



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia

**COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS
HOLSTEIN TRATADAS CON GONADOTROPINA
CORIÓNICA HUMANA (hCG)**

T E S I S

***QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL***

PRESENTA:

Juan Francisco Escalera Martínez



Junio de 2006

Chapingo, Estado de México

**COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE HEMBRAS HOLSTEIN
TRATADAS CON GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (hCG)**

Tesis realizada por Juan Francisco Escalera Martínez bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada y aceptada por el mismo como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

DIRECTOR: Raymundo Rangel S.
Ph.D. Raymundo Rangel Santos

ASESOR: R-L-34-LR
Ph.D. Raymundo Rodríguez De Lara

ASESOR: [Signature]
Ph.D. José Guadalupe García Muñiz

ASESOR: [Signature]
M.C. Carlos Sánchez Del Real

A. 15/14

AGRADECIMIENTOS

*A **Díos Nuestro señor**, por su infinita misericordia y por permitirme terminar con una más de mis metas en la vida*

*A la **Universidad Autónoma Chapingo mi Alma Mater***

*Al **Departamento de Zootecnia***

*Al **Posgrado en Producción Animal***

...Por mi formación profesional.

*Al **Ph.D. Raymundo Rangel Santos**; por su asesoría, apoyo y entusiasmo para la realización de la presente tesis; por su confianza y amistad.*

*Al **Ph.D. Raymundo Rodríguez De Lara**, al **Ph.D. José Guadalupe García Muñi** y al **M.C. Carlos Sánchez Del Real**, por su colaboración, asesoria y apoyo para la realización de la presente tesis.*

Al Modulo de Producción de Leche de la Granja Experimental del Departamento de Zootecnia, por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo de investigación.

Al personal administrativo y de intendencia del Posgrado en Producción Animal y del Departamento de Zootecnia, muchas gracias por su amistad y apoyo.

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) de México por el apoyo económico brindado para la realización de la presente investigación.*

Al Laboratorio del Área de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por las facilidades brindadas para la realización del presente trabajo.

A todos mis amigos y compañeros del Posgrado en Produccion Animal por su comprensión, amistad y por todos los momentos que pasamos juntos, muchas gracias.

Juan Francisco Escalera

DEDICATORIA

A mis padres:

Juan Escalera González y Belen Martínez Rosales

...Porque son mi orgullo y la luz que ilumina mi camino

A mis hermanos:

Manuel, Filemon, Alfonso, Brenda Cecilia y María Dolores Escalera Martínez

...Porque son mi fuerza para seguir adelante

A todos mis amigos, paisanos y compañeros:

...Por su amistad incondicional, muchas gracias

Sinceramente

Juan Francisco Escalera

DATOS BIOGRÁFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: Juan Francisco Escalera Martínez

Fecha de nacimiento: 12 de enero de 1979

Lugar de nacimiento: Morelia del Agua Zarca, Chalchihuites, Zacatecas

Profesión: Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia

Cédula profesional: 4215386

FORMACIÓN ACADÉMICA

1985 - 1992 Escuela Primaria “Belisario Domínguez” Morelia del Agua Zarca, Chalchihuites, Zacatecas.

1992 - 1995 Telesecundaria “Adolfo López Mateos” José María Morelos, Chalchihuites, Zacatecas.

1995 - 1998 Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.

1998 - 2002 Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.

2004 - 2006 Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.

CONTENIDO

	Página
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	2
CAPÍTULO II	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
1. DINÁMICA FOLICULAR EN BOVINOS	6
1.1 FASES DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO FOLICULAR	6
1.1.1 Reclutamiento de folículos.....	6
1.1.2 Selección del folículo dominante	7
1.1.3 Dominancia	9
1.1.4 Ovulación	11
1.1.5 Atresia	12
1.2 NÚMERO DE ONDAS FOLICULARES POR CICLO	13
2. MORTALIDAD EMBRIONARIA	16
3. RECONOCIMIENTO MATERNAL DE GESTACIÓN	18
4. FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD DE LA VACA	21
4.1 Producción de leche	21
4.2 Condición corporal.....	24
4.3 Nutrición	25
4.4 Edad de la vaca	27
4.5 Época de parto.....	28
4.6 Detección de estros	29
5. ALTERNATIVAS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD EN VACAS	30
5.1 ADMINISTRACIÓN DE GnRH	30
5.1.1 Administración de GnRH el día de la inseminación.....	30
5.1.2 Administración de GnRH los días 5 y 6 después de la inseminación.....	31

