El uso de eCG para inducción del estro en ganado cebú ha sido reportada por Pedroso y Roller (1992) y Ahmand *et al.*, (1995) en donde se han utilizado dosis de 250, 500 y 1000 U.I. encontrándose respuestas en cuanto a la presentación del estro del 30 al 50 % observándose que la variación de los resultados depende de la condición corporal de la vaca al tratamiento, tiempo posparto y tipo de amamantamiento.

#### **2.4 Condición corporal y reproducción.**

El ambiente nutricional modifica los procesos reproductivos en la mayoría de los animales, esta modificación puede variar desde pequeños cambios en la tasa de frecuencia de ovulación cuando la dieta está por debajo de lo óptimo pero aun es adecuada, hasta la supresión del proceso reproductivo cuando las señales del ambiente son muy desfavorables.

El manejo nutricional de la reproducción en animales domésticos muchas veces ignora el hecho de que depositar y movilizar reservas corporales es una parte importante en la predicción del comportamiento reproductivo (Martin y Hunziker 1999).

Desde hace varios años la literatura científica evidencia la importancia de la condición corporal sobre la reproducción, observándose que vacas con un plano nutricional moderado presentan un óptimo comportamiento reproductivo (López y Tapanes 1994). En el trópico el problema reproductivo es mas complejo que en países templados debido a la baja disponibilidad y calidad de los recursos forrajeros y al poco o nulo uso de complementos alimenticios que normalmente no cubren los requerimientos nutricionales de los animales en pastoreo, determinando una baja condición corporal en los diferentes estados fisiológicos y durante las diferentes épocas del año (González–Stagnaro y Goicochea 1988), esta fluctuación provoca una constante variación sobre el balance de energía del animal el cual estará sometido a continuas fluctuaciones que dependen de la

relación entre el ingreso y las pérdidas de energía por lo tanto, el balance energético es el resultado neto de la asociación entre el nivel de producción, la dieta, el consumo y el uso de nutrientes por parte del animal (Villa-Godoy *et al.*, 1988). Esto, a su vez implica variabilidad en la cantidad de reservas corporales y, por tanto, en la condición corporal del animal. La evaluación de la condición corporal (CC) de los animales durante el ciclo productivo proporciona elementos que permiten dirigir y controlar el comportamiento de los principales indicadores productivos y reproductivos del rebaño así como del estado de salud, al respecto Villa-Godoy *et al.* (1990) señalan que los valores elevados de CC pueden ocasionar alteraciones en la producción de leche y en el comportamiento reproductivo en relación con valores promedio de condición y un pobre comportamiento en animales con pobre CC por lo tanto es posible inferir que la condición corporal óptima es aquella que evita o al menos minimiza los trastornos fisiológicos y productivos.

La condición corporal a pesar de ser un método subjetivo ha sido utilizada para medir el nivel de reserva corporal (grasa) o del nivel de energía de los animales (Pedroso y Bonachea 1995). Existen básicamente dos métodos para estimar la condición corporal sobre la base de una escala numérica siendo esta del 1 al 5 y más comúnmente utilizada en ganado lechero (Edmonson *et al.*, 1989) mientras que para el ganado de carne se utiliza un sistema que considera una escala de 1 a 9 (Richards *et al.*, 1989), ambas técnicas se basan en la deposición de grasa y área de cobertura de las vértebras lumbares espacios intercostales zona de la cadera, el muslo y maslo de la cola.

López (1994) encontró que las técnicas de medición de la condición corporal por palpación y observación visual, se correlacionan positivamente por lo que pueden ser consideradas como un buen indicador de la condición nutricional sin embargo, aun existen interrogantes que involucran los procesos que determinan el nivel de movilización de las reservas corporales, ya que el nivel crítico puede estar influenciado por el tipo racial, el sistema de producción y las condiciones ambientales (Pedroso y Bonachea 1995).

En vacas mantenidas en amamantamiento, uno de los factores que incrementan el anestro posparto es la condición corporal, se ha observado que vacas con mayor condición corporal al parto tienen frecuencias pulsátiles mayores de LH la reducción de esta actividad en vacas con condición corporal baja está en función de una reducción en la

frecuencia de pulsos de GnRH del hipotálamo (Wright *et al.*, 1990) mas que de una función hipofisiaria inadecuada, de tal manera que la duración del anestro posparto se ve afectada por la ganancia o pérdida de peso y de condición corporal antes o después del parto y más aun mencionan que la CC al parto es más importante que el nivel de alimentación durante éste mismo periodo, en la prolongación del anestro aunque en vacas delgadas también el nivel de alimentación puede ser importante.

Estudios realizados por Rutter y Randel (1984) en ganado de carne muestran que la CC durante los primeros días posparto influye sobre la concentración de progesterona, observando que ésta se mantiene en niveles de 0.83 y 59.0 ng/ml para nivel basal y pico respectivamente en aquellas vacas que mantienen su condición posparto, comparativamente con aquellas que pierden CC en donde los valores para LH se encuentran en 0.61 y 39.0 ng/ml para el nivel basal y pico respectivamente. Esto sugiere que la CC posparto puede afectar la secreción de GnRH del hipotálamo, la respuesta de la hipófisis al mismo y la sensibilidad de ambos órganos a los efectos de una retroalimentación negativa por estradiol. Así mismo se ha observado que la sensibilidad de la hipófisis al efecto de una retroalimentación negativa por estradiol puede disminuir conforme avanza el tiempo posparto (Wright *et al.*, 1990).

Por otro lado se ha observado que la condición corporal posparto afecta el reinicio de la actividad ovárica (Butler y Smith *et al.*, 1989; Villa-Godoy *et al.*, 1990), días a la primera ovulación y el numero de ondas foliculares previas a la primera ovulación, intervalo interparto (Wright *et al.*, 1990) y el porcentaje de preñez (Rae *et al.*, 1993; De Roven *et al.*, 1994), encontrándose que los parámetros tienden a mejorar conforme hay un incremento en la condición corporal. Al respecto trabajos realizados por Pedroso *et al.*, (1994) en vaquillas Cebú Holstein donde determinaron el efecto de la condición corporal sobre la respuesta a la inducción del estro y la fertilidad, encontrando que animales con CC < a 2 puntos (medida en una escala de 1 a 5) presentaron menores respuestas comparados con los animales con condición corporal > de 3 obteniendo respuestas en cuanto a inducción del celo del 60% y 83% respectivamente y de fertilidad del 11% contra 73% respectivamente. De igual forma Richards *et al.*, (1989) encontraron que en vacas que amamantan a su cría una sola vez al día los parámetros días a primer servicio, número de

servicios por concepción e intervalo interpartos son menores que aquellas vacas que amamantan dos veces al día, sin embargo la interacción CC y amamantamiento en vacas con condición corporal alta, el número de veces que amamantó no tuvo efecto en la prolongación del anestro, mientras que en vacas con CC baja, si se incrementó la duración del anestro, concluyendo que una pobre condición corporal al parto puede ser negativa sobre los beneficios que puede proporcionar la restricción del amamantamiento para reducir el anestro posparto y reiniciar la actividad ovárica.

## **2.5 Formación mantenimiento y regresión del cuerpo lúteo.**

El cuerpo lúteo es una glándula funcional que se desarrolla a partir de las células foliculares de la teca y de la granulosa después de la ovulación (Niswender y Nett 1994). La función primaria del cuerpo lúteo es la secreción de progesterona y este esteroide es un importante regulador de la longitud del ciclo estral y es esencial para el mantenimiento de la preñez (Niswender y Nett 1994).

### **Luteinización**

La luteinización incluye la transición estructural y funcional del folículo ovárico en cuerpo lúteo que ocurre después de la ovulación (Niswender *et al.*, 1994; Zeleznik, 1999;). Esta comienza antes de la ovulación en respuesta a la elevación transitoria de las gonadotropinas (FSH y LH), siendo la LH la hormona más importante para la ruptura folicular y su posterior luteinización (Niswender y Nett 1994; Murphy, 2000). El pico preovulatorio de LH resulta en luteinización de las células de la teca y de la granulosa y altera la síntesis de esteroides, pasando de la producción de estrógenos (Fase proliferativa) característica de la fase folicular, a la producción de progesterona (Fase secretora) siendo éste último el esteroide más importante producido por éstas células después de la luteinización (Zeleznik, 1999; Niswender *et al.*, 2000). Se ha observado que la supresión del pico preovulatorio de LH inhibe la ovulación y la luteinización (Smith *et al.*, 1994). Así mismo se ha demostrado que en vacas como en otras especies la LH es liberada en forma de pulsos, y que la frecuencia de estos pulsos depende del estadio del ciclo estral (Peters y Lamming 1984), durante la fase lútea los pulsos de LH son de baja frecuencia (1 cada 4 h), mientras que durante el proestro de la fase preovulatoria se incrementa en frecuencia (1

pico cada hora) y la amplitud se reduce. Después de la ovulación el espacio ocupado por el folículo es invadido por fibroblastos, células endoteliales, células de la teca interna y de la granulosa (Hansel y Blair 1996). El principal cambio que caracteriza este proceso es la formación de una amplia red de capilares que llegan a constituir hasta el 20 % del volumen del CL convirtiendo a este en el órgano con mayor irrigación sanguínea del cuerpo en proporción a su tamaño permitiendo con esto un mayor aporte de substratos y hormonas necesarias para la síntesis de progesterona. (Zeleznik, 1999; Reynolds and Redmer 1999).

La luteinización también involucra cambios estructurales de las células de la granulosa y de la teca interna, con un aumento en el desarrollo del retículo endoplásmico liso, del aparato de Golgi y en el número de mitocondrias. El cuerpo lúteo maduro está formado por dos tipos de células esteroideogénicas basado esto sobre los criterios morfológicos y bioquímicos y sobre su origen folicular. Las células de la teca interna se multiplican y diferencian en células lúteas chicas (10-22 $\mu$ m de diámetro) que aumentan en número pero no en tamaño, estas ocupan hasta el 20% del volumen del CL pero solo el 25% de la masa celular (Fitz *et al.*, 1982) bajo condiciones experimentales como lo es el tratamiento con hCG o LH las células chicas se transforman en células grandes (Farin *et al.*, 1986; Del Vecchio, 1997; Niswender *et al.*, 2000). Las primeras almacenan gotas de lípidos en su citoplasma mientras que en las células lúteas grandes estas son escasas (Smith *et al.*, 1994), en contraste las células de la granulosa se hipertrofian pero no se multiplican, transformándose en células lúteas grandes (>25 $\mu$ m de diámetro) estas, constituyen el 40% del volumen del CL y representan el 10% del total de las células (Farin *et al.*, 1986; Fitz *et al.*, 1982).

#### **Función del cuerpo lúteo.**

La progesterona es el principal producto de secreción del CL necesario para el establecimiento y mantenimiento de la gestación así como el desarrollo del sistema alveolar de la glándula mamaria y para la síntesis y secreción de la leche (Niswender y Nett, 1994). Tanto las células lúteas chicas como las grandes obtienen de la sangre las sustancias precursoras de las hormonas esteroideas, siendo el colesterol la más importante. Aunque éste puede ser sintetizado dentro de las células lúteas a partir del acetato (síntesis de novo), cerca del 80% del colesterol utilizado en la síntesis de progesterona es tomado de la sangre,

en donde es transportado unido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y baja densidad (LDL) (Niswender *et al.*, 2000). Las células lúteas grandes y chicas poseen receptores para lipoproteínas transportadoras de colesterol las cuales se incrementan conforme aumenta la capacidad esteroidogénica de estas células. Las lipoproteínas se fijan a sus receptores y son internalizadas por un proceso de endocitosis (Fields y Fields 1996), posteriormente este es liberado por acción enzimática pudiendo ser utilizado inmediatamente para la síntesis de progesterona, o bien almacenarse en forma libre o esterificada en cuyo caso es almacenado en forma de gotas lipídicas para ser utilizado posteriormente. Las células lúteas grandes almacenan muy poca cantidad de colesterol esterificado, dependiendo más del aporte continuo de colesterol unido a lipoproteínas para la síntesis de progesterona (Fields and Fields 1996).

La progesterona es sintetizada a partir de una compleja ruta esteroidogénica en el ovario. La diferenciación en las células capaces de producir progesterona en altas cantidades, es acompañada por un incremento en la expresión de enzimas necesarias para la conversión de colesterol a progesterona, siendo las más importantes la P450<sub>scc</sub> y la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa isomerasa (3 $\beta$ HSD), así como una disminución de las enzimas que convierten la progesterona a estrógenos (Del Vecchio, 1997; Bao and Garverick 1998; Niswender *et al.*, 2000).

La síntesis de progesterona comienza cuando el colesterol unido a proteínas de alta y baja densidad (LDL, HDL) o bien hidrolizado por acción de la colesterol esterasa, es internalizado al citoplasma de la célula, aquí es transferido del citoplasma a la cara interna de la membrana mitocondrial por medio de la proteína reguladora de esteroides (StAR) es aquí en donde el colesterol es transformado en pregnenolona por acción de la enzima P450<sub>scc</sub>, posteriormente la pregnenolona es transformada en progesterona por la enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa isomerasa (3 $\beta$ HSD) que es producida en grandes cantidades a nivel del retículo endoplasmico liso (Niswender *et al.*, 2000).

### **Control hormonal de la síntesis de progesterona.**

La LH es la hormona más importante que regula la función del cuerpo lúteo (Baird, 1992; Murphy, 2000) sin embargo el mecanismo preciso de cómo actúa varía en función de la diferencia en la secreción de progesterona por parte de las células lúteas grandes y

pequeñas. Así mismo los dos tipos celulares difieren en su respuesta a diferentes hormonas y/o segundos mensajeros (Niswender *et al.*, 2000). Las células chicas tienen receptores para LH y son dependientes de esta hormona para la producción de progesterona, el mecanismo de acción se basa fundamentalmente en el estímulo que ejerce la LH al unirse a sus receptores para la síntesis de StAR necesario para la internalización del colesterol del citoplasma al interior de la mitocondria, todo mediado por el AMPc que activa a la proteincinasa A (PKA)(Davis *et al.*, 1996; Zeleznik, 1999), la activación de la PKA incrementa la liberación del colesterol esterificado vía colesterol esterasa, pero parece no influir sobre la concentración de P-450scc o 3 $\beta$ -HSD (Wiltbank *et al.*, 1991).

Las células lúteas grandes producen cerca del 80% de la progesterona y no poseen receptores para LH, por lo que la producción de progesterona por estas células es independiente de la regulación de LH y del AMPc (Fitz *et al.*, 1982). Por esta razón la inhibición de la secreción de LH durante la fase lútea no suprime de manera inmediata la secreción de progesterona (McNeilly *et al.*, 1992) sin embargo, parece ser que en las células lúteas grandes es la PKC la que actúa como segundo mensajero (Davis *et al.*, 1996). Los mecanismos de regulación de las células grandes no se conocen del todo, en la vaca se ha demostrado que poseen receptores para la hormona del crecimiento y esta hormona incrementa la producción de progesterona (Lucy *et al.*, 1993).

La progesterona es secretada inmediatamente después de ser sintetizada debido a que las células esteroideogénicas carecen de la capacidad de almacenamiento siendo secretada de manera diferente a la LH (McNeilly *et al.*, 1992). Como se ha mencionado el proceso de síntesis es similar en los dos tipos de células no obstante los mecanismos de control son diferentes. Existe evidencia de que la función lútea puede ser no solamente estimulada por las hormonas hipofisarias sino también por otras hormonas y factores producidos en el mismo ovario. En el CL se producen PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> y PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  las dos primeras son luteotrópicas mientras que la última es luteolítica (Fitz *et al.*, 1984), por otro lado se ha encontrado que tanto el IGF-1 como el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) también estimulan a las células endoteliales en el CL del ovino y bovino (Reynolds and Redmer 1999), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) mantiene una importante participación en el proceso angiogénico ya que son

considerados como estimuladores de la permeabilidad vascular, migración, proliferación y producción de proteasa por las células endoteliales. Por otro lado las células lúteas grandes tienen una mayor cantidad de retículo endoplasmico rugoso, lo que les confiere la propiedad de producir oxitocina, esta hormona de origen ovárico tiene acciones endocrinas y parácrinas, durante la luteólisis participa en el establecimiento del patrón de secreción pulsátil de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  necesario para ocasionar la regresión del CL (Silvia *et al.*, 1991), este patrón ha sido descrito por Zarco *et al.* (1988) quienes mencionan que se requieren de 4-5 pulsos de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  cada 6-8 horas para que ocurra la luteólisis.

### **Luteólisis.**

La luteólisis es el proceso por el cual el cuerpo lúteo sufre regresión. Como se ha mencionado una de las funciones del CL es el mantenimiento de la gestación, si ésta no se establece es necesario que ocurra su regresión para dar inicio a un nuevo ciclo reproductivo (Zeleznik, 1999). Durante la luteólisis normal ocurren dos eventos íntimamente relacionados, el primero es la disminución de la capacidad de síntesis de progesterona (Luteólisis funcional), manifestada como una disminución rápida en los niveles plasmáticos de progesterona, el segundo se caracteriza por cambios estructurales que terminan con la apoptosis o muerte celular (Luteólisis estructural) que se reflejan en una reducción del tamaño y peso del cuerpo lúteo (Pate, 1994; Zeleznik, 1999). El cuerpo lúteo no siempre mantiene una duración normal, y puede experimentar una regresión prematura, esta fase lútea corta ha sido estudiada ampliamente en vaquillas de carne púberes (Calderón *et al.*, 1998), y durante la transición del anestro posparto a la presentación de ciclos estrales normales, (Odde *et al.*, 1980) existiendo evidencias de que la regresión prematura es debida a una liberación temprana de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en el útero. La prostaglandina uterina  $\text{PGF}_{2\alpha}$  es el principal agente luteolítico en la mayoría de los animales domésticos y en roedores (Pate, 1994; Niswender y Nett, 1994), sin embargo una de las mas importantes preguntas con relación a la luteólisis ha sido el conocer cual es el signo que inicia la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , al parecer los estrógenos inducen la liberación de una pequeña cantidad de oxitocina neurohipofisaria que induce la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .



necesaria para iniciar la retroalimentación positiva entre la oxitocina producida en el CL y la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  uterina (Tsay y Wiltbank 1997).

El efecto antiesteroideogénico de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  es directamente sobre las células lúteas grandes que son éstas las únicas que presentan receptores para prostaglandinas ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) y es mediado por un segundo mensajero que es la proteincinasa C (PKC) (McGuire *et al.*, 1994). La unión de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a su receptor de membrana en la célula lútea grande induce la activación de la fosfolipasa C (PLC), que causa hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5 bifosfato ( $\text{PIP}_2$ ) e inositol 1,4,5 trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) y 1-2 diacil glicerol (DAG) en la membrana plasmática. El  $\text{IP}_3$  libera calcio de las reservas intracelulares, el DAG incrementa la afinidad de PKC por el calcio, y su activación impide el transporte del colesterol a la membrana interna de la mitocondria, y la acción de la P450<sub>scc</sub>; por lo que la conversión de colesterol a pregnenolona no se lleva a cabo (Wiltbank *et al.*, 1991).

Durante la luteólisis se desencadena la apoptosis, mecanismo que consiste en fragmentación del DNA y degeneración de la cromatina a través de endonucleasas (Sawyer *et al.*, 1990). De tal forma que el mecanismo de regresión del cuerpo lúteo en diferentes especies es causado por una acción antiesteroideogénica de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , regulada por la activación de PKC que ocasiona el incremento de calcio intracelular, y a su vez la activación de endonucleasas, migración de macrófagos que inducen la liberación del factor  $\alpha$  de la necrosis tumoral ( $\text{TNF}_\alpha$ ) que inicia el proceso de apoptosis (Juenguel *et al.*, 1993; Meidan *et al.*, 1999).