5.1.3 Administración de GnRH los días 12 ó 13 después de la inseminación.....	32
5.2 USO DE LA ULTRASONOGRAFÍA.....	34
5.3 ADMINISTRACIÓN DE PROGESTERONA.....	36
5.4 ADMINISTRACIÓN DE hCG.....	39
5.4.1 Administración de hCG el día de la inseminación.....	39
5.4.2 Administración de hCG los días 5 y 6 después de la inseminación.....	41
5.4.3 Administración de hCG los días 12 a 14 después de la inseminación.....	42
LITERATURA CITADA	45
CAPÍTULO III	61
ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓICA HUMANA (hCG) Y FERTILIDAD DE VACAS HOLSTEIN	62
RESUMEN	62
ADMINISTRATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG) AND FERTILITY OF HOLSTEIN COWS	63
ABSTRACT	63
INTRODUCCIÓN	64
MATERIALES Y MÉTODOS	65
Localización y clima	65
Animales, alimentación y manejo.....	66
Inseminación artificial.....	66
Tratamientos.....	67
Colección de sangre	67
Determinación de progesterona.....	68
Diagnóstico de gestación.....	68
Condición corporal.....	68
Variables de respuesta.....	68
<i>Diámetro del folículo, y del cuerpo lúteo espontáneo y accesorio</i>	68
<i>Gestación a 35 y 60 días posinseminación</i>	69

<i>Concentración de progesterona</i>	69
Análisis estadístico	69
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
Características de los cuerpos lúteos	71
Porcentaje de gestación	74
Concentración de progesterona	77
CONCLUSIONES	80
AGRADECIMIENTOS	80
LITERATURA CITADA	81
CAPÍTULO IV	85
ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓICA HUMANA (hCG) Y FERTILIDAD DE VAQUILLAS HOLSTEIN	86
RESUMEN	86
ADMINISTRATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG) AND FERTILITY OF HOLSTEIN HEIFERS	87
ABSTRACT	87
INTRODUCCIÓN	88
MATERIALES Y MÉTODOS	89
Localización y clima	89
Animales, alimentación y manejo	90
Inseminación artificial	90
Tratamientos	90
Condición corporal	91
Diagnóstico de gestación	91
Variables de respuesta	92
<i>Diámetro del folículo, y del cuerpo lúteo espontáneo y accesorio</i>	92
<i>Gestación a 35 y 60 días posinseminación</i>	92
Análisis estadístico	92

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	94
Características de los cuerpos lúteos.....	94
Porcentaje de gestación.....	96
CONCLUSIONES.....	100
AGRADECIMIENTOS	100
LITERATURA CITADA	101

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Efecto de la administración de GnRH en el porcentaje de gestación en bovinos.....	32
Cuadro 2 Efecto de la suplementación con progesterona en el porcentaje de gestación en bovinos.....	39
Cuadro 3 Efecto de la administración de hCG en la formación de cuerpos luteos accesorios en bovinos.....	42
Cuadro 4 Efecto de la administración de hCG en el porcentaje de gestación en bovinos.....	44
Cuadro 5 Incidencia de cuerpos lúteos accesorios (CL accesorio) en vacas Holstein con o sin hCG.....	72
Cuadro 6 Características del cuerpo lúteo accesorio (CL accesorio) al día 14 después de la inseminación en vacas Holstein con o sin hCG.....	74
Cuadro 7 Porcentaje de gestación de vacas Holstein tratadas con hCG a los 35 días posinseminación con y sin cuerpo lúteo accesorio.....	77
Cuadro 8 Niveles de progesterona (P ₄) en plasma al día 7 y 14 posinseminación en vacas Holstein con o sin hCG.....	78