Por otro lado, recientemente se ha comprobado que la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  actúa estimulando a diferentes mecanismos parácrinos intraováricos entre los que destacan el endotelin 1 (ET-1) la cual funciona como un potente vasoconstrictor producido por las células endoteliales del cuerpo lúteo, participando en la migración de leucocitos que conjuntamente con los macrófagos y  $\text{TNF}_\alpha$  inducen la apoptosis celular (Meidan *et al.*, 1999).

En resumen, la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  puede disminuir la síntesis de progesterona por un número de mecanismos intracelulares que incluyen: 1) disminución de los receptores para hormonas luteotrópicas, 2) disminución de la disponibilidad de colesterol, 3) disminución del transporte de colesterol a través de la membrana mitocondrial, y 4) disminución de la

## EXPERIMENTO I

# EFFECTO DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA Y NORGESTOMET MAS VALERATO DE ESTRADIOL SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA FASE LÚTEA EN VACAS CEBÚ POSPARTO EN EL TRÓPICO HÚMEDO

Sánchez MB, Basurto CH, Galina CS.

## INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en el funcionamiento del cuerpo lúteo son una de las múltiples causas responsables de la reducción en la fertilidad en animales domésticos (Niswender *et al.*, 1994; Reynolds and Redmer, 1999). En animales posparto existen evidencias de que el primer cuerpo lúteo que se forma es de corta duración siendo este un proceso natural y necesario para el restablecimiento de la actividad ovárica posparto (Garverick and Smith 1986; Hunter, 1991) por otro lado también se ha reportado que el uso de GnRH asociado a la gonadotropina coriónica humana y gonadotropina corionica equina utilizados en la inducción del estro y la ovulación inducen la presentación de fases lúteas subnormales en donde se ha observado una reducción en la fertilidad. (Pratt *et a.*, 1982; Lishman and Inskeep 1991; Hunter, 1991; Twagiramungu *et al.*, 1995). Sin embargo ovejas y vacas en anestro inducidas al estro y la ovulación y que son tratadas previamente con progestágenos la fase lútea presentan duración y concentraciones de progesterona normales (Hunter *et al.*, 1986). Así mismo se ha observado que la administración de progestágenos en presencia o ausencia de CL modifica la secreción de LH, la permanencia del folículo dominante, las concentraciones de estradiol, de progesterona y la fertilidad (Sánchez *et al.*, 1993).

Como se ha mencionado anteriormente existen varias hipótesis para explicar la formación de cuerpos lúteos con una vida media anormal, una de estas sugiere que los CL de vida corta se forman debido a que el folículo ovulatorio no se desarrolla en forma normal por una inadecuada secreción de gonadotropinas (Hunter, 1991) y la segunda

mantiene que la reducción de la fase lútea se debe a una liberación prematura de prostaglandinas desde el útero (Peter *et al.*, 1989).

El cuerpo lúteo secreta progesterona y este esteroide es un importante regulador de la longitud del ciclo estral y es esencial para el mantenimiento de la preñez (Niswender y Nett 1994) por otro lado la administración de progestagenos sintéticos acompañados con el uso de gonadotropina coriónica equina ha resultado una aplicación practica importante para inducir la presentación del estro y la ovulación en ganado cebú posparto.

Sin embargo existen pocas evidencias en ganado cebú que expliquen si la baja fertilidad observada posterior a la inducción y sincronización del estro se deba a la variación en la duración y concentración de progesterona de la fase lútea que se presenta en respuesta a los diferentes tratamientos empleados.

## **HIPÓTESIS**

La inducción del estro con Gonadotropina Coriónica equina sola o precedida por norgestomet en vacas posparto afecta la concentración de  $P_4$  y la duración de la fase lútea.

El sistema de amamantamiento, la condición corporal y el folículo ovárico mayor al inicio del tratamiento influyen sobre la acción de la eCG precedida o no por norgestomet sobre las características de la fase lútea y la fertilidad en vacas cebú posparto.

## **OBJETIVOS**

Evaluar el efecto de la Gonadotropina Corionica equina y el Norgestomet mas valerato de estradiol sobre las características de la fase lútea en vacas cebú Brahman inducidas al estro.

Determinar si el tratamiento hormonal y su interacción con el sistema de amamantamiento y condición corporal afectan las características de la fase lútea.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Localización

El experimento se llevó a cabo en el módulo de producción de vaquillas F1 “La Soledad” del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ubicado en el Km 3.5 del camino vecinal Martínez de la Torre-Novara, Municipio de Atzálan, Veracruz. Localizándose a 19°50' de Latitud Norte y 97°1' de Longitud Oeste y una Altitud de 150 msnm. La región presenta un clima clasificado como Af (m)(e) cálido húmedo con una temperatura media anual de 23.4°C, y una precipitación pluvial de 1743 mm/año (García, 1988).

### Manejo

Las vacas que se utilizaron fueron aquellas que parieron entre los meses de Abril y Mayo de 1999, éstas han estado sometidas desde 1994 a un manejo reproductivo con empadre estacional de 90 días utilizándose la Inseminación artificial (I.A) en Junio y Julio y la monta natural con toros repasadores en Agosto. Todas las vacas del módulo se manejan como un solo hato mediante un esquema de pastoreo rotativo de “Alta Densidad”. Los pastos predominantes en un 80% son una mezcla de gramas nativas (*Axonopus spp*) y estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*) el 20% restante. El periodo de pastoreo se ajustó de 1 a 3 días considerando la cantidad de materia seca (MS) disponible en la pradera y el periodo de recuperación del forraje, el cual varía en función de la época del año, (desde 20 días en verano hasta 60 días en invierno). Los potreros fueron divididos con cerco eléctrico, ajustando la superficie necesaria con cerco móvil para optimizar forraje y asegurar un consumo de MS entre 9 y 12 kg /vaca / día.

### Animales y Diseño Experimental

Se utilizaron un total de 51 vacas cebú Brahman (*Bos indicus*) multíparas (51 días posparto promedio) que se encontraban en anestro al inicio del tratamiento, el cual se corroboró mediante ultrasonografía de tiempo real y la determinación sérica de P<sub>4</sub>

Se utilizó un diseño al azar con un arreglo factorial de 3 x 3 siendo los factores 3 modalidades de manejo del amamantamiento y 3 tratamientos hormonales.

#### **Tipo de amamantamiento**

Los animales permanecieron en amamantamiento *ad libitum* durante los primeros 7 días posparto, a partir del octavo día se distribuyeron al azar en 3 grupos de 17 animales cada uno los cuales fueron manejados de la siguiente manera:

GRUPO A: los animales de este grupo fueron sometidos a un sistema de amamantamiento restringido a una hora por día (07:00-08:00 AM) hasta el destete el cual se realizó a los 60 días posparto (ARD60).

GRUPO B: Estos animales recibieron el mismo manejo que el grupo anterior realizándose el destete a los 180 días (ARD180).

GRUPO C: los animales de este grupo fueron mantenidos en amamantamiento continuo realizándose el destete a los 180 días posparto (ACD180).

A los 51 días posparto cada grupo de vacas se distribuyeron al azar en tres subgrupos A1/A2/A3, B1/B2/B3, C1/C2/C3 de 6, 5 y 6 animales respectivamente, los cuales recibieron los siguientes **tratamientos hormonales**:

SUBGRUPOS A1, B1, C1.

Se les aplicaron 250 unidades internacionales (UI) de Gonadotropina Coriónica equina (Folligon<sup>®</sup>, Intervet, México) vía intramuscular (IM) en el día 60 posparto.

SUBGRUPOS A2, B2, C2.

Se les colocó un implante con 3 mg de Norgestomet (Crestar,<sup>®</sup> Intervet, México) por vía subcutánea (SC) en la base de la oreja al mismo tiempo, se les administró 2 ml de una suspensión oleosa con 3 mg de Norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol vía IM, el implante fue retirado 9 días después.

SUBGRUPOS A3, B3, C3.

Recibieron el mismo tratamiento que los subgrupos anteriores mas 250 UI de eCG vía IM al retiro del implante (Anexo 2).

La detección del estro en los animales se realizó de manera visual y apoyados con toros desviados durante las primeras cien horas continuas, posteriormente la observación se continuó dos veces al día en periodos de 2 horas (06:00-08:00 h y de 16:00 a 18:00 h)

durante los 25 días después de la IA la cual se efectuó con semen congelado de toros de la raza Holstein, valorado con buena fertilidad. El diagnóstico de gestación se realizó a los 35 días postservicio por ultrasonido y fue confirmado a los 45 días por palpación rectal.

### **Ultrasonografía**

Con el objetivo de analizar el efecto del tamaño del folículo ovárico presente al inicio del tratamiento hormonal, sobre la presentación del estro y la formación del cuerpo lúteo, se realizó un ultrasonido en ambos ovarios el día del inicio del tratamiento, clasificándose los folículos en tres categorías  $\leq$  4 mm, de 4.1 a 8.9 y  $\geq$  9 mm, posteriormente se realizaron los días 0, 4, 7, 14 y 21 del ciclo para corroborar la formación o regresión del CL (Anexo 2)

### **Determinación de Progesterona**

Con la finalidad de determinar que los animales se encontraran en anestro al inicio del tratamiento se tomaron 2 muestras los días -7 y -3, (se consideraron en anestro cuando los niveles de progesterona fueron  $<$  a 1 ng/ml) posteriormente para caracterizar los cambios en las concentraciones de progesterona y la duración de la fase lútea se tomaron dos muestras por semana durante 3 semanas a partir de la presentación de estro que fue considerado como día 0 para todos los subgrupos (Anexo 2).

Se consideró una fase lútea normal (FLN) cuando la concentración de progesterona fue  $>$  a 1 ng/ml más 2 desviaciones estándar, y dicho incremento se mantuvo por diez días consecutivos y no excedió de 16 días. Se consideró una fase de corta duración (FLC) cuando la concentración de progesterona fue  $>$  1 ng/ml mas dos desviaciones estándar, pero la duración de dicho incremento fue menor a 10 días (Calderón *et al.*, 1998). Las muestras de sangre se tomaron directamente de la vena coccígea en tubos con ácido etilen-diamino-tetraacético (EDTA) y se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 15 minutos; el plasma obtenido se mantuvo congelado a  $-4^{\circ}\text{C}$  para posteriormente realizar la determinación de progesterona. Las determinaciones de progesterona se realizaron en el laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM por medio de un radioinmunoanálisis de fase sólida, utilizando un KIT comercial de DPC

(Coat-a-Count, Diagnostic Product Corporation). Este ensayo tiene una sensibilidad de 0.02 ng/ml de suero y un coeficiente de variación intra e interensayo menores al 15%.

### **Peso y condición corporal**

Para estimar el estado nutricional de las vacas y establecer la relación con la respuesta a los tratamientos hormonales y la fertilidad, se registró el peso y la evaluación de la condición corporal (CC) desde el parto hasta el inicio del tratamiento cada 15 días, continuándose hasta los 180 días posparto. Dicha evaluación consistió en la observación de las regiones anatómicas relacionadas con el grado de acumulación de reservas de grasa; evaluándose en una escala del 1 (vaca muy flaca) al 5 (vaca muy gorda) y puntos intermedios (Ferguson *et al.*, 1994). Los animales se clasificaron en  $CC \leq 2.5$  y  $\geq 3$ .

### **Análisis Estadístico**

Se realizó un análisis de varianza para muestras repetidas de progesterona utilizando el procedimiento PROC GLM, debido a que el número de animales por grupo fue diferente, se utilizó la suma de cuadrados tipo III. Las medias ajustadas al modelo o de cuadrados mínimos y sus errores estándar se obtuvieron con la opción LSMEANS. Para las variables discretas estro y gestación se utilizó el procedimiento PROC FREQ utilizando la prueba no paramétrica de Ji cuadrada para detectar diferencias entre medias. Se usó para todos los cálculos anteriores el programa estadístico Statistics Analysis System, versión 6.03 (SAS, 1988).

Para las covariables mayor folículo ovárico al inicio del tratamiento y condición corporal, se elaboraron tablas de frecuencia con la finalidad de conocer si estas se presentan en la misma proporción entre los grupos en estudio, utilizando una prueba de Ji<sup>2</sup> para homogeneidad (Méndez *et al.*, 1994).

Las variables independientes que se analizaron en este experimento fueron el tipo de tratamiento hormonal; eCG, NG + VE y NG + VE + eCG y tipo amamantamiento; ARD60, ARD180 y ACD180. Tamaño del folículo al inicio del tratamiento (TFT) y Condición Corporal al tratamiento (CCT) como covariables.

VARIABLES DEPENDIENTES: Concentración de progesterona, duración de la fase lútea, porcentaje de vacas que presenten estro sincronizado, Tiempo de presentación del estro postratamiento y porcentaje de fertilidad a estro sincronizado.



## RESULTADOS

En el cuadro 1 se presentan los resultados del efecto de tratamiento hormonal sobre la inducción del estro y la ovulación, en donde se observa y acorde a la hipótesis propuesta, el mayor porcentaje de presentación de celos se obtuvo en el grupo de animales en donde el norgestomet precedió a la aplicación de eCG ( $P < 0.05$ ).

Con relación a la ovulación, no se observaron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre grupos, sin embargo, de acuerdo a las concentraciones séricas de progesterona encontradas y a lo observado en la imagen ultrasonográfica, en el grupo de eCG y NG + VE + eCG el 100% de los animales que presentaron celo ovularon, no siendo así para los animales tratados solo con NG + VE en donde un 16.7% de los animales que manifestaron celo no ovularon.

**CUADRO 1. INDUCCIÓN DEL ESTRO Y OVULACIÓN EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO HORMONAL**

TRATAMIENTO HORMONAL	N	ESTRO %	OVULACIÓN %
eCG <sup>1</sup>	18	33.3 <sup>b</sup> (6/18)	100 <sup>a</sup> (6/6)
NORGESTOMET+ V.E <sup>2</sup>	15	80.3 <sup>a</sup> (12/15)	83.3 <sup>a</sup> (10/12)
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	18	83.3 <sup>a</sup> (15/18)	100 <sup>a</sup> (15/15)

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina.

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.

Valores con distinta literal entre tratamientos para la presentación del estro indican diferencia ( $P < 0.05$ )

Valores con literales iguales entre tratamientos para la ovulación no indican diferencia ( $P > 0.05$ ).

Respecto al tiempo de presentación del estro postratamiento presentado en el cuadro 2, se observa que los animales del grupo NG + VE + eCG manifestaron el celo en promedio 25 horas antes con relación al grupo tratado con eCG ( $P < 0.05$ ). Por otro lado los valores correspondientes al error estándar entre estos mismos grupos indican que también los celos se presentaron de manera mas uniforme y compacta para el grupo NG + VE + eCG seguido de aquellos animales que solo recibieron NG + VE, presentándose menos compactos en los animales del grupo eCG.

**CUADRO 2. TIEMPO DE PRESENTACIÓN DEL ESTRO SINCRONIZADO EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO HORMONAL**

TRATAMIENTO HORMONAL	No. ANIMALES	ESTRO POS TRATAM. X ± E.E
eCG <sup>1</sup>	6/18	62.46 ± 8.1 <sup>b</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	12/15	44.04 ± 2.8 <sup>a</sup>
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	15/18	37.40 ± 2.4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina.

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG  
Distinta literal entre tratamientos indica diferencia estadísticamente significativa (P<0.05).

Al analizar la respuesta al estro considerando el tamaño del folículo (Cuadro 3) al inicio del tratamiento se observó que éste no afectó la respuesta para los grupos NG + VE y NG + VE + eCG, sin embargo si se observó diferencia significativa (P<0.05) con aquellos animales del grupo eCG que presentaron un tamaño de folículo ≤ 4 mm y de 4.1 – 8.9 mm, así mismo indica que cuando los animales del grupo eCG tuvieron un tamaño de folículo mayor a 9 mm no mostraron diferencias respecto a los grupos NG + VE y NG + VE + eCG

**CUADRO 3. EFECTO DEL TAMAÑO DEL FOLÍCULO AL INICIO DEL TRATAMIENTO SOBRE LA PRESENTACIÓN DEL ESTRO**

TRATAMIENTO HORMONAL	TAMAÑO DEL FOLÍCULO	ANIMALES QUE PRESENTARON ESTRO %
eCG <sup>1</sup>	≤ 4 mm	25.0 (2/8) <sup>a</sup>
	4.1 – 8.9 mm	28.5 (2/7) <sup>a</sup>
	≥ 9 mm	66.6 (2/3) <sup>b</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	≤ 4 mm	50.0 (3/6) <sup>b</sup>
	4.1 – 8.9 mm	66.6 (4/6) <sup>b</sup>
	≥ 9 mm	100 (3/3) <sup>b</sup>
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	≤ 4 mm	50.0 (3/6) <sup>b</sup>
	4.1 – 8.9 mm	100 (7/7) <sup>b</sup>
	≥ 9 mm	100 (5/5) <sup>b</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.  
Literales diferentes entre filas y entre tratamientos, presentan diferencia (P< 0.05).

Al analizar los resultados para determinar el efecto del tipo de amamantamiento sobre la presentación del estro (Cuadro 4), se observó que no hubo efecto significativo ( $P>0.05$ ) de ninguno de los tres tipos de amamantamiento al que fueron sometidos los animales, aunque se puede distinguir una ligera tendencia a incrementarse la presentación del estro en aquellos animales a los que se les restringió el amamantamiento y el destete coincidió con el fin del tratamiento (60 días).

**CUADRO 4. EFECTO DEL TIPO DE AMAMANTAMIENTO SOBRE LA PRESENTACIÓN DEL ESTRO**

GRUPO	ANIMALES/CATEGORIA		ESTRO %
	No		
Amamantamiento restringido + destete a 60 días	11/17		64.7 <sup>a</sup>
Amamantamiento restringido + destete a 180 días	10/17		58.8 <sup>a</sup>
Amamantamiento continuo + destete a 180 días	10/17		58.8 <sup>a</sup>

Literales iguales entre categorías no presentan diferencia ( $P>0.05$ )

En cuanto al efecto de la condición corporal que presentaron los animales al inicio del tratamiento (la cual fue homogénea para todos los grupos) sobre la respuesta al estro, en el cuadro 5 se puede observar que no hubo diferencia dentro de los tres grupos de tratamiento, observándose únicamente diferencias entre los grupos tratados con eCG ( $P<0.05$ ) respecto a los animales con CC 3-5 del grupo NG+VE y los del grupo NG+Ve+eCG.

**CUADRO 5. EFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL AL TRATAMIENTO (CCT) SOBRE LA PRESENTACIÓN DEL ESTRO.**

TRATAMIENTO HORMONAL	CCT	No TOTAL ANIMALES	ESTRO %
eCG <sup>1</sup>	≤ 2.5	9/18	33.3 <sup>a</sup> (3/9)
	3-5	9/18	33.3 <sup>a</sup> (3/9)
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	≤ 2.5	10/15	50.0 <sup>a,b</sup> (5/10)
	3-5	5/15	100 <sup>b</sup> (5/5)
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	≤ 2.5	7/18	71.4 <sup>b</sup> (5/7)
	3-5	11/18	90.9 <sup>b</sup> (10/11)

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina.

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG

Literales diferentes entre escalas y entre grupos presentan diferencias ( $P<0.05$ ).

De igual forma cuando se analizaron los datos del tiempo de presentación del estro post-tratamiento considerando la interacción entre tratamientos hormonales y tipo de amamantamiento (Cuadro 6) se observó que la permanencia del becerro con la madre de manera continua, afectó el tiempo en que los animales manifiestan estro, pero únicamente en aquellos a los que se les indujo el estro con eCG ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, cuando los animales únicamente permanecieron amamantando a las crías una vez al día y el destete coincidió con el periodo de tratamiento, los animales se vieron beneficiados presentando el estro en un periodo de tiempo muy similar a los animales del grupo NG + VE y NG + VE + eCG en donde no hubo efecto de ninguno de los tipos de amamantamiento a los que fueron expuestos los animales.

**CUADRO 6. TIEMPO DE PRESENTACIÓN DEL ESTRO  
SINCRONIZADO POR EFECTO DEL TRATAMIENTO HORMONAL Y TIPO  
DE AMAMANTAMIENTO**

TRATAMIENTO HORMONAL	TIPO DE AMAMANTAMIENTO	ANIMALES QUE MANIFESTARON ESTRO	TIEMPO DE PRESENTACIÓN DEL ESTRO (horas) $X \pm E.E$
eCG <sup>1</sup>	ARD 60	2/6	50.0 $\pm$ 7.8 <sup>a</sup>
	ARD 180	2/6	64.2 $\pm$ 6.5 <sup>abc</sup>
	ACD 180	2/6	72.8 $\pm$ 7.5 <sup>cd</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	ARD 60	3/5	35.9 $\pm$ 6.3 <sup>a</sup>
	ARD 180	3/5	36.8 $\pm$ 6.1 <sup>a</sup>
	ACD 180	4/5	38.8 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>
NORGESTOMET + VE + eCG <sup>1</sup>	ARD 60	6/6	49.6 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup>
	ARD 180	5/6	44.0 $\pm$ 4.7 <sup>a</sup>
	ACD 180	4/6	35.5 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG  
Medias con diferente literal por fila y entre grupo de tratamiento presentan diferencia ( $P < 0.05$ ).

En el cuadro 7 se presentan los resultados de las concentraciones de progesterona de aquellos animales que presentaron estro y ovulación, observándose que no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) entre ninguno de los tres grupos de tratamiento ya que en todos los casos los niveles de  $P_4$  se encontraron por arriba de 1 ng/ml  $\pm$  2 desviaciones estándar, considerándose esto como aceptable para animales con cuerpo lúteo funcional.

**CUADRO 7. CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA DURANTE EL CICLO  
POR TRATAMIENTO HORMONAL**

TRATAMIENTO HORMONAL	No ANIMALES	PROGESTERONA ng/ml X ± E.E
eCG <sup>1</sup>	*6/18	1.78 ± 0.38 <sup>a</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	*10/15	3.30 ± 0.58 <sup>a</sup>
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	*15/18	2.59 ± 0.47 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.

Medias con la misma literal por tratamiento no presentan diferencia (P>0.05)

• Para analizar los datos sólo fueron considerados los animales que presentaron estro y ovulación.

Al analizar la interacción tipo de tratamiento hormonal con el tipo de amamantamiento sobre las concentraciones de P<sub>4</sub>, se encontró que los valores fueron superiores para los animales del grupo NG + VE con 3.98 ± 0.61, 3.04 ± 0.52, 2.89 ± 0.62 ng/ml para los tipos de amamantamiento ARD 180, ACD 180, ARD 60, seguido del grupo NG + VE + eCG siendo menor para el grupo eCG. Sin embargo a pesar de que muestran diferencias significativas estos animales desde el punto de vista fisiológico presentan un cuerpo lúteo funcional por lo que no se consideró ningún efecto.

En cuanto a la duración de la fase lútea en el cuadro 8 se puede observar que en el grupo de animales tratados con eCG y que manifestaron estro hubo una reducción en la duración de la fase lútea en comparación con aquellos tratados con NG + VE y NG + VE + eCG (P<0.05) manifestándose este mismo efecto en la duración del ciclo estral ya que como se sabe la longitud de éste depende de la vida media del cuerpo lúteo.

**CUADRO 8. EFECTO DEL TRATAMIENTO HORMONAL SOBRE LA DURACIÓN DE LA FASE LÚTEA Y DEL CICLO ESTRAL**

TRATAMIENTO HORMONAL	DURACIÓN DE LA FASE LÚTEA (días)	DURACIÓN DEL CICLO ESTRAL (días) X ± E.E
eCG <sup>1</sup>	10.8 <sup>b</sup>	16.8 ± 0.48 <sup>b</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	14.1 <sup>a</sup>	20.01 ± 0.43 <sup>a</sup>
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	15.2 <sup>a</sup>	20.3 ± 0.35 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.

Distinta literal entre tratamientos indica diferencia (P<0.05).

Una duración de 15.35 días promedio en la longitud del ciclo estral (Cuadro 9) se observó para los animales que permanecieron con la cría en amamantamiento continuo y que recibieron eCG (P<0.05), seguidos del grupo ARD180 y AR60 con 17.12 y 17.72 días respectivamente, en comparación con los animales manejados de la misma manera y que recibieron NG + VE y NG + VE + eCG en donde la duración fue normal. Este mismo comportamiento se reflejó en el cuadro anterior por lo que al analizar el análisis de varianza se observó, que el mayor efecto fue debido al tratamiento hormonal y no al tipo de destete.

**CUADRO 9. INTERACCIÓN TRATAMIENTO HORMONAL Y TIPO DE AMAMANTAMIENTO SOBRE LA DURACIÓN DEL CICLO ESTRAL**

TRATAMIENTO HORMONAL	TIPO DE AMAMANTAMIENTO	No DE ANIMALES QUE PRESENTARON ESTRO	DURACION DEL CICLO (días) X ± E.E
eCG <sup>1</sup>	ARD 60	2/6	17.72 ± 0.86 <sup>b</sup>
	ARD 180	2/6	17.12 ± 0.88 <sup>b</sup>
	ACD 180	2/6	15.35 ± 1.01 <sup>b</sup>
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	ARD 60	3/5	19.38 ± 0.83 <sup>ab</sup>
	ARD 180	3/5	20.72 ± 0.83 <sup>a</sup>
	ACD180	4/5	19.95 ± 0.72 <sup>ab</sup>
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	ARD 60	6/6	20.35 ± 0.58 <sup>a</sup>
	ARD 180	5/6	20.29 ± 0.65 <sup>a</sup>
	ACD 180	4/6	20.07 ± 0.72 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.

Medias con distinta literal por fila y entre tratamientos son diferentes (P< 0.05)

Con relación a la fertilidad obtenida por grupo de tratamiento, ésta fue del 33, 40 y 40% para los grupos eCG, NG + VE y NG + VE + eCG respectivamente, no encontrándose diferencias ( $P>0.05$ ), observándose una tasa de gestación ligeramente superior para el grupo NG + VE + eCG sin llegar a ser significativa.

De igual forma, como se observa en el cuadro 10 el tipo de amamantamiento tampoco influyó sobre la fertilidad y la tasa de gestación en ninguno de los grupos sometidos a diferente sistema de amamantamiento.

**CUADRO 10. EFECTO DEL TIPO DE AMAMANTAMIENTO SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD Y TASA DE GESTACIÓN**

GRUPO	TASA DE FERTILIDAD	TASA DE GESTACIÓN
	%	%
Amamantamiento restringido + destete a 60 días	27.2 <sup>a</sup> (3/11)	17.64 <sup>a</sup> (3/17)
Amamantamiento restringido + destete a 180 días	50.0 <sup>a</sup> (5/10)	29.41 <sup>a</sup> (5/17)
Amamantamiento continuo + destete a 180 días	60.0 <sup>a</sup> (6/10)	35.29 <sup>a</sup> (6/17)

Literales iguales entre grupos no presentan diferencia ( $P>0.05$ )

Finalmente en el cuadro 11 puede verse que la condición corporal no afectó la fertilidad ni la tasa de gestación en los animales del grupo NG + VE + eCG, pero si se detectó efecto para los animales del grupo NG + VE en donde hubo un incremento conforme mejoró la condición corporal sin embargo, no se observó efecto de ésta cuando los animales recibieron únicamente eCG.

**CUADRO 11. TASA DE FERTILIDAD (TF) Y TASA DE GESTACIÓN (TG)  
OBTENIDA SEGÚN ESCALA DE CONDICIÓN CORPORAL AL  
TRATAMIENTO (CCT)**

TRATAMIENTO HORMONAL	CCT	TASA DE FERTILIDAD %	TASA DE GESTACION %
eCG <sup>1</sup>	≤ 2.5	33.3 <sup>b</sup> (1/3)	11.1 <sup>b</sup> (1/9)
	3-5	33.3 <sup>b</sup> (1/3)	11.1 <sup>b</sup> (1/9)
NORGESTOMET + V.E <sup>2</sup>	≤ 2.5	20.0 <sup>b</sup> (1/5)	10.0 <sup>b</sup> (1/10)
	3-5	60.0 <sup>a</sup> (3/5)	60.0 <sup>a</sup> (3/5)
NORGESTOMET + V.E + eCG <sup>3</sup>	≤ 2.5	40.0 <sup>a</sup> (2/5)	28.5 <sup>a</sup> (2/7)
	3-5	40.0 <sup>a</sup> (4/10)	36.3 <sup>a</sup> (4/11)

<sup>1</sup> 250 UI de Gonadotropina Coriónica equina

<sup>2</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE.

<sup>3</sup> Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG.

Literalas iguales entre escalas y entre grupos no presentan diferencia (P>0.05).

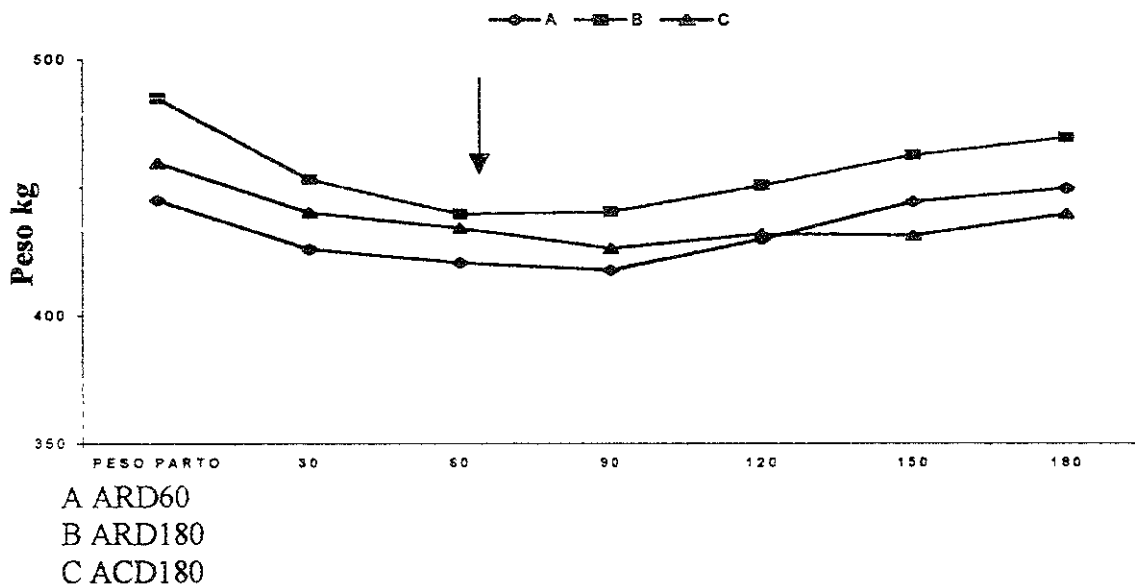
### **Efecto del Tipo de Amamantamiento sobre el Peso Vivo y la condición corporal.**

En la Figura 1 y 2 se presenta de manera esquemática la evolución del peso vivo (PV), y de la condición corporal (CC) desde el parto hasta 180 días posparto, en función del tipo de amamantamiento y edad al destete, esto con la finalidad de analizar las implicaciones que sobre la respuesta al tratamiento se obtuvieron. Como se puede apreciar, tanto el PV como la CC presentaron un comportamiento muy similar, ya que como se sabe existe una estrecha relación entre PV y CC. Se puede observar que para ambas condiciones hubo una disminución desde el parto hasta los 60 días posparto que coincidió con el fin del tratamiento hormonal en los tres grupos de amamantamiento, lo que representó, con base en el peso al parto, una pérdida del 5.3%, 8.7% y 4.8% de PV a los 60 días posparto para los Grupos ARD60, ARD180 y ACD180, respectivamente sin mostrar diferencias (P>0.05) entre grupos para el día de aplicación de los tratamientos.

El análisis de este comportamiento nos permite explicar en parte los resultados en cuanto a la presentación del estro en los animales sometidos a los tres diferentes tipos de amamantamiento (Cuadro 4).

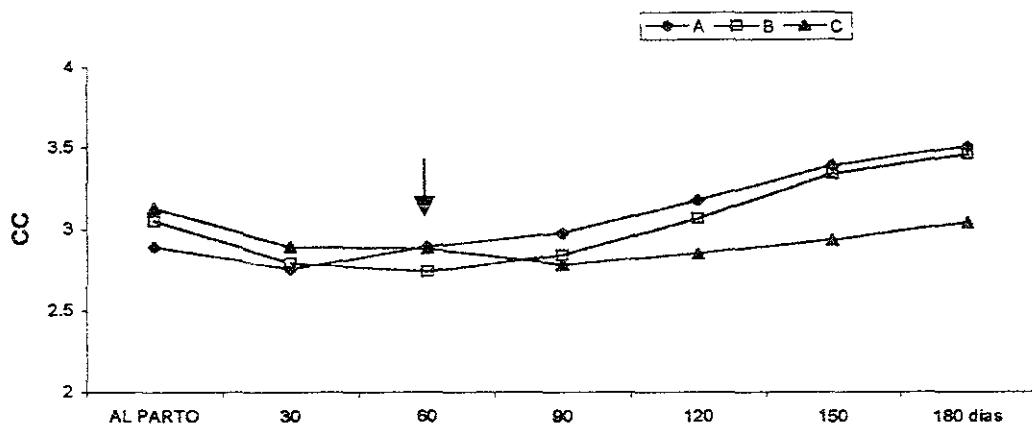


**FIGURA 1. EFECTO DEL TIPO DE AMAMANTAMIENTO SOBRE LA GANANCIA DE PESO DESDE EL PARTO AL DESTETE**



La flecha indica el día de retiro del tratamiento para todos los grupos

**FIGURA 2. EFECTO DEL TIPO DE AMAMANTAMIENTO SOBRE LA VARIACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL DESDE EL PARTO HASTA EL DESTETE**



A ARD60  
B ARD180  
C ACD180.

La flecha indica el fin del tratamiento hormonal para todos los grupos.

## DISCUSIÓN

### Presentación del estro

Los resultados del presente estudio en cuanto a la presentación del estro obtenidos en los grupos tratados con NG + VE y NG + VE + eCG confirman lo encontrado por otros autores quienes mencionan porcentajes de inducción del estro en ganado cebú que van del 75 al 85% (Galina y Arthur, 1990) en donde se ha observado la efectividad de la combinación de norgestomet mas valerato de estradiol en la inducción del estro en animales en anestro sin embargo, a pesar de que se ha mencionado que la aplicación de eCG al retiro del implante mejora la presentación del estro y la fertilidad (Evans y Robinson 1980) por considerar que tanto su acción FSH (80%) como LH (20%) tienen un efecto sinérgico sobre el desarrollo folicular y la ovulación. En el presente trabajo no se encontraron diferencias entre los animales que recibieron NG + VE como tratamiento único y aquellos que recibieron NG + VE mas 250 unidades de eCG, al retiro del implante. Estos resultados están de acuerdo a lo observado por Ramirez-Godinez *et al.* (2000), quienes al evaluar el efecto de la administración de SMB mas 500 UI de PMSG en vacas productoras de carne encontraron un 95.8% de presentación del estro. Por otro lado, en el presente estudio se observó diferencia en los animales que solo recibieron eCG (33.3%), esta diferencia probablemente se haya debido a que la dosis empleada no fue suficiente para inducir un desarrollo adecuado de folículos, la producción de estradiol y el estro (Evans y Robinson, 1980).contrario esto a lo mencionado por Pedroso y Roller 1997 quienes trabajando con vaquillas cebú holstein y utilizando dosis de 250, 500 y 750 UI. De eCG no encontraron diferencias en cuanto a la presentación del estro.

Es probable que la baja respuesta a la presentación del estro se haya visto influenciada por el tiempo posparto en el que se administró el tratamiento ya que se ha observado en ganado lechero que la respuesta del ovario a los estímulos de las gonadotropinas disminuye durante los 45-60 días posparto (Butler y Elrod, 1995), asociado esto también a que durante este periodo aún se detectaron pérdidas de peso por lo que es de estimarse que el balance energético también sea negativo, así durante este estado se han

reportados bajos niveles de insulina necesaria para inducir la función ovárica y una reducción en la secreción de LH y progesterona (Spain *et al.*, 1997).

Resultados similares a los encontrados en el presente estudio fueron reportados por Miranda (2000) quien al comparar el efecto de la administración de eCG y Crestar mas eCG sobre la eficiencia reproductiva en vacas cebú encontró que la menor respuesta a la presentación del estro se obtuvo en aquellos animales que fueron tratados con eCG (19%) atribuyendo esta baja respuesta a la dosis empleada (250 UI de eCG) y a la baja condición del animal al recibir el tratamiento. Por otro lado el hecho de que en el grupo tratado con NG + VE se encontrara un 16% de animales que presentan estro sin ovulación, se debe a que el valerato de estradiol que acompaña a la aplicación del norgestomet es capaz de inducir la presentación del estro sin ovulación (McGuire *et al.*, 1990; Larson y Kiracofe 1995) este hecho pudo deberse también a que estos animales hayan presentado estro como una respuesta de imitación (alolimetria) como lo ha reportado Jiménez, (1995) quien encontró que un 27% de los animales sometidos a tratamiento hormonal con norgestomet mas valerato de estradiol presentaron estro sin ovulación.

La importancia de las gonadotropinas en el crecimiento folicular depende de la fase de desarrollo en la que se encuentren los folículos (McNeilly *et al.*, 1991). Así la gonadotropina moviliza los folículos más pequeños que se encuentran presentes en vacas en anestro posparto y que no llegan a crecer por deficiencia de LH logrando con esto un mayor número de folículos disponibles para ovular (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Estudios realizados por Driancourt (1987) en ovinos superovulados con eCG se observó una correlación positiva entre folículos menores de 2mm y mejor respuesta concluyendo que los ovarios libres de folículos grandes y ricos en folículos chicos tienen la mejor respuesta.

En el presente trabajo el efecto del tamaño del folículo (3 mm y de 4-8 mm mas 9 mm) al inicio del tratamiento solo se reflejó en los animales que recibieron eCG, esto no deja de ser un tanto contradictorio a lo reportado por Papkoff (1981) quien menciona que la eCG promueve el desarrollo de un mayor número de folículos pequeños. Sin embargo, las diferencias microscópicas en la población folicular al momento de la administración de eCG en bovinos no se han relacionado consistentemente a la

subsiguiente respuesta ovulatoria, ya que la destrucción de todos los folículos mayores de 1 mm no alteró los resultados al utilizar eCG (Driancourt y Fry 1992).

Numerosos estudios han demostrado que el tipo de amamantamiento afecta la presentación del estro, siendo contrario a lo observado en el presente trabajo en donde no se detectaron diferencias entre los animales sometidos a los diferentes tipos de amamantamiento por lo tanto con el fin de asumir que no existen diferencias entre tratamientos consideramos que será necesario repetir este experimento con un mayor número de animales ya que es posible considerar que la diferencia puede ser dada por la variación entre individuos.