	Página
Cuadro 9 Niveles de progesterona (P ₄) en plasma al día 7 y 14 posinseminación en vacas Holstein con diagnóstico de gestación positivo o negativo.....	79
Cuadro 10 Incidencia de cuerpo lúteo accesorio en vaquillas Holstein tratadas con hCG y control.....	95
Cuadro 11 Tamaño del cuerpo lúteo espontáneo de vaquillas Holstein con hCG y control el día 7 posinseminación.....	96
Cuadro 12 Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG y control a los 35 días posinseminación.....	97
Cuadro 13 Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG y control a los 60 días posinseminación.....	98
Cuadro 14 Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG a los 60 días posinseminación con y sin cuerpo lúteo accesorio.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Dinámica folicular durante un ciclo estral en bovinos.....	15

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

El mejoramiento genético reciente en vacas lecheras ha tenido un incremento drástico en la producción de leche, el cual se ha asociado con una disminución en el comportamiento reproductivo de estas (Boland y Lonergan, 2003; Washburn *et al.*, 2002). La fertilidad en vacas Holstein ha disminuido aproximadamente en 1% anualmente en los últimos 20 años (Darwash *et al.*, 1999) ocasionando pérdidas considerables al incrementar los días abiertos y disminuir la producción de leche por día de vida en la explotación. Fonseca *et al.* (1983) mencionan que tanto en los Estados Unidos de América como en México las principales causas de desecho en vacas lecheras son en orden de importancia un pobre comportamiento reproductivo y una baja producción de leche.

La falla en la concepción o infertilidad constituye el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros, y se considera que es la causa que más afecta la productividad de la empresa lechera. En los últimos 40 años se ha observado una disminución significativa de la fertilidad, que ha coincidido con un incremento en la producción de leche, evidenciando una asociación negativa entre ambas variables (Butler, 2000; Royal *et al.*, 2000a). Durante muchos años, el problema de infertilidad se circunscribía sólo a las vacas repetidoras; es decir, a aquellas que llegaban al cuarto servicio sin concebir y que no presentaban anormalidades en sus órganos genitales. Actualmente es común en los sistemas de producción intensiva de leche que el porcentaje de concepción en vacas de primer servicio no sea mayor de 35%, el cual es similar al de las vacas repetidoras (Morales *et al.*, 2000).

Durante los primeros días del desarrollo, el embrión es dependiente totalmente de las secreciones uterinas y oviductales, las cuales son reguladas por la progesterona (Roberts y Bazer, 1988). Como consecuencia de lo anterior, se ha señalado que las anormalidades en la función del cuerpo lúteo son una causa importante de la falla en la concepción (Mann y Lamming, 1999; Villa *et al.*, 1988). En otros estudios (Garrett *et al.*, 1988; Mann *et al.*, 1999) se ha observado un efecto favorable de altas concentraciones de progesterona en el desarrollo embrionario temprano, mientras que las bajas concentraciones de ésta se asociaron con embriones pequeños.

Estudios recientes utilizando ultrasonografía para evaluar el crecimiento folicular ha mostrado la presencia de un solo folículo grande (> 10 mm) entre el día 6 y 10 después del celo en todas las vacas (Sirois y Fortune, 1988). Los folículos grandes de la fase luteal son capaces de responder a la administración de hCG para la producción de estructuras luteinizadas; la respuesta a este tratamiento es mayor en los días 4 a 7 y los días 14 a 16 que en los días 8 a 13 del ciclo estral (Price y Webb, 1989). Por otro lado, la hCG actúa básicamente como hormona luteinizante (LH), esta situación representa una ventaja sobre el uso de GnRH, ya que su acción no depende de la capacidad de respuesta de la hipófisis.

Con el propósito de incrementar la fertilidad en las vacas se han intentado diversos tratamientos como la administración de progesterona exógena (Macmillan *et al.*, 1991) o a través del mejoramiento de la función lútea mediante la aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Ryan *et al.*, 1991; Stevenson *et al.*, 1990) o

gonadotropina coriónica humana (hCG) (Helmer y Britt, 1986; Hernández *et al.*, 1993; Swanson y Young, 1990).