Los cambios en la ingesta de alimento, la condición y el peso corporal también provocan variaciones en la respuesta a gonadotropinas (Downing y Scaramuzzi 1991), al respecto Imakawa (1986) y Randel (1990) indicaron que en animales subalimentados y con una pobre condición corporal hay una disminución de la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisis-ovario a la acción de las gonadotropinas exógenas. En el presente trabajo la condición corporal al tratamiento y su efecto sobre la presentación del estro, fue solo evidente en los animales del grupo eCG lo que indica que un mayor desbalance energético reflejado en una pobre condición corporal, limita a nivel del ovario la disponibilidad de nutrientes específicos como la glucosa, insulina y el IGF-1 (Downing y Scaramuzzi 1991) o bien esto puede estar mediado por modificaciones en los niveles de eCG en sangre alterándose el patrón de exposición de los folículos a esta gonadotropina necesaria para estimular el desarrollo folicular. Al respecto trabajos realizados por Pedroso *et al.* (1994) en vaquillas Cebú Holstein determinaron el efecto de la condición corporal sobre la respuesta a la inducción del estro y la fertilidad, encontrando que animales con CC < a 2 puntos (medida en una escala de 1 a 5) presentaron menores respuestas comparados con los animales con condición corporal > de 3 obteniendo respuestas en cuanto a inducción del celo del 60% y 83% respectivamente.

En cuanto al tiempo de presentación del estro postratamiento los valores encontrados en el presente trabajo para los animales tratados con NG + VE y su combinación con eCG ( $37.40 \pm 2.4$  y  $44.04 \pm 2.8$  horas, respectivamente) son similares a las reportadas por Ramírez-Godínez *et al.*, (2000) quienes encontraron valores de  $33 \pm 1.5$  y

38.1±1.6 h. y por los reportados por Cavalieri *et al.* (1997) quienes encontraron tiempos de presentación del estro postratamiento de 45.6 y 41.9 h para los animales tratados con norgestomet+ VE (Crestar) y Crestar mas 400 UI de eCG respectivamente, encontrando también que este ultimo tratamiento reduce la variación en el tiempo transcurrido del fin del tratamiento al pico de LH y la ovulación. En cuanto al mayor tiempo para la presentación del estro observada en los animales del grupo eCG probablemente se deba a que el estímulo de la eCG indujo un crecimiento mas lento o un desarrollo asincrónico de los folículos con el consecuente retardo en la presentación del estro (Driancourt y Fry, 1992).

Por otro lado también el tipo de amamantamiento influyó en el tiempo de presentación del estro pero solo en los animales tratados con eCG y que fueron sometidos a un ACD180, respecto a los grupos NG +VE y NG + VE + eCG observándose que este fue mayor cuando los becerros permanecieron con las madres. Este efecto ha sido reportado por Williams (1990) quien ha demostrado que tanto la presencia del becerro como la frecuencia de amamantamiento retardan la presentación del estro e incluso ovulaciones sin manifestación de estro en vacas que son inducidos al estro, esto por mediación a nivel hipotalámico sobre la liberación de GnRH y LH. Lo señalado anteriormente mas la pobre estimulación de la eCG observada en el presente trabajo demuestran la mediación del eje hipotálamo hipofisiario y el efecto de amamantamiento sobre la presentación del estro y en general sobre la actividad reproductiva posparto.

### **Concentración de progesterona y duración de la fase lútea.**

Varios mecanismos han sido postulados para explicar la presentación de ciclos cortos, estos incluyen falta de estímulo luteotrópico (Ramirez-Godinez *et al.*, 1982; McNatty *et al.*,1984), fallas del tejido lúteo para el reconocimiento de los estímulos luteotrópicos (Hunter *et al.*, 1986; White *et al.*, 1987) y presencia de un agente luteolítico (Peter *et al.*,1989).

Una de las interrogantes que se tenían al plantear el experimento era saber si el tipo de tratamiento hormonal utilizado para la inducción del estro y la ovulación afectaba la concentración de progesterona y la duración de la fase lútea, sin embargo los resultados aquí obtenidos indican que en ninguno de los animales que ovularon, el tipo de tratamiento

hormonal (eCG, NG + VE y NG + VE + eCG), ni el tipo de amamantamiento (ARD60, ARD180 y ACD180) afectaron la concentración de progesterona ya que esta se mantuvo dentro de los valores normales (1-13 ng/ml) alcanzados durante una fase lútea lo que indica, la presencia de un cuerpo lúteo sin considerarse fase lútea normal o subnormal.

En el presente trabajo y acorde a la hipótesis planteada, fue posible identificar una reducción en la duración de la fase lútea en los animales que fueron tratados con eCG (10.8 días) en comparación a los grupos que recibieron NG + VE (14.1 días) y NG + VE + eCG (15.2 días). Resultados similares fueron reportados por Shefel *et al.* (1982) quienes al trabajar con vacas posparto observaron que la administración de progestágenos antes de Gonadotropina Coriónica humana (hCG) indujo el estro en el 75% de los animales tratados y el 88% formaron un CL de vida normal, cuando se administró hCG la vida media fue de 19.6 días, en comparación con vacas tratadas únicamente con eCG (750 UI) antes Gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) en donde solo fue de 13.4 días. Esta diferencia probablemente se deba a que la combinación de norgestomet mas estradiol, simula una elevación de los niveles de progesterona necesarios antes del primer estro posparto (Ramírez-Godínez *et al.*, 1981; Hunter *et al.*, 1986; Copelin *et al.*, 1987), este tratamiento puede ser necesario para modular la respuesta en la liberación de GnRH y de gonadotropinas durante el posparto, aunado al efecto sinérgico de la eCG para inducir el desarrollo folicular que terminaría en el desencadenamiento de una ovulación y la formación de un cuerpo lúteo funcional. Al respecto, Troxel y Kesler (1984) demostraron que el pretratamiento con norgestomet reduce la incidencia de fases lúteas cortas, prolonga la duración de la fase lútea y reduce la concentración de metabolitos de PGF<sub>2α</sub>. Estas observaciones también han sido reportadas en animales en anestro, como lo demuestra el trabajo de Fike *et al.* (1997) quienes al evaluar el efecto de la inducción del estro en vacas anéstricas encontraron que la administración por 7 días de progesterona vía dispositivo intravaginal incremento la proporción de vacas que formaron cuerpo lúteo con una vida media normal (85%) incrementándose también el porcentaje de hembras en estro cuando se aplicó benzoato de estradiol (1mg) al retiro del dispositivo, en comparación con vacas sin tratamiento en donde la presencia de cuerpos lúteos de vida corta fue alta (55%). En tanto, en el grupo en donde únicamente se administró Gonadotropina Coriónica equina

el estímulo aportado por ésta no fue suficiente para lograr el desarrollo de un cuerpo lúteo con duración normal. La causa de esta reducción no está totalmente clara, mientras algunos autores mencionan que ni el patrón de secreción de LH y progesterona es alterado en vacas inducidas al estro con progestágenos y PMSG (Cavalieri *et al.*, 1997). Otros autores mencionan que en ganado estimulado con eCG hay una alta incidencia de ausencia del pico preovulatorio de LH, así como una baja amplitud de LH lo que ocasionaría una luteinización parcial de folículos que no alcanzan a ovular o bien una producción alterada de progesterona por parte del cuerpo lúteo (Driancourt *et al.*, 1991). Garverick *et al.*, 1992 y Zarco y Hernández (1999) mencionan que se pueden encontrar dos tipos de alteraciones en la función lútea: la primera consiste en un acortamiento de la vida media del cuerpo lúteo y en la segunda se observa una producción subnormal de progesterona. Respecto a la primera, diversas investigaciones han demostrado que la causa principal es la liberación prematura de prostaglandinas por el útero (Zollers *et al.*, 1989), este hecho se hace más evidente cuando el útero no ha sido expuesto previamente a progesterona, como ocurre en la primera ovulación puberal y la primera ovulación posparto. Esta misma razón es probablemente otra de las causas de la reducción en la duración de la fase lútea encontrada en los animales tratados con eCG, en donde la existencia de un medio ambiente de alteraciones hormonales (reducción de la liberación de GnRH por alta sensibilidad al estradiol durante el posparto, falta de exposición previa a progesterona, insuficiente estímulo de eCG) provocan el desarrollo de un folículo en un medio ambiente hormonal inadecuado lo que repercute en la capacidad funcional del cuerpo lúteo (Garverick *et al.*, 1992; Witbank y Niswender 1992). Otros autores como Hunter (1991) y Bair (1992) indican que el medio endocrino al que está expuesto el folículo antes de la ovulación tiene una influencia fundamental en la formación del cuerpo lúteo.

Roche (1979) sostiene que la combinación progestágeno + estradiol es necesaria para que la eCG provoque el desarrollo folicular y la ovulación. Por lo tanto, es probable que la combinación hormonal utilizada en el tratamiento NG + VE + eCG del presente estudio, explique porqué se obtuvieron los mejores resultados en cuanto a la presentación del estro, tiempo de presentación del estro sincronizado y fase lútea normal.



En cuanto a la duración del ciclo estral (determinada por los niveles de  $P_4$  y el tiempo transcurrido entre un estro y otro) fue de 16.8, 20.01 y 20 días para los grupos eCG, NG + VE y NG + VE + eCG respectivamente, se observó que estuvo en relación directa con la duración de la fase lútea ya que como se sabe es el cuerpo lúteo quien regula la longitud del ciclo estral (Niswender y Nett 1994), por otro lado los valores observados en los grupos tratados con NG + VE y NG + VE + eCG, son considerados como de duración normal y concuerdan con lo reportado por varios autores en donde se señala que la longitud del ciclo estral en ganado *Bos indicus* bajo condiciones tropicales es de 21 días con rangos que fluctúan entre 18 y 22 días. (Vaca, 1982; Anta *et al.*, 1989).

### **Fertilidad**

La eficacia de los tratamientos hormonales para la inducción y sincronización del estro se ve influenciada en terminos generales por varios factores tales como la CC, el amamantamiento, actividad ovárica y la etapa del ciclo estral en que se encuentren las vacas, los cuales también repercuten sobre la tasa de fertilidad, independientemente del tipo de servicio. A partir de una revisión bibliográfica, Galina y Arthur (1990) concluyeron que más del 70% de vacas con diferentes tratamientos hormonales respondieron a estro, pero la tasa de fertilidad general fluctuó entre 25 y 61% y en específico para las vacas que amamantaron fue de 32%. Estos rangos coinciden con los obtenidos en el presente estudio en donde se observaron diferencias para la fertilidad y tasa de gestación entre los grupos tratados con eCG respecto a los otros grupos, es posible que el ligero incremento de la tasa de gestación en los animales tratados con NG + VE + eCG. se deba a que la adición de eCG reduce la variación en el tiempo de presentación del pico de LH y la ovulación (Cavaleri *et al.*, 1997). Los hallazgos anteriores indican también que un mayor número de animales tratados quedaron gestantes por efecto del tratamiento. Esto únicamente podría ser comprobado si se aumentara el tamaño de muestra.

Por otro lado se sabe que vacas que muestran alteraciones en la duración del ciclo estral y sobre todo las que provocan su reducción ocurre la fertilización, sin embargo la gestación no se establece. Al respecto trabajos realizados por Breuel *et al.* (1993) encontraron que en vacas posparto que presentaron reducciones en la duración de la fase

lútea hubo un 68% de fertilización y un 79% de recuperación de óvulo y/o embrión, similar al de vacas que desarrollaron fases lúteas normales, lo que indica que la fertilización ocurre normalmente, sin embargo la gestación no puede establecerse debido a que cuando ocurre la luteólisis el embrión todavía no es capaz de proporcionar el mensaje para el reconocimiento materno de la gestación, lo que normalmente ocurre en el día 13 en la oveja y en el día 16 en la vaca (Bazer *et al.*, 1991). Esta situación probablemente sea una de las causas en la diferencia encontrada entre la tasa de fertilización y tasa de gestación observada en los animales del grupo tratado con eCG, aunque debido a que estas variables son binarias se considera que es necesario incrementar el tamaño de la muestra para concluir con mayor confiabilidad.

Por otro lado al analizar los datos de fertilidad y tasa de gestación con respecto a la condición corporal al momento del tratamiento se comprobó nuevamente lo anteriormente citado en relación a que un pobre estímulo hormonal aún en animales con buena condición corporal afecta la fertilidad.

Los mejores resultados en cuanto a fertilidad y gestación en el presente estudio se observaron en aquellos animales que presentaron mejor condición corporal y fueron tratados con NG + VE + eCG. Esta misma tendencia aunque con porcentajes mayores fueron reportados por Basurto *et al.*, (1999) quienes encontraron que la combinación: restricción del amamantamiento a una hora por día con destete precoz (60 días) y tratamiento hormonal con progesterona y gonadotropina coriónica equina en vacas con buena CC al inicio del empadre (> 3), permite lograr tasas de preñez cercanas al 90%. En otro estudio Kerr *et al.* (1991), utilizando SMB por 10 días más 400 UI de PMSG obtuvieron a los 51 días un porcentaje de gestación de 53%.

La fertilidad y tasa de gestación logradas en general, son consideradas como aceptables en términos que los animales fueron estimulados tempranamente (60 días posparto) y solo se consideró el primer servicio, esto se atribuye probablemente a que en este centro de investigación se ha venido realizando desde 1996 una selección rigurosa de los animales en cuanto a fertilidad y a que todos los animales que no quedan gestantes durante un periodo de empadre de 90 días son eliminados. Esto sin lugar a dudas debe ser objeto de posteriores investigaciones.

Como se ha hecho evidente, aún existen muchas discrepancias en la literatura sobre el efecto de diferentes sistemas de manejo y tratamientos hormonales sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos en el trópico, ya que son múltiples los factores que intervienen y más aún las interacciones que pueden derivarse de ellos. Además, la existencia de un mecanismo fisiológico que impide a las vacas tener una gestación cuando pierden más del 20 al 30 % de su peso corporal adulto durante el periodo posparto, ya ha sido postulado como un valor que limita la eficiencia reproductiva en vacas posparto (Richards *et al.*, 1989).

### **Efecto del Peso Vivo y Condición Corporal**

Con relación a la condición corporal que presentaron los animales se observó que las vacas con CC 3-5 al tratamiento tuvieron en general un mayor porcentaje de fertilidad que las que mostraron CC < 2.5 esto concuerda con lo encontrado por Tegegne *et al.* (1992); quienes mencionan que los cambios en el PV y la CC durante el período posparto ejercen influencia negativa sobre la duración del anestro y la subsecuente fertilidad.

En el presente trabajo la evolución del peso vivo se asoció significativamente ( $P < 0.01$ ) con la CC, sobre todo en función del tipo de amamantamiento. En diversos estudios se ha analizado la pérdida de peso por cada punto disminuido en la CC. Mukasa-Mugerwa *et al.* (1997) en vacas Cebú Boran reportaron que por cada unidad de incremento en la CC, se ganaron 25 Kg y por el contrario por cada unidad de CC disminuida se perdieron 50 Kg. en ese mismo sentido Wright y Russel (1984) mencionan que debido a la estrecha relación observada entre el peso vivo y la condición corporal es muy probable que las vacas que pierden peso también pierdan condición corporal.

En el presente estudio, la CC de las vacas fue mejor en las de ARD60 que en las de ACD180, lo cual pudo deberse a la reducción en la frecuencia del amamantamiento disminuyendo con esto las exigencias metabólicas de las vacas para mantener la lactación (Bastidas *et al.*, 1984; Williams, 1990), ya que se ha visto que en vacas productoras de carne las cuales amamantan un becerro sus requerimientos nutricionales se incrementan hasta en un tercio (Short y Adams 1989). En condiciones normales de trópico, el pastoreo no alcanza a cubrir los requerimientos, principalmente de energía al inicio de la lactancia, lo

que conduce a una severa pérdida de peso y condición corporal durante el posparto; mientras el balance energético sea negativo, las vacas retrasan su actividad en un intento de preservación, manifestándose como anestro, subestro, baja fertilidad y prolongación del intervalo entre partos y bajas tasas de parición (Moore y Campos da Rocha 1983).

Se ha postulado que la pérdida de peso durante el posparto temprano es inevitable y no muestra diferencias entre vacas lactando y no lactando (Oxenreider y Wagner 1971) tal como ocurrió en el presente estudio, en donde las vacas de los diferentes grupos perdieron igualmente peso y condición corporal hasta los tres meses posparto, así las vacas en AR y destetadas a 60 días iniciaron la recuperación del PV y CC a partir de los 60 días posparto, para mostrar una clara recuperación al inicio del empadre.

En las vacas del Grupo ACD180 se observó una pérdida de PV y CC desde el momento del parto, la cual continuó hasta el destete. Esto coincide con lo reportado por Moore y Campos da Rocha (1983) quienes mencionan que vacas amamantando sufren una severa pérdida de peso durante los primeros tres meses de lactación, misma que se reduce notablemente cuando los becerros son destetados al mes de edad y en las vacas sometidas al amamantamiento restringido, estos mismos autores reportan que la pérdida es más severa en las vacas que destetan a 3 y 5 meses, las cuales continúan perdiendo peso aún después del destete. Por otro lado, también reportan que aun en aquellas vacas que amamantan durante un mes hay una pérdida del 5% de su peso vivo, iniciándose a partir de entonces su recuperación. Una situación similar ocurrió en las vacas del Grupo ARD60 del presente trabajo que perdieron 5.49% del PV hasta 60 días posparto. En el mismo estudio, las vacas que amamantaron durante seis meses perdieron el 27% de su peso hasta el quinto mes de posparto, cuando la producción de leche disminuyó y en consecuencia, los nutrientes fueron utilizados para restaurar las reservas corporales.

De acuerdo con los resultados del presente estudio y las evidencias mostradas en la literatura, puede decirse que los primeros 60 días posparto representan el periodo más crítico en la determinación de la eficiencia reproductiva de las vacas cárnicas que alimentan a su cría en amamantamiento directo, aspecto fundamental que debe ser considerado en el planteamiento de programas de inducción del estro, para poder separar el efecto que pudiera establecer sobre la respuesta esperada.

## CONCLUSIONES

1. - La utilización de Gonadotropina Coriónica equina indujo la formación de un CL funcional observándose reducción en la duración de la fase lútea y por consecuencia del ciclo estral.

2.- No se encontraron evidencias de que el tipo de amamantamiento condición corporal y tamaño del folículo ovárico modifiquen la respuesta de los tratamientos empleados con relación a la duración de la fase lútea y la concentración de progesterona.

3.- Los hallazgos observados en cuanto a la respuesta a los tratamientos, y el reducido número de observaciones no nos permiten hacer señalamientos concluyentes con relación a la fertilidad, lo cual deberá de ser objeto de posteriores estudios.

4.- Puesto que la eCG sola o combinada con norgestomet no mejoró las variables en estudio su empleo debe ser reconsiderado

## EXPERIMENTO II

# EFFECTO DEL NORGESTOMET APLICADO EN DIFERENTES ETAPAS DEL CICLO ESTRAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y LA DURACIÓN DE LA FASE LÚTEA EN NOVILLONAS CEBÚ GYR EN EL TRÓPICO HÚMEDO

Sánchez MB, Basurto CH, Galina CS.

### INTRODUCCIÓN

La progesterona ( $P_4$ ) producida por el cuerpo lúteo (CL) juega un importante papel durante el ciclo reproductivo de la hembra, la duración de la fase lútea está regulada tanto por mecanismos luteotrópicos como luteolíticos (Garverick *et al.*, 1992; Smith *et al.*, 1994). En animales no gestantes la  $P_4$  controla la programación de los eventos que desencadenan la luteólisis. Así se ha observado que es la misma  $P_4$  quien promueve el incremento en el almacenamiento de fosfolípidos y de la enzima prostaglandin sintetasa que serán necesarios para la conversión de ácido araquidónico a  $PGF_{2\alpha}$ , de tal forma que la exposición del endometrio a  $P_4$  por 10 a 12 días como ocurre durante el diestro, no solamente prepara al útero para el establecimiento de la preñez sino que también activa el mecanismo para la producción endometrial de  $PGF_{2\alpha}$ , luteolítica en caso de que la preñez no se establezca (Gieiser *et al.*, 1992). Por otro lado, Bazer *et al.* (1991) mencionan que la continua exposición del endometrio a  $P_4$  regula en baja la expresión de receptores para  $P_4$ , particularmente en el epitelio luminal, al ocurrir esto el epitelio luminal expresa receptores para estrógenos inducidos por el mismo estradiol que se produce por el folículo dominante de la última onda folicular induciendo estos la expresión en alta de receptores para oxitocina del CL que estimulará la síntesis y liberación de  $PGF_{2\alpha}$ , iniciándose con esto la cascada de eventos que llevan a la luteólisis del CL (Mann *et al.*, 1998). La exposición a la progesterona por 6 días es suficiente para inducir una máxima habilidad para liberar  $PGF_{2\alpha}$ , en respuesta a la oxitocina (Mann *et al.* 1998). Así, se ha observado que la influencia de la

progesterona sobre el momento en que se produce la luteólisis es mediada a través del control de receptores de oxitocina (Silvia *et al.*, 1991).

El uso de progestágenos en la sincronización del estro se ha basado en el conocimiento de que estos inhiben por retroalimentación negativa la liberación de GnRH a nivel del hipotálamo y como consecuencia de gonadotropinas, presentándose el estro 48 a 76 horas de retirado el bloqueo. Sin embargo, a pesar de que este tipo de compuestos hormonales pueden ser aplicados en cualquier etapa del ciclo estral se ha observado que cuando se aplican en etapas tempranas del ciclo pueden afectar la duración de la fase lútea (Battista *et al.*, 1984). Al respecto en estudios realizados por Hampton *et al.* (1999) y Peterson *et al.* (2000) observaron que la administración de progestágenos en etapas tempranas del ciclo estral en hembras ciclando induce una regresión prematura del CL por acción del valerato de estradiol que induce una liberación anticipada de PGF<sub>2α</sub>, desde el útero. Resultados similares fueron observados por Ginther (1970) y Garret *et al.* (1998) quienes demostraron que la administración de progesterona durante el metaestro reduce el intervalo entre estros por 4 días concluyendo que la disminución del intervalo entre estros después del tratamiento con progesterona exógena está mediado por una maduración temprana del útero que indica una liberación temprana de PGF<sub>2α</sub> desde el endometrio uterino. En otro estudio realizado por Fanning *et al.*, (1992) encontraron que la administración de grandes cantidades de norgestomet aparentemente incrementa la eficacia en la lisis del cuerpo lúteo en hembras en metaestro. Lo anteriormente expuesto pone de manifiesto que la exposición prematura a la progesterona adelanta el momento en el cual la habilidad de la P<sub>4</sub> para inhibir la aparición de receptores endometriales de oxitocina se pierde, o se produce una regulación en baja (down regulation) de los receptores para P<sub>4</sub> reduciendo con esto la duración de la fase lútea.

En el ganado cebú el uso del norgestomet para la sincronización del estro es una práctica común por la facilidad de manejo de estos sin embargo, existen pocos estudios que demuestren si la duración de la fase lútea del ciclo puede ser afectada por la etapa del ciclo en que sean administrados siendo objeto del presente estudio.

## **HIPÓTESIS**

El tratamiento con norgestomet en etapas tempranas del ciclo estral (0 a 5) acorta la duración de la fase lútea en comparación con su aplicación en etapas tardías en donde se espera que la vida del cuerpo lúteo no sea afectada.

## **OBJETIVOS**

Evaluar el efecto del norgestomet aplicado en la fase temprana y tardía del ciclo estral sobre la concentración de progesterona y la duración de la fase lútea.

Comparar las concentraciones de progesterona y la duración de la fase lútea un ciclo antes, durante el tratamiento y un ciclo posterior.



## MATERIAL Y METODOS.

### Localización

Este segundo experimento se llevó a cabo en el módulo de producción de vaquillas F1 "La Soledad" del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ubicado en el Km 3.5 del camino vecinal Martínez de la Torre-Novara, Municipio de Atzálan, Veracruz. Localizándose a 19°50' de Latitud Norte y 97°1' de Longitud Oeste y una Altitud de 150 m.s.n.m. La región presenta un clima clasificado como Af (m)(e) cálido húmedo con una temperatura media anual de 23.4°C, y una precipitación pluvial de 1743 mm/año (García 1988).

### Manejo

Las novillonas del experimento II fueron manejadas como un solo lote separado del resto de las vacas adultas y mantenidas en potreros de grama nativa (*Axonopus spp*) y estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*) bajo un esquema de pastoreo de "Alta Densidad". La carga animal se mantuvo a 2.5 UA/ha asegurando un consumo de materia seca (MS) de 9 a 12 kg/animal/día.

### Animales y Diseño Experimental

**Fase I.** Se utilizaron un total de 20 novillonas Gyr entre 25 y 30 meses de edad con un peso promedio de 350 kg. al inicio del experimento todos los animales se encontraban ciclando, lo que se comprobó por la presencia de un CL en la ultrasonografía de tiempo real y por determinación de los niveles séricos de P<sub>4</sub>.

A todas las novillonas se les sincronizó un ciclo estral previo al tratamiento con la finalidad de agrupar a los animales en la misma etapa del ciclo, mediante la aplicación de un implante de silicón con 3 mg de norgestomet (Crestar, Intervet, México) por vía subcutánea (SC) en la base de la oreja. Al mismo tiempo, se administraron 2 ml de una suspensión oleosa con 3 mg de Norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol por vía intramuscular (IM). Al retiro del implante (9 días después) se les aplicó 25 mg de la prostaglandina natural Dinoprost (Lutalyse<sup>®</sup>, Upjohn, México). La detección del estro se realizó durante 100 horas continuas de manera visual, y posteriormente tres veces al día hasta que todos los animales fueran detectados en estro. A partir de la presentación del

primer estro sincronizado se evaluaron las concentraciones de  $P_4$  y la duración de la fase lútea (DFL), durante un ciclo completo (21 días) hasta la presentación del celo natural (Anexo 3).

**Fase II.** Se utilizaron 18 novillonas (2 fueron eliminadas una por comportamiento agresivo y otra por retornar al anestro) las cuales a partir de la presentación del estro natural los animales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos a los que se les sincronizó el estro mediante la aplicación por vía SC de un implante de Norgestomet (3 mg) sin la inyección (anexo 4), considerando la etapa del ciclo estral de la siguiente manera:

**Etapa temprana (sin CL).**

**GRUPO I y II:** Se les aplicó el implante el día 0 (día del estro) y el día 5 del ciclo estral respectivamente.

**Etapa tardía (con CL).**

**GRUPO III y IV:** El implante se colocó el día 10 y 15 del ciclo estral respectivamente.

En todos los grupos el implante se retiró 9 días después de su aplicación. La detección de celos se realizó de manera visual y apoyados con un toro marcador durante 100 horas continuas posterior a la finalización del tratamiento en cada una de las fases y grupos experimentales.

Para la determinación de los niveles de  $P_4$  se colectaron muestras de sangre dos veces por semana por tres semanas antes del tratamiento, durante el tratamiento y un ciclo posterior en cada una de las fases y grupos de tratamiento (anexo 4). Las muestras se tomaron directamente de la vena coccígea en tubos con ácido etilen-diamino-tetraacético (EDTA) y se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 15 minutos; el plasma obtenido se mantuvo congelado a  $-4^{\circ}\text{C}$  realizándose posteriormente la determinación de progesterona en el laboratorio de Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM por medio de un radioinmunoanálisis de fase sólida, utilizando un KIT comercial de DPC (Coat-a-Count, Diagnostic Product Corporation). Este ensayo tiene una sensibilidad de 0.02 ng/ml de suero y un coeficiente de variación intra e interensayo menores al 15%.

### Análisis Estadístico.

Se utilizó un análisis de varianza para parcelas divididas o SPLIT-PLOT siendo la parcela mayor la etapa del ciclo donde se administró el progestágeno (0, 5, 10 y 15) y la menor el día del muestreo durante el ciclo, considerando el siguiente modelo.

$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \mu_j(i) + B_k + \alpha_{Bik} + E_{ijk}$ , donde:

$\mu$  = media general.

$\alpha_i$  = i-ésimo grupo (0, 5, 10 y 15) donde se aplicó el tratamiento

$\mu_j(i)$  = j-ésima media por grupo.

$B_k$  = k-ésimo día de muestreo de  $P_4$  durante el ciclo.

$\alpha_{Bik}$  = interacción grupo por tiempo.

$E_{ijk}$  = es el error aleatorio distribuido normalmente con  $\mu=0$  y  $S=1$  (Montgomery, 1991).

El análisis de varianza se realizó mediante el procedimiento PROC GLM, debido a que el número de animales por grupo fue diferente, (dos animales fueron eliminados del análisis estadístico) se utilizó la suma de cuadrados tipo III. Las medias ajustadas al modelo o de cuadrados mínimos y sus errores estándar se obtuvieron con la opción LSMEANS. La determinación de diferencias entre medias por día de muestreo se calculó mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del  $P < 0.05$ . Para la variable discreta presentación del estro se utilizó la prueba de Ji cuadrada.

Se usó para todos los cálculos anteriores el programa estadístico Statistics Analysis System, versión 6.03 (SAS, 1988).

Las variables independientes que se analizaron en este experimento fueron la etapa del ciclo en que se administró el tratamiento (0, 5, 10 y 15).

Variables dependientes continuas: Concentración de progesterona y duración de la fase lútea, tiempo de presentación del estro sincronizado y discretas: porcentaje de vacas que presentaron estro sincronizado.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en cuanto a la duración de la fase lútea (DFL), ciclo estral (CE) y niveles promedio de progesterona durante el ciclo previo al tratamiento (fase testigo), fueron de  $14.5 \pm 1.2$  días ( $X \pm E.E$ ),  $20.37 \pm 0.71$  días y de  $2.27 \pm 1.25$  ng/ml de progesterona respectivamente. Estos valores son considerados como normales dentro del rango para cada una de las variables.

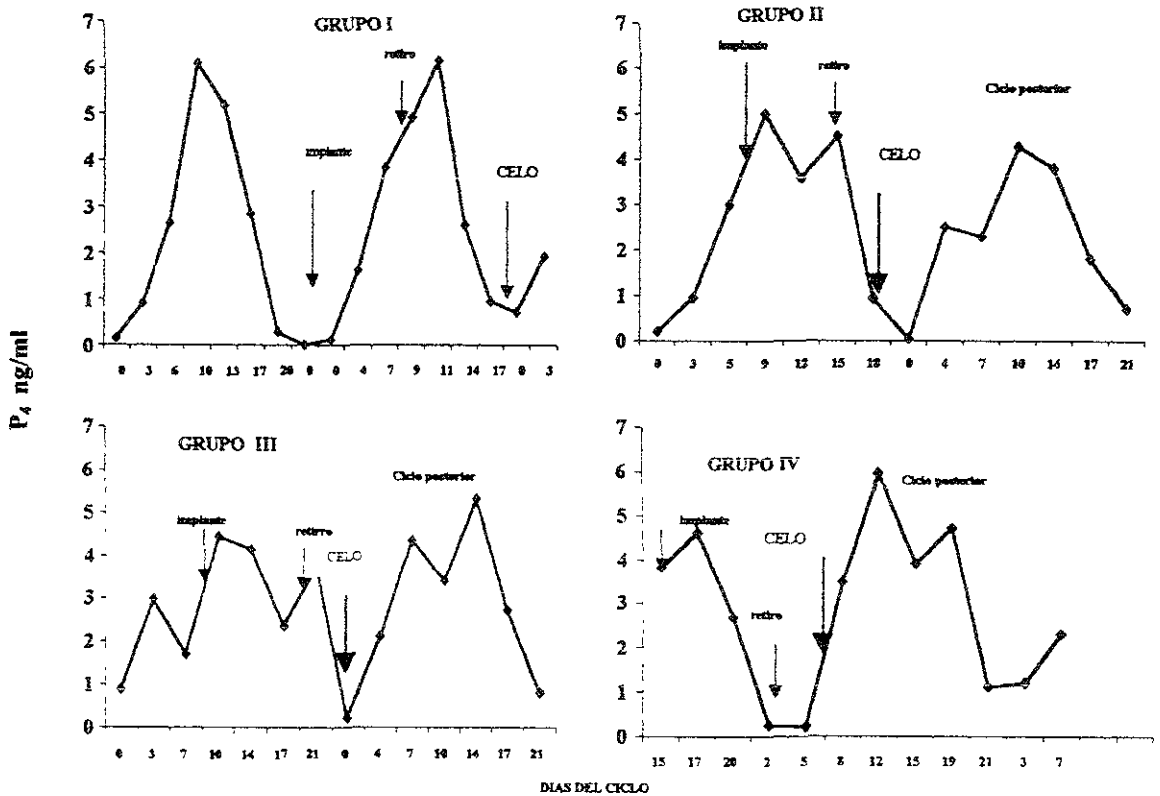
En cuanto a la presentación del estro en el presente estudio, el grupo de novillonas tratadas el día 0 (grupo I) el 100% de los animales presentaron celo seguido de los animales tratados el día 5 (grupo II), 10 (grupo III) y 15 (grupo IV) con el 80%, 60% y 80% respectivamente. (Cuadro 1). Un animal del grupo II y IV y dos animales del grupo III fueron eliminados de la segunda fase del experimento por presentar un quiste lúteo y retornar al anestro. Por otro lado, se observó un efecto significativo ( $P < 0.05$ ), entre los animales del grupo I que presentaron estro en promedio a las  $136 \pm 6.8$  horas de retirado el implante con respecto a los del grupo II, III y IV en donde no se observaron diferencias, siendo los animales del grupo III los que presentaron el estro mas rápidamente después del retiro del implante ( $36 \pm 8.8$  horas). Así mismo el tiempo de presentación del celo en todos los grupos se acortó conforme disminuyeron los niveles endógenos de progesterona del cuerpo lúteo y esto coincidió con la supresión del bloqueo al retirar el implante (Figura 1).

**CUADRO 1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DEL NORGESTOMET EN DIFERENTES DÍAS DEL CICLO ESTRAL SOBRE LA PRESENTACIÓN DEL ESTRO Y EL TIEMPO DE PRESENTACIÓN POSTRATAMIENTO**

GRUPO DE TRATAMIENTO	ESTRO %	TIEMPO DE PRESENTACION DEL ESTRO / H $X \pm E.E$
I (día 0)	100 (5/5)	$136 \pm 6.8^b$
II (día 5)	80 (4/5)	$78 \pm 20.3^a$
III (día 10)	60 (3/5)	$36 \pm 8.8^a$
IV (día 15)	80 (4/5)	$57 \pm 7.6^a$

Filas que no comparten la misma literal presentan diferencia ( $P < 0.05$ ).

**FIGURA 1. EFECTO DEL DÍA DE APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO SOBRE LA PRESENTACIÓN DEL ESTRO**



Al evaluar el efecto del día de aplicación del tratamiento sobre la DFL se encontró que fue menor para los animales que recibieron el tratamiento el día 0 ( $10.2 \pm 1.3$ ,  $P < 0.05$ ) con relación a los grupos que lo recibieron el día 5 ( $13.2 \pm 1.5$ ), 10 ( $14.2 \pm 1.7$ ) y 15 ( $17.3 \pm 1.5$ ) respectivamente. Este mismo efecto se presentó cuando se analizó la duración del ciclo estral, en donde se observa que fue el grupo I quien presentó la duración más corta con  $15.2 \pm 0.74$  días ( $P < 0.001$ ) en comparación a los animales del grupo II, III y IV que presentaron valores de  $19.8 \pm 0.96$ ,  $20.25 \pm 0.83$  y  $21.6 \pm 0.50$  días respectivamente no siendo diferentes entre sí (Cuadro 2).

**CUADRO 2. EFECTO DEL DÍA DE APLICACIÓN DEL NORGESTOMET SOBRE LA DURACIÓN DE LA FASE LÚTEA Y EL CICLO ESTRAL**

DÍA DE APLICACIÓN	DURACIÓN DE LA FASE LÚTEA (días)	DURACIÓN DEL CICLO (días)
	X ± E.E	X ± E.E
0	10.2 ± 1.3 <sup>b</sup>	15.2 ± 0.74 <sup>b</sup>
5	13.2 ± 1.5 <sup>a</sup>	20.25 ± 0.83 <sup>a</sup>
10	14.2 ± 1.7 <sup>a</sup>	19.8 ± 0.96 <sup>a</sup>
15	17.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	21.6 ± 0.50 <sup>a</sup>
Fase testigo	14.5 ± 1.2 <sup>a</sup>	20.37 ± 0.71 <sup>a</sup>

Filas con diferente literal para la duración del ciclo estral, presentan diferencia (P < 0.001).

Filas que no comparten la misma literal para la duración de la fase lútea presentan diferencia (P < 0.05).

Los resultados señalados para los grupos II, III y IV fueron muy similares a los encontrados durante el ciclo estral previo, que fueron de 14.5 ± 1.2 y 20.37 ± 0.71 días para la DFL y duración del ciclo estral respectivamente no existiendo diferencia (P > 0.05) (Cuadro 2).

El análisis de varianza mostró que el día de aplicación del progestágeno no tuvo efecto (P > 0.05) sobre la concentración de progesterona entre grupos en el ciclo posterior al tratamiento, obteniéndose valores de 2.77 ± 1.00, 2.39 ± 1.00, 5.32 ± 1.12 y 3.46 ± 1.12 para los grupos tratados el día 0, 5, 10 y 15 respectivamente.

Tampoco se encontró diferencia (P > 0.05) cuando se compararon éstos con la concentración de progesterona (2.27 ± 1.25 ng/ml) alcanzada durante un ciclo previo al tratamiento (Cuadro 3).