En consideración a lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron: a) evaluar el efecto de la administración de hCG en la formación de un cuerpo lúteo accesorio, determinar la concentración de progesterona en plasma y evaluar la fertilidad de vacas Holstein; y b) evaluar el efecto de la administración de hCG en la formación de un cuerpo lúteo accesorio y en la fertilidad de vaquillas Holstein.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

1. DINÁMICA FOLICULAR EN BOVINOS

1.1 FASES DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO FOLICULAR

El proceso de crecimiento continuo y regresión de los folículos antrales que conducen al desarrollo del folículo preovulatorio se conoce como dinámica folicular (Lucy *et al.*, 1992a). El crecimiento de los folículos se da en ondas y cada onda se caracteriza por las fases de reclutamiento, selección, dominancia y atresia u ovulación. El folículo dominante de la última onda escapa de la atresia e incrementa la cantidad secretada de estradiol, el cual estimula la liberación de la hormona luteinizante (LH), hormona que induce la ovulación (Binelli *et al.*, 2001). La ovulación se presenta si la fase de dominancia del último folículo seleccionado coincide con la liberación de PGF2 α (Sunderland *et al.*, 1994).

1.1.1 Reclutamiento de folículos

El proceso durante el cual un grupo de folículos adquieren la habilidad para responder al efecto de las gonadotropinas y continuar con su crecimiento se conoce como reclutamiento folicular. El conjunto de folículos reclutados inicia su crecimiento bajo la influencia de la hormona folículo estimulante (FSH), la cual regula en gran parte el proceso de reclutamiento (Roche *et al.*, 1992). Entre los folículos reclutados en cada onda, se establece una competencia en la cual un solo folículo del grupo reclutado adquiere el desarrollo funcional y estructural que le permitirá seguir creciendo en un ambiente de bajas concentraciones de gonadotropinas, al tiempo en que sus compañeros del grupo reclutado sufren atresia (Henao y Trujillo, 2000).

Durante un ciclo estral se presentan dos periodos en los cuales los niveles de gonadotropinas se encuentran más altos que los niveles basales: uno es durante la oleada de la LH y FSH que anteceden a la ovulación y el otro durante la segunda oleada de FSH que se presenta en el día de la ovulación; esta última oleada puede jugar una función importante en el reinicio de la primera onda de crecimiento folicular (Fortune, 1993). El reclutamiento y el crecimiento de los folículos entre 2-4 mm hasta 7-9 mm de diámetro son procesos que requieren de la hormona FSH (Bao y Garverick, 1998). Por su parte, Gong *et al.* (1995) demostraron que los estadios iniciales del desarrollo folicular en la vaca (cuando los folículos son < 4 mm de diámetro) son dependientes del soporte gonadotrópico. Sin embargo, la FSH es necesaria para el desarrollo folicular posterior (desde los 4 a los 9 mm) y los pulsos de LH son indispensables para el desarrollo folicular más allá de los 9 mm de diámetro.

Los folículos preantrales poseen receptores para FSH, sin embargo, dichos folículos sólo desarrollan receptores para LH cuando empiezan a formar su antro. La respuesta en crecimiento diferencial que presentan los folículos preantrales, aun cuando el estímulo por parte de las gonadotropinas es similar para todos los folículos, se debe a que éstos al momento del reclutamiento no tienen el mismo estado de desarrollo, por lo que la cantidad de células de la teca, de la granulosa y el número de receptores para gonadotropinas son diferentes (Ireland, 1987).

1.1.2 Selección del folículo dominante

El proceso mediante el cual solamente un folículo se selecciona para seguir creciendo y llegar a ser dominante, se conoce como selección; aunque el número de folículos

seleccionados depende en gran medida de la especie y de la raza (Webb *et al.*, 1999). En la vaca solo un folículo se selecciona, sin embargo, algunas veces dos folículos son seleccionados para continuar su crecimiento y finalmente culminan con la ovulación. Este proceso de selección de dos folículos dominantes se conoce como codominancia (Fricke y Wiltbank, 1999).