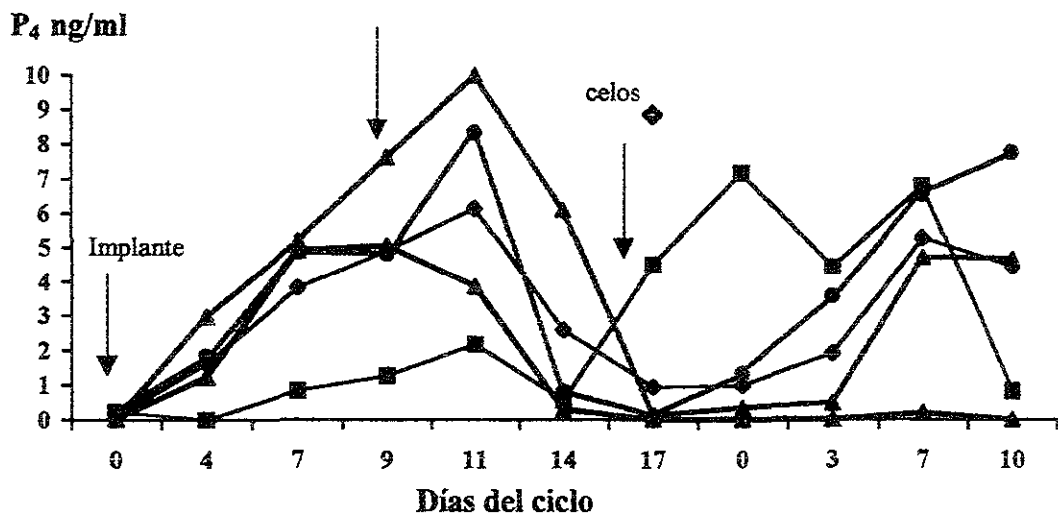
**CUADRO 3. APLICACIÓN DEI NORGESTOMET EN DIFERENTES DÍAS DEL CICLO ESTRAL Y SU EFECTO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA.**

DÍA DE APLICACIÓN	Nº ANIMALES POR GRUPO	CONCENTRACIÓN DE P <sub>4</sub> ng/ml X ± EE
0	5	2.77 ± 1.00 <sup>a</sup>
5	4	2.39 ± 1.00 <sup>a</sup>
10	3	5.32 ± 1.12 <sup>a</sup>
15	4	3.46 ± 1.12 <sup>a</sup>
Fase testigo	5	2.27 ± 1.25 <sup>a</sup>

Filas con la misma literal no presentan diferencia (P > 0.05).

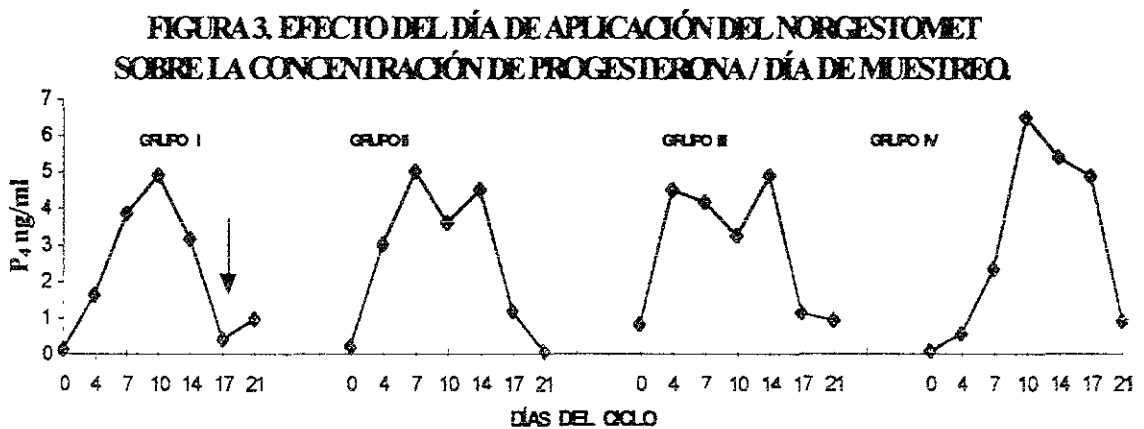
Sin embargo cuando se compararon los niveles de progesterona dentro del grupo se encontró que los animales del grupo I tuvieron una notable variación entre si, como se aprecia en la figura 2 detectándose que aún a pesar de esto, todas las hembras tuvieron niveles de P<sub>4</sub> inferiores a 1ng/ml para el día 17 del ciclo, habiéndose observado animales con niveles de P<sub>4</sub> menores a 1 ng/ml desde el día 14.

**FIGURA 2. NIVELES DE PROGESTERONA POR DÍA DE RETIRO REO DENTRO DEL GRUPO**



◆ En todos los casos la presentación del estro fue entre el día 14-17 del ciclo

Este mismo efecto se detectó cuando se compararon los valores de  $P_4$  por día de muestreo durante el ciclo e interacción tiempo por grupo, en donde se observó que los animales del grupo I fueron los únicos cuyos valores de progesterona disminuyeron en promedio a menos de 1ng/ml al día 17 del ciclo siendo diferentes ( $P<0.03$ ) a lo observado el mismo día para los grupos II, III, y IV (Figura 3).

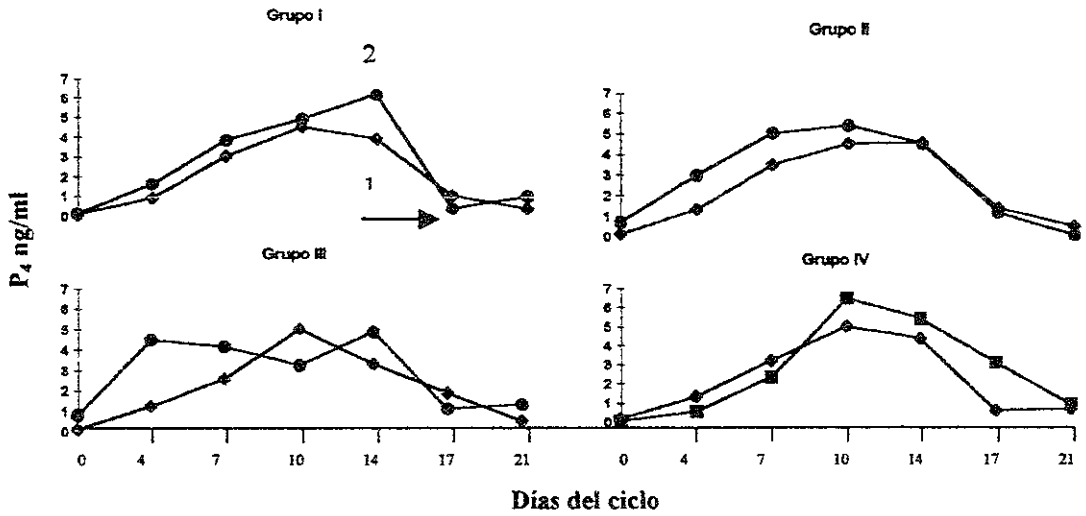


La flecha indica el día del ciclo en que los valores fueron menores a 1ng/ml

Este mismo comportamiento se observó cuando se compararon los valores de progesterona por día de muestreo durante un ciclo previo al tratamiento, respecto a los del grupo I ( $P<0.05$ ), no así con los del grupo II, III y IV. (Figura 4).



**FIGURA 4. NIVELES DE PROGESTERONA ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO POR DÍA DEL CICLO.**



1 antes (para todos los grupos)

2 después

La flecha indica el día del ciclo en que los valores de P<sub>4</sub> del grupo I fueron menores a 1 ng/ml respecto a los alcanzados por los animales durante la fase control.

## DISCUSIÓN

El conocimiento preciso del mecanismo por medio del cual los progestágenos inducen la presentación del estro ha modificado el hecho de que estos pueden ser aplicados en cualquier etapa del ciclo estral sin alterar sustancialmente la presentación del estro y la fertilidad. Los resultados obtenidos en el presente trabajo en cuanto a la presentación del estro y tiempo de presentación postratamiento concuerdan por lo reportado en trabajos previos en donde se menciona que el tiempo de respuesta al tratamiento sincronizado varía entre hembras sincronizadas con progestágenos en distintas etapas del ciclo estral (Macmillan *et al.*, 1991) en cambio, el porcentaje de hembras en estro depende del estado del ciclo estral, de tal manera que la respuesta es mayor si al aplicarse el fármaco las hembras se encuentran entre el día 0 al 11 del ciclo (Brink and Kiracofe 1988). En el presente estudio el tiempo de presentación del estro se vio afectado por el momento en que aplicó el norgestomet, esto coincide con lo reportado por Brink and Kiracofe, (1988) quienes mencionan que mientras no ocurra una regresión endógena del CL los niveles de  $P_4$  permanecen altos, evitándose las manifestaciones del estro o bien estas aparecerán hasta que los niveles de  $P_4$  disminuyan por debajo de 1ng/ml de progesterona y coincida con la presencia de un folículo en desarrollo. Esta situación se vio reflejada en los animales del grupo I que recibieron el tratamiento el día 0 es decir sin presencia de un CL en los que la presentación del estro fue mas tardía, situación que no ocurrió para los grupos II, III y IV en donde el retiro del implante coincidió aproximadamente con la regresión del CL (Figura 1). Datos similares han sido reportados por Sánchez (1993) y Cavalieri *et al.* (1998) quienes demostraron que cuando las vacas son tratadas con progestágenos sin la presencia de un CL, no se suprimen los pulsos de LH y manifiestan en mayor tiempo la conducta de estro en comparación con animales que son tratados y se encuentra presente un CL funcional.

En cuanto a la duración de la fase lútea los animales del grupo I (sin CL) presentaron una reducción en la duración de la fase lútea de 3, 4 y 7 días en comparación con los animales del grupo II, III y IV respectivamente, la causa por la cual hay una reducción no esta del todo clara, así se ha reportado que en vacas a las que se les aplica un progestágeno en ausencia de CL los niveles de estradiol se encuentran elevados durante el

periodo de tratamiento habiendo un estímulo luteotrópico disminuido y liberación prematura o sensibilidad incrementada a oxitocina (Garverick *et al.*, 1988; Fike *et al.*, 1997). Silvia y Taylor (1989); Cooper *et al.* (1991) mencionan que la exposición uterina a progesterona posterior a la luteólisis es necesaria para una adecuada secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  esto ha sido comprobado pues como se sabe la acumulación de gotas de lípidos, fosfolípidos y triglicérido por el endometrio son progesterona dependientes (Silvia *et al.*, 1991). La exposición a progesterona puede igualmente estimular la síntesis de prostaglandina sintetasa (Ciclooxigenasa; Husling *et al.*, 1979) así como un incremento en la capacidad de la fosfolipasa C (Silvia *et al.*, 1991).

Por otro lado estudios realizados por Zollers *et al.* (1993) y Bazer *et al.* (1991) demostraron que la continua exposición del endometrio a  $\text{P}_4$  regula a la baja la expresión de receptores para  $\text{P}_4$  particularmente en el epitelio luminal, e incrementan el número de receptores para estrógenos inducidos por el mismo estradiol que se produce por el folículo dominante de la última onda folicular, induciendo estos la expresión a la alta de receptores para oxitocina del CL que estimulará la síntesis y liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  iniciándose con esto la cascada de eventos que llevan a la luteólisis del CL con su consecuente regresión y reducción en la duración de la fase lútea, resultados similares fueron observados por Garret *et al.* (1988) quienes demostraron que la administración de progesterona durante el metaestro reduce el intervalo entre estros por 4 días (16.7 vs 21.6 días). El acortamiento del intervalo entre estros resultó de una disminución temprana de progesterona lo que coincidió con un incremento de la liberación pulsátil de PGFM concluyendo que la disminución del intervalo entre estros después del tratamiento con progesterona exógena esta mediado por una maduración temprana del útero que indica una liberación temprana de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  desde el endometrio uterino. Al respecto, McCracken *et al.* (1984) propusieron que la duración de la fase lútea está determinada por el tiempo que la concentración de  $\text{P}_4$  permanece alta y esta se reduce cuando ocurre una disminución de sus propios receptores (bloqueo de progesterona) cerca de 10 días después. Posteriormente, un incremento de receptores a oxitocina en el útero los que se unirán a la oxitocina ovárica que inducirá la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  desde el útero estableciendo entre ambas hormonas el mecanismo de

retroalimentación positiva que regula la secreción pulsátil de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  para completar el proceso de regresión lútea (Silvia *et al.*, 1991).

Resultados similares a los encontrados en el presente trabajo fueron reportados por Hampton *et al.* (1999) y Peterson *et al.* (2000) quienes observaron que la administración de progestágenos en etapas tempranas del ciclo estral induce una regresión prematura del CL por liberación anticipada de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  así mismo Mann *et al.* (1998) demostraron que en vacas ovariectomizadas a las que se les administró progesterona, la aplicación de oxitocina en la fase temprana de la fase lútea inducida aceleró la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sin embargo en otro experimento Mann (1999) encontró que la frecuencia en la liberación normal de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ocurre independientemente de la secreción de oxitocina lútea, pero esta es necesaria para mantener y regular la magnitud requerida para completar la luteólisis.

En otro estudio realizado por Fanning *et al.* (1992) encontraron que la administración de grandes cantidades de norgestomet aparentemente incrementa la eficacia en la lisis del cuerpo lúteo en hembras en metaestro. Por otro lado Salfen *et al.* (1999) en un estudio donde evaluaron el efecto de la presencia de un folículo dominante y la administración exógena de estradiol sobre la duración de la fase lútea, encontraron que aquellos animales cuyos ciclos estrales presentaron solo dos ondas u oleadas foliculares el inicio de la segunda onda fue más tardío (12 días después del estro) en comparación con los animales que presentaron tres oleadas de desarrollo folicular (9 días) observándose una reducción en la duración de la fase lútea en los animales tratados con estradiol, argumentando que la luteólisis ocurrió antes (día 14.5 del ciclo) en aquellos animales que presentaron dos ondas foliculares en comparación con aquellos que presentaron tres ondas (día 19). Esta misma situación utilizando progesterona durante el metaestro, ha sido reportada por Macmillan y Peterson (1993); Burke *et al.* (1994); Lynch *et al.* (1999) quienes observaron una reducción en el intervalo entre estros cuando el tratamiento coincidió con la presencia de 2 ondas foliculares.

Basado en estos hallazgos es probable que la reducción en la fase lútea encontrada en los animales del grupo I haya sido inducida por una liberación prematura de prostaglandinas desde el endometrio uterino, debida por un lado al efecto de la saturación temprana de los receptores de progesterona ocupados por el progestágeno y por el otro a

que los animales hayan presentado dos ondas foliculares coincidiendo la mayor producción de estradiol con el folículo dominante presente al final de la fase de tratamiento.

Esta hipótesis se ha observado en vacas a las que se aplicó un progestágeno en ausencia de CL y presentaron una mayor concentración de estradiol en la circulación sanguínea durante el periodo de tratamiento en donde se encontraron una mayor incidencia de fases lúteas subnormales debido a un estímulo luteotrópico disminuido y liberación prematura o sensibilidad incrementada a oxitocina (Sánchez, 1993; Garverick *et al.*, 1988; Fike *et al.*, 1997).

En un estudio realizado por Macmillan *et al.* (1991) en novillonas ciclando y ovariectomizadas encontraron que la administración durante el metaestro de CDIR por 12 días redujo la longitud del ciclo estral (18.2 VS 21 días) comparado con el grupo sin tratamiento, concluyendo que los cambios en la concentración de progesterona son influenciados por la inserción o remoción del dispositivo, etapa del tratamiento, estado del ciclo cuando el tratamiento fue iniciado o terminado, el número de dispositivos insertados y cuando se aplica estrógeno o prostaglandinas.

El hecho de que en los animales del grupo II, III y IV no se observaran cambios en la duración de la fase lútea en el ciclo siguiente al tratamiento, probablemente se deba a que no se alteró el mecanismo endocrino natural que controla la regresión lútea ya que durante el tratamiento el retiro del implante de norgestomet coincidió con la regresión lútea normal (Figura 3), este hecho probablemente se deba a que efectivamente la respuesta al norgestomet puede ser dependiente del momento y/o exposición del útero a la progesterona (Hampton *et al.*, 1999).

Lo anteriormente expuesto pone de manifiesto que la exposición prematura a la progesterona adelanta el momento en el cual la habilidad de la P<sub>4</sub> para inhibir la aparición de receptores endometriales de oxitocina se pierde, o se produce una disminución a la baja (down regulation) de los receptores para P<sub>4</sub> reduciendo con esto la duración de la fase lútea (Hampton *et al.*, 1999).

En cuanto a la concentración de progesterona los resultados encontrados en el presente estudio indican que no hubo diferencias entre ninguno de los grupos cuando fueron comparados estos entre sí durante el ciclo posterior al tratamiento, obteniéndose

valores de  $2.7 \pm 1.0$ ,  $2.3 \pm 1.0$ ,  $5.3 \pm 1.1$  y  $3.4 \pm 1.1$  para los grupos tratados el día 0, 5, 10 y 15 respectivamente, ni cuando se compararon con los valores encontrados durante el ciclo previo al tratamiento ( $2.2 \pm 1.2$  ng/ml).

Estos resultados difieren a los reportados por Burns *et al.* (1993) quienes al analizar el efecto de la administración de norgestomet en vacas durante los días 9-14 del ciclo, observaron la presencia de un CL de menor tamaño y menores concentraciones de progesterona al día 8, en comparación con vacas sin tratamiento. Por otro lado Howell *et al.* (1994) reportaron una menor concentración de  $P_4$  en vacas durante el verano con relación a los animales evaluados durante la primavera concluyendo que durante la estación de calor hay una reducción en la síntesis de progesterona probablemente por el estrés al que están sometidos los animales. Esto generalmente es cierto para vacas lecheras no así en animales cebú quienes desarrollan una mayor resistencia a los factores medioambientales existentes en las regiones tropicales.

Un aspecto significativo en el presente trabajo fue el hecho de que cuando se analizaron los niveles de progesterona por día de muestreo, en todos los animales del grupo I se observó una disminución de los niveles de progesterona ( $<1$ ng/ml) entre los días 14-17 del ciclo lo que indico una luteólisis mas temprana en comparación a los grupos II, III, IV durante el ciclo antes y un ciclo posterior al tratamiento. Esta reducción temprana como se ha mencionado anteriormente probablemente se deba a que bajas concentraciones del progestágeno (3 mg) inducen liberación de LH que en consecuencia estimula la producción de estradiol, aumento de receptores a oxitocina, captación de oxitocina ovárica y liberación prematura de  $PGF_{2\alpha}$ , ya que como lo ha reportado Mann *et al.* (1998), la exposición a la progesterona por 6 días es suficiente para inducir una máxima habilidad para liberar  $PGF_{2\alpha}$  en respuesta a la oxitocina, habiéndose observado que la influencia de la progesterona sobre el momento en que se produce la luteólisis es mediada a través del control de receptores de oxitocina, que se encuentran elevados 3-5 días después del estro en ovejas que presentan una reducción en la fase lútea (Hunter, 1991).

Por otro lado en cuanto a la falta de estímulo luteotrópico que se ha mencionado puede ser la causa en la reducción de las concentraciones de progesterona, estudios realizados por Peters *et al.* (1994) han demostrado que un pulso cada hora de LH es

necesario para mantener el desarrollo del cuerpo lúteo los primeros 2-12 días del ciclo, y la administración de un antagonista de LH en los primeros 2-12 días alteró el patrón de secreción de LH y provocó una disminución de los niveles de  $P_4$  que se reflejó aproximadamente 3 días después de que se alteró la frecuencia de secreción de LH.

## CONCLUSIONES

1. - Las evidencias encontradas en el presente estudio indican que la aplicación de norgestomet durante la fase temprana del ciclo (día 0) afectó la duración de la fase lútea lo que ocasionó un acortamiento del siguiente ciclo estral.

2. - La concentración de progesterona durante el ciclo no fue afectada independientemente de la etapa de aplicación del norgestomet.

3. - Los resultados del presente estudio indican que es posible que la reducción en la duración de la fase lútea, afecte la tasa de gestación en animales tratados durante los primeros días del ciclo lo cual deberá de ser objeto de posteriores estudios.

4. - Se sugiere que un segundo experimento deberá considerar la posibilidad de analizar otras variables como podrían ser la dinámica folicular durante el tratamiento, cuantificación de PGFM e incrementar el tamaño de la muestra lo que permitiría concluir con mayor certeza.



## LITERATURA CITADA

Adams GP. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology* 1994; 41: 19-24.

Aggarwal BB, Walker-Farmer S, Papkoff H and Seidel GE Jr. Biochemical properties of Equine Chorionic Gonadotropin from two different pools of pregnant mare serum. *Biol Reprod* 1980; 23: 570-576.

Ahmand JM, Leyva C, De Armas R. Efecto de la edad y el peso sobre la selección de novillonas antes de su incorporación a la reproducción como donante de embriones potenciales. *Rev Cub Reprod Anim* 1995; 21: 33-40.

Anta JE, Porras AA, Zarco, QL y Galina, CS. Análisis de la información publicada en México sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos: II Parámetros reproductivos. *Vet Méx* 1989; 20: 11-18.

Bair DT. Luteotrophic control of the corpus luteum. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 95-110.

Bao B and Garverick HA. Expression of esteroidogenic enzyme and gonadotroping receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim Sci* 1998; 76: 1903-1921.

Bastidas P, Tróconis O, Verde S. Effect of restricted sucking on ovarian activity and uterine involution in Brahman cows. *Theriogenology* 1984; 21: 525-532.

Basurto CH, Alonso DM, González GS. Eficiencia reproductiva de vacas cebú en amamantamiento restringido tratadas con Norgestomet y PMSG en empadre estacional en el trópico húmedo. XXXIII Congreso Nacional de Buiatría. Aguascalientes Ags. México 1999:139.

Battista PJ, Rexroad Jr CE and Williams WF. Effects of progesterone administered to dairy heifers on sensitivity of corpora lútea to PGF<sub>2α</sub> and on plasma LH concentration. *Theriogenology* 1984; 22: 47-51.

Bazer FW, Thatcher WW, Hansen MA, Mirando MA, Ott TL and Plante C. Physiological mechanisms of pregnancy recognition in ruminants. *J Reprod Fertil* 1991; 43(Suppl): 39-47.

Beal WE. 1998. Current estrus synchronization and artificial insemination programs for cattle. *J Anim Sci* 1998; 78 (Suppl 3): 30-38.

Bergfeld EGM, Kojima FN, Cups AS, Wherman ME, Peters KE, Mariscal V, Sanchez T, Kinder JE. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 $\beta$  estradiol in bovine females. *Biol Reprod* 1996; 54: 546-553.

Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Effect of progestogen plus estradiol-17 $\beta$  treatment on superovulatory response in beef cattle. *Theriogenology* 1996; 45: 897-910.

Breuel KF, Lewis PE, Inskoop EK, Butcher RL. Endocrine profiles and follicular development in early-weaned postpartum beef cows. *J Reprod Fertil* 1993; 97: 205-212.

Brink JT and Kiracofe GH. Effect of estrous cycle stage at Sincromate-B treatment on conception and time to estrus in cattle. *Theriogenology* 1988; 29: 513-518.

Burke CR, Macmillan KL, Bolan MP. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Anim Reprod Sci* 1996; 45: 13-28.

Burke CR, Mihm M, Macmillan KL, Roche JF. Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. *Anim Reprod Sci* 1994; 35: 27-39.

Burns PD, Spitzer JC, Bridges WC Jr, Henricks DM and Plyl BB. Effects of metestrous administration of a norgestomet implant and injection of norgestomet and estradiol valerate on luteinizing hormone release development and function of corpora in and sucklet beef cows. *J Anim Sci* 1993; 71 4: 983-998.

Butler WR and Elrod CC. Reproduction in high-yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake. *Memorias Sexto Curso Internacional de Reproducción Bovina* 1995 mayo 8-11 México(D.F) México: Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, 1995: 20-27.

Butler WR and Smith RD. Relationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1989;72: 767-783.

Calderón RC, Villa-Godoy A, Lagunes LJ. Frecuencia y origen de las elevaciones transitorias de progesterona en vaquillas cebú y suizo pardo prepúberes en condiciones tropicales. *Téc Pec en Méx* 1998; 36: 11-13.

Cavalieri J, Rubio I, Kinder JE, Entwistle KW, Fitzpatrick LA. Sincronization of estrus and ovulation and asociated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology* 1997; 47: 801-814.

Cavalieri J, Coleman C, Kinder JE, Fitzpatrick LA. Comparison of three methods of acute administration of progesterone on ovarian follicular development and the timing and synchrony of ovulation in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 1998; 49: 1331-1343.

Cavalieri J, Kinder JE, Fitzpatrick LA. The duration of ovulation suppression with subcutaneous silicone implants containing norgestomet in *Bos indicus* heifers and cows. *Anim Reprod Sci* 1998; 51: 15-22.

Cooper DA, Carver DA, Villanueva P, Silvia WJ and Inskoop EK. Effects of progestogen treatment on concentration of prostaglandins and oxtocin in plasma from the posterior vena cava of pos-partum beef cows. *J Reprod Fertil* 1991; 9: 411-421.

Copeling JP, Smith MF, Garverick HA and Youngquist RS. Effects of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows *J Anim Sci*; 1987; 64: 1506-1511.

Cupps PT. *Reproduction in Domestic Animals*. 4a ed, San Diego California: Academic Press Inc, 1991.

Christie WB, Newcomb R and Rowson LEA. Ovulation rate and eggs recovery in cattle treated repeatedly with pregnant mare serum gonadotroping and prostaglandin. *Vet Rec* 1979; 104: 281-283.

Davis JS, May JV and Keel BA. Mechanisms of hormone and Growth factor action in the bovine corpus luteum. *Theriogenology* 1996; 45: 1351-1380.

Del Vecchio RP. The rol of esteroidogenic and nonsteroidogenic luteal cell interaction in regulating progesterone production. *Semin Reprod Endocrinol* 1997; 15: 4409-4420.

Dimmick MA, Gimenez T, Spitzer JC. Ovarian endocrine activity and development of ovarian follicles during the pospartum interval in beef cow. *Anim Reprod Sci* 1991; 24: 173-183.

Downing JA and Scaramuzzi RJ. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J Reprod Fertil* 1991; 43(suppl): 209-227.

Driancourt MA and Fry RC. Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of ovulatory follicles in sheep. *Anim Reprod Sci* 1992; 27: 279-292.

Driancourt MA, Gibson WR and Cahill LP. Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. *J Reprod Fertil* 1985; 25: 1-15.

Driancourt MA, Thatcher WW, Terqui M and Andrieu D. Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. *Dom Anim Endocrinol* 1991; 8: 209-221.

Driancourt MA. Ovarian features contributing to the variability of PMSG-induced ovulation rate in sheep. *J Reprod Fertil* 1987; 80: 207-212.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 1989; 72: 68-78.

Evans G and Robinson TJ. The control of fertility in sheep: Endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and anoestrus. *J Agric Sci* 1980; 94: 69-180.

Fallas MRA. Estudios sobre la involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica después del parto en vacas F1 ( Holstein X Cebú) en el trópico húmedo de México. (Tesis de doctorado) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.UNAM, 1987.

Fanning MD, Spitzer JC, Burns GL, Plyler BB. Luteal function and reproductive response in suckled beef cows after metoestrus administration of a norgestomet implant and injection of oestradiol valerate with various dosages of inyectable norgestomet. *J Anim Sci* 1992; 70: 1352-1356.

Farin CE, Moeller CL, Sawyer HR, Gamboni F and Niswender GD. Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. *Biol Reprod* 1986; 32: 1299-1308.

Ferguson JD, Galligan DT and Thomsen N. Principal descriptions of body condition score in holstein cows. *J Dairy Sci* 1994; 77: 2695-2703.

Fields MJ and Fields PA. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous and pregnancy. *Theriogenology* 1996; 45: 1295-1325.

Fike KE, Inskeep EK, Kinder JE, Lewis PE, Short RE, Hafs HD. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J Anim Sci* 1997; 75: 2009-2015.

Fitz TA, Mayan MH, Sawyer HR and Niswender GD. Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol Repro.* 1982; 27: 703-711.

Fitz TA, Hoyer CL and Niswender GD. Interactions of prostaglandins with subpopulations of ovine luteal cells I. Stimulatory effects of prostaglandins E1, E2 and I2. *Prostaglandins* 1984; 28: 119-126.

Fuentes MC, Galina CS and Navarro FR. Reliability of reproductive records for the study of reproductive efficiency in the tropics: Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Dublin, Irlanda University College. Dublin, Irlanda 1998 ; 531.

Galina C and Arthur GH. Review on cattle reproduction in the tropic. Part 4. Oestrus cycles *Anim Breed Abst.* 1990; 58: 697-707.

Galina CS and Arthur GH. Review of cattle reproduction in the tropics: Part 3 Puerperium. *Anim Breed Abstr* 1989; 57: 989-910.

García E. Modificaciones al sistema de clasificación climatológica de Köppen. 4<sup>a</sup> ed. México D.F. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, 1988.

Garcia-Winder M, Lewis PE, Deaver DR, Smith VG and Inskeep EK. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. *J Anim Sci* 1986; 62: 1353-1362.

Garrett JE, Geiser RD, Zavy MT, Gries LK, Wettemann RP and Buchanan DE. Effect of exogenous progesterone on prostaglandin F<sub>2α</sub> release and the interestrus interval on the bovine. *Prostaglandins* 1988; 36:85-96.

Garverick HA and Smith MF. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J Anim Sci.* 1986; 62(Suppl 2): 92.

Garverick HA, Parfet JR, Lee CN, Copeling JP, Youngquist RS and Smit MF. Relation ship of pre-and post-ovulatory gonadotroping secretion to subnormal luteal function in pospartum beef cow. *J Anim Sci* 1988; 66: 104-111.

Garverick HA, Zollers WG and Smith MF. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animal having normal of subnormal luteal funcion. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 111-124.

Garverick HL and Smit MF. Female reproductive physiology and endocrinology of cattle. *Vet Clin Nam. Food Animal Practice* 1993; 2: 223-247.

Geisert DR, Short CE and Zavy TM. Maternal recognition of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 287-298.

Ginther OJ. Effect of progesterone on length of estrous cycle in cattle. *Am J Vet Res* 1970; 31: 493-497.

González-Stagnaro C, Goicochea J. Condición corporal, eficiencia reproductiva y producción de leche en vacas mestizas. *Memorias XI Reunión Latinoamericana de Producción Animal La Habana. Cuba* 1988.

Hafez ESE. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 6a ed. México: Interamericana, 1993.

Hampton JH, Spitzer JC, Henricks DM, Hix BS and Higdon HL 3rd. Retention of a functional corpus luteum and peripheral concentration of 13, -prostaglandin 14 dihidro-15-ketoprostaglandin F<sub>2α</sub> following metestrus administration of Sincro-Mate-B. *J Anim Sci* 1999; 77: 948-953.

Hansel W and Blair MR. Bovine corpus luteum: a historical overview and implications for future research. *Theriogenology* 1996; 45: 1267-1294.

Helmer SD and Britt JH. Hormone secretion and characteristics of estrous cycles after treatment of heifers whit Human chorionic gonadotropin or prostaglandin f2 alpha during corpus luteum formation. *J Anim Sci* 1987; 64: 782-89.

Hernández CJ. Cuerpos lúteos de vida corta en la vaca: Desarrollo causas y efecto sobre la fertilidad. *Memorias séptimo curso Internacional de Reproducción Bovina; 1997 mayo 19-22; México (DF) Academia de la Investigación en Biología de la Reproducción, AC, 1997: 271-278.*

Howell JL, Fuquay JW and Smit AE. Corpus luteum grown and function in lactating holstein cows during spring and summer. *J Dairy Sci* 1994; 77: 735-739.

Hunter MG, Southee JA, Mcleod BJ and Haresing W. Progesterone pretreatment has a direct effect on GnRH-induced preovulatory follicles to determine their ability to develop to normal corpora lutea in anoestrous ewes. *J Reprod Fertil* 1986; 76: 349-363.

Hunter MG. Characteristic and causes of the inadequate corpus luteum. *J Reprod Fert* 1991; 43(Suppl): 91-99.

Husling RL, Fogwell RL and Smit WL. The prostaglandin forming cyclooxygenase of ovine uterus; relationship to luteal function. *Biol Reprod* 1979; 2: 589-600.

Imakawa K, Day ML, Zalesqui DD, García-Winder M, Kittok RJ, Kinder JE. Influence of dietary-induced Weight changes on serum Luteinizing hormone, estrogen and progesterone in the bovine female. *Biol Reprod* 1986; 35: 377-384.

Inskeep EK. Factors that affect fertility during oestrous cycles with short or normal luteal phases in postpartum cows. *J Reprod Fert* 1995; 49(Suppl): 495-503.

Jaainudeen ER, Hafes ESE, Gollnic PD and Moustafa A. Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Amer J Vet Res* 1966; 27: 669-675.

Jiménez PR. Posible conducta de imitación (alolimetria) en la manifestación del celo en hembras *Bos indicus* sometidas al estímulo de vacas en celo, post-sincronización con progestágenos (Tesis de licenciatura). Heredia (Heredia) Costa Rica: Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina Veterinaria. Univ. Nacional.

John RG, Milo CW, Ginther OJ. Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biol Reproduction* 1999; 60: 73-77.

Juenguel JL, Garverick AL, Johnson AL, Youngquist RS and Smit MF. Apoptosis during luteal regression in cattle. *Endocrinology* 1993; 132: 249-254.

Kerr DR, McGowan MR, Carrol CL, Baldock FC. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in Northern Australia. *Theriogenology* 1991; 36: 129-141.

Kesler DJ Favero RJ. Oestrus synchronization in beef females with norgestomet and oestradiol valerate: Mechanism of action. *Agric Prac* 1995; 16: 6-11.

Kojima N, Stumpf TT, Cups AS, Wert LA Roberson MS, Wolfe Mf, Kittok RJ Kinder JF. Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimes do ni mimic the corpus luteum in regulation of LH and 17 $\beta$ -estradiol in circulation in cow *Biol Reprod* 1992; 47:1009-1007.

Lamming GE, Wathes DC, Peters AR. Endocrine patterns of the pos- partum cow. *J Reprod Fertil* 1981; 30: 155-170.

Larson LR, Kiracofe GH. Estrus after treatment with syncromate-B in ovariectomized heifers is dependant on the injected estradiol valerate. *Theriogenology* 1995; 44: 177-187.

Larson LL and Ball PJH. Regulation of estrous cycles in dayry cattle: A review. *Theriogenology* 1992; 38:255-267.

Leslie KE. The events of normal and abnormal pospartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: A review. *Can Vet J* 1983 ;24: 67-61.

Lishman AW and Inskeep EK. Differences in luteal function during reinitiation of cyclic breeding activity in beef cows and in ewes. *J Anim Sci* 1991; 21: 59-76.

López TR. La condición corporal y su relación en algunos parámetros productivos y reproductivos en ganado vacuno. Revisión bibliográfica. *Rev Cub Reprod Anim* 1994; 20: 1-23.

Lucy MC, Collier RJ, Kitchell ML, Dibner JJ, Hause SP and Kriui GG. Immunohistochemical and nucleid acis analysis of somatotropin receptor populations in the bovine ovary. *Bio Reprod* 1993; 48: 1219-1227.

Lynch PR, Macmillan KL, Taufa VK. Treating cattle with progesterone as well as a GnRH analogue affects oestrous cycle length and fertility. *Anim Reprod Sci* 1999; 56: 189-200.

Macmillan KL and Burke CR. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency *Anim Reprod Sci* 1996; 42: 307-20.



Macmillan KL and Peterson AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anoestrus. *Anim Reproduc Sci* 1993; 33: 1-25.

Mann GE. The role of luteal oxytocin in episodic secretion of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  at luteolysis in the ewe. *Anim Reprod Sci* 1999; 57: 167-175.

Mann JE, Lamming GE, Payne JH. Role of early luteal phase progesterone in Control of the timing of the luteolytic signal in cows. *J Reprod Fertil* 1998; 113: 47-51.

Martin BG & Hunziker. Nutrición y reproducción en rumiantes en: *Memorias X Curso internacional de fisiología de la reproducción en rumiantes*; 1999 Septiembre 8-10 Texcoco (Méx); Colegio de Postgraduados, 1999: 27-58.

McCracken JA, Schramm W and Okulicz WC. Hormone receptor control of pulsatile secretion of  $PGF_{2\alpha}$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1984; 7: 31-55.

McGuire WJ, Juenguel JL and Niswender GD. Protein kinase C second messenger system mediates the anti-steroidogenic effects of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in the ovine corpus luteum in vivo. *Biol Reprod* 1994; 51: 800-806.

McGuire WJ, Larson RL, Kiracofe GH. Sincro-Mate B induces estrus in ovariectomized dairy cows and heifers. *Theriogenology* 1990; 34: 33-37.

McIntosh JE, Moor RM and Allen WR. Pregnant mare serum gonadotrophin: rate of clearance from the circulation of sheep. *J Reprod Fertil* 1975; 44: 95-100.

McMillan KL, Taufa VK, Barnes DR, Day AM. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. *Anim Reprod Sci* 1991; 26: 25-40.

McNatty KP, Gibb M, Dobson C, Ball K, Coster J, Heath D and Thurley DC. Preovulatory follicular development in sheep treated with PMSG and/or prostaglandin. *J Reprod Fertil* 1982; 65: 111-123.

McNeilly AS, Picton HM, Campbell BK and Bair DT. Gonadotrophic control of follicle growth in the ewe. *J Reprod Fertil* 1991; 43: 177-186.

McNeilly AS, Crow WJ and Frase HM. Suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion by gonadotrophin-releasing hormone antagonist does not affect episodic

progesterone secretion ora corpus luteum function in ewes. J Reprod Fertil 1992; 96: 865-874.

Meidan R, Milvae RA, Weis S, Levy N and Friedman A. Intraovarian regulation of luteolysis. J Anim Reprod 1999; 54 (Suppl) 217-228.

Méndez RL, Guerrero DN, Moreno SL, Sosa MC. El protocolo de investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis. 2ª ed. México, DF. Edit Trillas, 1994.

Miranda BF. Efecto del amamantamiento, condición corporal y sincronización del estro sobre la eficiencia reproductiva en vacas cebú (*Bos indicus*) en el trópico húmedo de México. (Tesis de licenciatura). México, D.F México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2000.

Montgomery CD. Diseño y análisis de experimentos. 1ª ed. México: Grupo Editorial Iberoamérica 1991.

Moor RM, Kruip ThAM and Green D. Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation. Theriogenology 1984; 21: 103-116.

Moore CP and Campos da Rocha CM. Reproductive performance of Gyr cows: The effects of weaning age of calves and postpartum energy intake. J Anim Sci 1983; 57: 807-814.

Morell AG, Gregoriadis G, Scheimberg IH, Hickman J and Ashwell G.: The role of sialic acid in determining the survival of glycoproteins in the circulation. J Biol Chem 1971; 246: 1461-1467.

Mukasa-Mugerwa E, Anindo E, Lahlou-Kassi A, Umanna NN, Tegegne A. Effect of body condition and energy utilization the length of postpartum anoestrus in PRID-treated and untreated postpartum *Bos indicus* (zebu) cattle. J Anim Sci 1997; 65: 17-24.

Murphy BD, Pescador N. Métodos para evaluar la respuesta ovulatoria en el ganado. Memorias Séptimo Curso Internacional de Reproducción Bovina; 1997 mayo 19-22; México(DF): Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, AC, 1997: 87-100.

Murphy DB. Models of luteinization: Minireview. Biol Reprod 2000; 63: 2-11.

Nett TM . Function of the hipotalamic-hipophysial axis during the pos-partum period in ewes and cows. J Reprod Fertil 1987; 34: 201-213.

Niswender DG, Juenguel LJ, Silva JP, Rollyson MK and McIntush WE. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiological Reviews* 2000; 80: 1-29.

Niswender GD and Nett TM. The corpus luteum and its control in infraprimate species. In: *The Physiology of reproduction*. Edited by E. Knobil and J Neill. Raven Press, New York, 1994, vol 1: p.781-816.

Niswender GD, Juengel JL, McGuire WJ, Belfore CJ, and Witbank. MC. Luteal function: The estrous cycle and early pregnancy. *Biol Reprod* 1994; 50: 237-239.

Odde KG. A review of sincronization of estrus in pospartum cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 817-830.

Odde KL, Ward HS, Kiracofe GH, Mckee RM and Kittok RJ. Short estrous cycles and associated progesterone levels in beef cows. *Theriogenology* 1980; 14: 105-112.

Oxenreider SL and Wagner WC. Effect of lactation and energy intake on pospartum ovarian activity in the cow. *J Anim Sci* 1971; 33: 1026-1031.

Papkoff H. Variations in the properties of equine Chorionic gonadotropin *Theriogenology* 1981; 15: 1-10.

Pate JL. Cellular components involved in luteolisis *J Anim Sci* 1994; 72: 1884-1890.

Patterson DJ, Kiracofe GH, Stevenson JS and Corah LR. Control of the bovine estrous cycle whit melengestrol acetate (mga): A Review. *J Anim Sci* 1989; 67:1895-1906

Patterson DJ, Woofd SL, Kojima FN ad Smith MF. Current and emerging system to Sincronize estrus. *Memorias VIII Curso Internacional de Reproducción Bovina*; 2000 mayo 15-18; México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. 2000: 97-110.

Pedroso R Gonzalez N y Jaramillo NE. Influencia del estado de la condición corporal sobre la respuesta de los tratamientos de inducción y sincronización del celo en novillonas. *Rev Cub Reprod Anim*. 1994; 20: 53-59.

Pedroso R y Roller F. Tecnología para la regulación del ciclo estral, la superovulación y el diagnostico precoz de gestación en el ganado bovino. Revisión bibliográfica. *Rev Cub Reprod Anim* 1997; 23: 1-22.

Pedroso R, Bonachea S. Influencia de la condición corporal sobre el comportamiento reproductivo del ganado bovino. Revisión bibliográfica. Rev Cub Reprod Anim 1995; 21: 1-14.

Peters AR and Lamming GE. Reproductive activity of the cow in the pos-partum period II. Endocrine patterns and induction of ovulation. Vet J 1984; 140: 269-279.

Peters AR and Lamming GE. Regulation of ovarian function in the postpartum Cow: An endocrine model. Vet Rec 1986; 118: 236-239.

Peter AT, Bosu WK, Liptrap RM and Cummings E. Temporal changes in serum prostaglandin  $F_{2\alpha}$  and oxytocin in dairy cows with Short luteal phases after the first postpartum ovulation. Theriogenology 1989; 32: 277-284.

Peters KE, Bergfeld EG, Cupp AS, Kojima FN, Mariscal V, Sánchez T, Wehrman ME, *et al.*, Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corporea lútea (CL) but is not required to maintain CL function in heifers. Biol Reprod 1994; 51: 1248-1254.

Peterson CA, Huhn JC, Kesler DJ. Norgestomet and oestradiol valerate-induced luteolysis is dependent upon the uterus. Anim Reprod Sci 2000; 58: 253-259.

Pratt BR, Berardinelli JG, Stevens and Inskeep EK. Induced corporea lutea in the postpartum beef cow. Comparison of gonadotropin releasing hormone and human chorionic gonadotropin and effects of progestogen and estrogen. J Anim Sci 1982; 54: 822-828.

Ramírez -Godínez JA, Kiracofe GH, McKee RM, Schalles RR and Kíttok J. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. Theriogenology 1981; 15: 613-618.

Ramírez PG, Basurto CH, Martínez AA. Efecto del GnRH combinado con destete temporal y definitivo sobre el anestro posparto en vacas cebú en el trópico húmedo. Vet Méx 1996; 27: 265-69.

Ramírez-Godínez JA, Rodríguez AF, Espinosa CO, Valdés SR. Uso de la PMSG o  $PGF_{2\alpha}$  al retirar el implante del SMB en vacas productoras de carne. Agrociencia 2000; 34: 413-422.

Ramírez-Godínez JA, Kiracofe GH, Schallers RR and Niswender GD. Endocrine patterns in the postpartum beef cow associated with weaning: A comparison of the short and subsequent normal cycles. *J Anim Sci* 1982; 55: 153-158.

Randel RD. Nutrition postpartum rebreeding in cattle. *J Anim Sci* 1990; 68: 853-862.

Reynolds LP and Redmer DA. Growth and development of the corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1999; 54(Suppl): 181-191.

Richards MW, Spitzer JC and Wogner MB. Effect of varying level of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance beef cattle. *J Anim Sci* 1989; 62: 300-306.

Richards MW, Wettemann RP and Schoenemann HM. Nutritional anestrus in beef cows: Body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *J Anim Sci* 1989; 67: 1520-1526.

Roberson MS, Wolfe MF, Stumpf, Kittok RJ, Kinder JF. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. *Biol Reprod* 1989; 41: 997-1003.

Roche JF. Control of oestrus in cattle. *Rev Anim Prod* 1979; 14: 49-56.

Roser FJ. Equine Chorionic Gonadotropin. In Knobil E and Neill D, editors. *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press, 1999: 9-37.

Rubianes E, Ungerfeld R and Ibarra D. Serum anti-eCG improves luteal function and increases ova/embryos recovery in eCG-superovulated ewes. *Small Rum Res.* 1996; 21: 105-111.

Rutter LM and Randel RD. Postpartum nutrient intake and body condition effect on pituitary function and onset of oestrus in beef cattle. *J Anim Sci.* 1984; 58: 265-274.

Ryan DP, Galvin JA, O'Farrell KL. Comparison of oestrous synchronization regimens for lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1999; 56: 153-168.

Salfen BE, Cresswell JR, Xu ZZ, Bao B and Garverick A. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine oestrous cycle. *J Reprod Fertil* 1999; 115:15-21.

Sánchez T, Wehrman ME, Bergfeld EG, Peters KE, Kojima FN, Cupp AS, Mariscal V, Kittok RJ, Rasby RJ, Kinder JE. Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. *Biol Reprod* 1993; 49: 1102-1107.

Savio JD, Boland MP, Roche JF. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *J Reprod Fertil* 1990; 88: 581-591.

Sawyer HR, Niswender KD, Braden TD and Niswender GD. Nuclear changes in ovine luteal cell in response to PGF<sub>2α</sub>. *Domestic Anim Endocrin* 1990; 7: 229-238.

Scaramuzzi RJ, Adams NR, Bair DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GM *et al.* A model for follicle selection and determination of ovulation rate in the ewe and cow. *Reprod Fertil Dev* 1993; 5: 459-478.

Scaramuzzi RJ, Adams NR, Bair DT, Campbell BK, Downing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GM *et al.*, A model for follicle selection and determination of ovulation rate in the ewe and cow. *Reprod Fertil Dev* 1993; 5: 459-478.

Schams D, Schallenberger E, Menzer CH, Stangl J, Zottmeier K, Hoffman B, Karg H. Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic function. *Theriogenology* 1978; 10: 453-468.

Sheffel CE, Prat BR, Ferrel WL, Inskeep EK. Induced corpora lutea in the postpartum beef cow II: Effects of treatment with progestogen and gonadotropins. *J Anim Sci* 1982; 54: 830-836.

Short RE and Adams DC. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. *Can J Anim Sci* 1989; 68: 29-39.

Silvia WJ and Taylor ML. Relationship between uterine secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> induced by oxytocin and endogenous concentration of estradiol and progesterone at three stages of the bovine estrous cycle. *J Anim Sci* 1989; 67: 2347-2353.

Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW and Wilson LJr. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod* 1991; 45: 655-663.

Smith MF, McIntush EW and Smith GW. Mechanism associated with corpus luteum development. *J Anim Sci* 1994; 72: 1857-1872.

Soto CR. Algunos estudios de los efectos de la suplementación alimenticia sobre el desempeño productivo y reproductivo de hembras Brahman en condiciones tropicales. (Tesis de Doctorado), México, D.F México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.UNAM, 1997.

Spain JN, Lucy MC and Hardin DK. Effects of nutrition on reproduction in dairy cattle. En: Current therapy in large animal Theriogenology. Ed By Rs Youngquist. WB Saunders. Philadelphia. Pen. 1997; 416-425.

Spicer LJ, Echtenkamp SE. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: A review. *J Anim Sci* 1986;62: 428-451.

Statistical Analysis System (SAS) versión 6.03 User's Guide Basics and Statics. SAS Institute, North Caroline, 1988.

Tegegne A, Entwistle KW, Mukasa-Mugerwa E. Effects of supplementary feeding and suckling intensity on postpartum reproductive performance of small east african cebú cows. *Theriogenology* 1992; 38: 97-106.

Thatcher WW, Terqui M, Thimonier J, Mauleon P. Effect of oestradiol-17 $\beta$  on peripheral plasma concentration of 15-keto13,14 dihidro PGF $2\alpha$  ad luteolysis in cycle cattle. *Prostaglandins* 1986; 31: 745-756.

Thompson DL Jr, Reville SI and Derrick DJ. Short-term model of secretion of eCG and effect on GnRH. *Theriogenology* 1982; 18: 583-591.

Troxel TR and Kesler DJ. The effect of progestin ad GnRH treatments on ovarian function ad reproductive hormone secretions of anestrous postpartum beef cows. *Theriogenology* 1984b; 21: 699-771.

Tsay SJ and Wiltbank MC. Prostaglandin F $2\alpha$  regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biol Reprod.* 1997; 58: 346-352.

Twagiramungu H, Guilbault AL, Proulx GL and Dufour JJ. Buserelin alters the development of the corpora lutea in cyclic and early postpartum cows. *J Anim Sci* 1995; 73: 805-811.

Twagiramungu H, Guilbault AL and Dufour JJ. Synchronization of ovarian follicular waves with a Gonadotropin-Releasing Hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J Anim Sci* 1995; 73: 3141-3151.

Ungerfeld R. Equine Chorionic Gonadotropin: Characteristic and utilisation. *Theriogenology* 1995; 43: 342-343.

Vaca ALA. Algunas características del ciclo estral en vacas indobrasil (Tesis de maestría). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1982.

Vasconcelos JLM, Pursley GR, Wiltbank MC. Effects of sincromate B combined with GnRH on follicular dynamics and time of ovulation. *J Anim Sci* 1994; 72(Suppl 1): 89 abstr.

Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Stanisiews EP and fogwell RL. Influence of energy balance and body condition in oestrus and oestrous cycle in holstein heifers. *J Anim Sci* 1990; 73: 2759-2765.

Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT Fogwel RL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1988; 71: 1063-1072.

Walker-Farmer S, and Popkof H. Immunochemical studies with pregnant mare serum gonadotropin. *Biol Reprod* 1979; 21: 425-431.

Webb R and Inghand BG. Identification of the ovulatory follicle in the ewe; asociated changes in follicular size, thecal and granulosa cell luteinizing hormone receptors, antral fluid steroids and circulating hormones during the preovulatory period. *Endocrinology* 1982; 110: 873-881.

White LM, Keisler DH Dayley RA and Inskeep EK. Characterization of ovine follicles destined to form a subfunctional corpora lutea. *J Anim Sci* 1987; 65: 1595-1601.

Wiltbank MC, Dikin MG and Niswender GD. Differential actions of second messenger systems in the corpus luteum. *J Reprod Fertil* 1991; 43(Suppl): 65-75.

Williams GL Sucking as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *J Anim Sci* 1990; 68: 831-852.

Witbank MC, Niswender GD. Functional aspects of differentiation and degeneration of the esteroidogenic cell of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim Reprod Sci* 1992; 28: 103-110.



Wright I, Russel A. Partition of fat, body composition and body condition score in mature cows.. Anim Prod 1984; 23-38.

Wright TA, Rhind SM and Whyte TK. Circulating levels of LH and FSH and pituitary responsiveness to GnRH in intact and ovariectomised sucking beef cows in two levels of body condition. Anim Prod 1990; 51: 93-101.

Yusoff DM. Corpus luteal insufficiency: Current Opinion in Obstetric and Gynecology 1994; 6:121-27.

Zarco L, Stabenfeldt GH, Quirke JF, Kindahl H and Bradford GE. Release of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. J Reprod Fertil 1988; 83: 517-523.

Zarco QL, Hernández CJ. Sincronización del estro en bovinos utilizando progestágenos: Factores que influyen en la presentación del estro y la fertilidad. Memorias séptimo curso internacional de reproducción bovina.; 1997 mayo 19-22 México, México (D.F): Academia de la Investigación en Biología de la Reproducción, AC, 1997;279-83.

Zarco QL. Hernández CJ. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. Memorias VIII Curso Internacional de Reproducción Bovina; 1999 Mayo 24-27; México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM 1999:52-70.

Zeleznik JA. Luteinization. In: Encyclopedia of Reproduction. Academic Press vol 2 1999 p.1076-1094.

Zollers WG Jr. Garverick HA, Smith MF, Moffatt RJ, Salfen BE, Youngquist RS. Concentrations of  $P_4$  and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrus cycle. J Reprod Fertil 1993; 97: 239-337.

Zollers WG, Garverick HA, Smith MF. Oxytocin-induced release of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  In postpartum beef cows: Comparison of short versus normal luteal phase. Biol Reprod 1989; 41: 262-267.

## ANEXOS

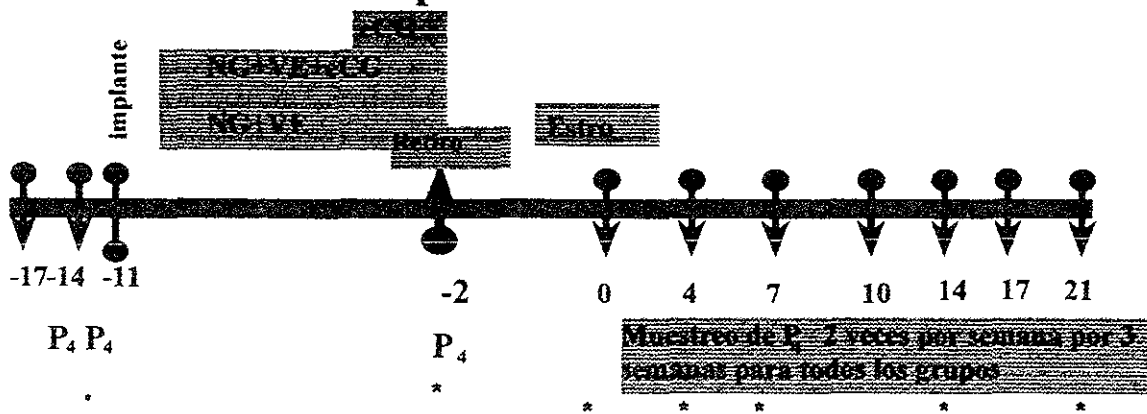
### Anexo 1.

**Cuadro de ANDEVA para mediciones repetidas de progesterona mediante un modelo de SPLIT-PLOT (Experimento II)**

Fuente de variación	SC	GL	CM	F	V.P
<b>Entre vacas</b>					
Grupo	5.3	3	1.7561	0.24	0.867
Vacas dentro del grupo	87.0	12	7.2767		
<b>Dentro de vacas</b>					
Tiempo	309.8	6	51.6461	15.15	0.0001
Tiempo / grupo	130.35	18	7.2418	2.12	0.03
Error	245.40	72	3.41		
Total	813.33	111			

Anexo 2

## Esquema de inducción del estro, determinación de progesterona y ultrasonografía experimento I



<sup>1</sup> Grupo eCG (250 UI de Gonadotropina Coriónica equina)

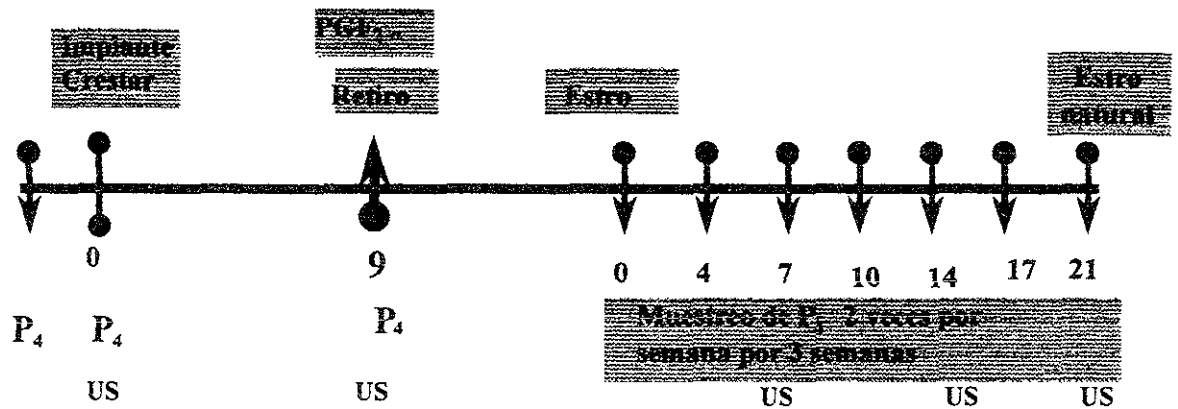
<sup>2</sup> Grupo NG + VE (Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE)

<sup>3</sup> Grupo NG+VE + eCG (Implante con 3 mg de NG por 9 días + solución oleosa con 3 mg de NG y 5 mg de VE + 250 UI de eCG al retiro)

\* ultrasonido (US)

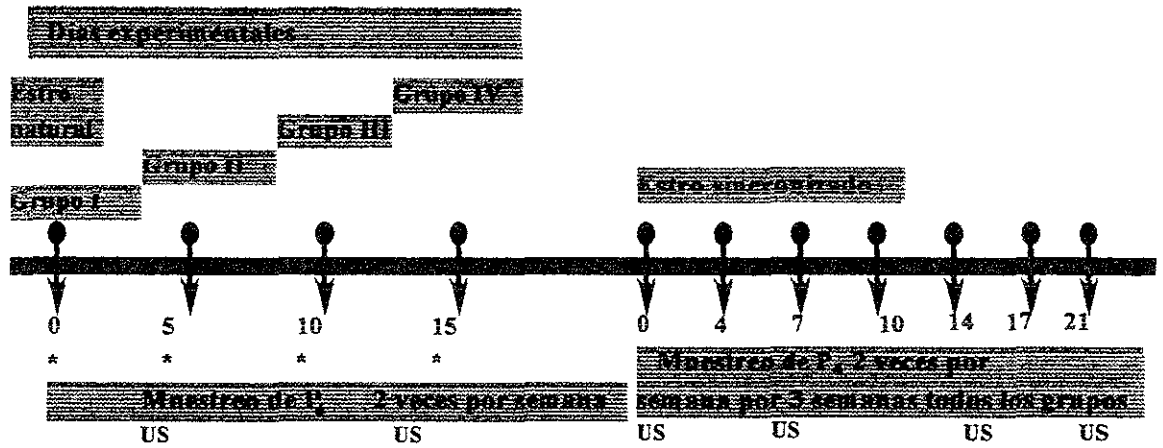
Anexo 3.

## Esquema de sincronización del estro, determinación de progesterona y ultrasonografía Experimento II (fase I)



Anexo 4.

Sincronización del estro, determinación de  
progesterona y ultrasonografía  
Experimento II (fase 2)



\* todos los grupos experimentales recibieron un implante de norgestomet (3mg) por 9 días