La selección del folículo dominante puede presentarse a través de dos mecanismos uno pasivo y otro activo; en el mecanismo pasivo el folículo más grande de los folículos reclutados inhibe la liberación de FSH más allá del umbral necesario para el sostenimiento de los folículos pequeños. Este proceso se realiza a través de una retroalimentación negativa que ejerce el estradiol y la inhibina en la hipófisis. En el caso del ganado bovino, el proceso activo mediante el cual el folículo más grande inhibe directamente el crecimiento de los folículos de menor tamaño es a través de una sustancia paracrina desconocida que disminuye la sensibilidad de los folículos subordinados (Driancourt, 1991).

Las hormonas hipofisiarias FSH y LH, son las responsables de la emergencia de las ondas foliculares y la selección de un folículo dominante (Ginther *et al.*, 1996). Díaz *et al.* (1998) mencionan que el proceso de selección del folículo dominante se presenta entre el tercero y cuarto día después de la emergencia de cada onda de crecimiento folicular.

1.1.3 Dominancia

La dominancia es el mecanismo mediante el cual el folículo dominante continúa su rápido crecimiento en un medio donde el crecimiento y desarrollo de otros folículos reclutados al mismo tiempo son suprimidos (Webb *et al.*, 1999). El folículo dominante se define como el folículo de mayor tamaño (mayor a 10 mm de diámetro) en el ovario, el cual controla o suprime el crecimiento de los otros folículos (Savio *et al.*, 1990). El mecanismo por el cual un solo folículo dominante puede desarrollarse, cuando existen en el mismo lugar de 3 a 6 folículos aparentemente idénticos y expuestos a las mismas condiciones endocrinas, que por el contrario sufren un proceso de regresión, no ha sido bien establecido (Gordon, 1996). Aparentemente el folículo dominante regula el crecimiento de los folículos subordinados, por lo tanto la aparición de la próxima onda folicular avanza si el folículo dominante se está destruyendo y se retrasa si la vida activa del folículo se prolonga (Ginther *et al.*, 1989a; Gordon, 1996). En un experimento realizado por Webb *et al.* (1995) se demostró una relación inversa entre el número de folículos subordinados y la presencia de un folículo ovulatorio. El estradiol y la inhibina producidos por el folículo dominante son responsables del estímulo atrésico en los folículos subordinados; promueven la expresión de receptores de LH en las células de la granulosa del folículo dominante y ejercen un estímulo inhibitorio sobre la liberación de FSH de la adenohipófisis, haciendo que el crecimiento del folículo dominante sea dependiente de la LH hasta alcanzar el tamaño preovulatorio (Furtune *et al.*, 2000; Henao y Trujillo, 2000).

La inhibición que ejerce el folículo dominante hacia los folículos subordinados fue corroborada por Driancourt *et al.* (2000) quienes encontraron que el fluido proveniente

del folículo dominante bloquea la actividad de la aromatasa en mayor grado que el fluido de los folículos atrésicos. El inhibidor se produce por las células de la granulosa y la hormona LH, la cual parece potenciar el efecto del fluido folicular por lo que disminuye en menor medida la actividad de la aromatasa. El folículo dominante causa la regresión de los folículos subordinados (Adams, 1994) ya que parece inhibirlos al no permitir un adecuado acceso a las gonadotropinas. Esta inhibición puede ser pasiva mediante la supresión de las concentraciones plasmáticas de FSH o activa por medio de la reducción de la sensibilidad a la FSH (Driancourt, 1991). Cuando el folículo dominante pierde la dominancia, los niveles de FSH se incrementan, con lo cual inicia el desarrollo de una nueva onda folicular (Bodensteiner *et al.*, 1996).

En cada onda un grupo de folículos inicia su desarrollo y eventualmente un folículo llega a ser dominante, mientras que los otros folículos sufren atresia. En ausencia de regresión luteal, el folículo dominante sufre atresia y una nueva onda folicular inicia. Esta secuencia ocurre aproximadamente cada diez días (Murphy *et al.*, 1994). Webb *et al.* (1999) mencionan que el folículo dominante alcanza un diámetro de 15 mm y mantiene su dominancia durante pocos días hasta volverse atrésico y es remplazado por otro en los siguientes cinco días. El primer folículo dominante puede ser o no funcional, y una segunda onda folicular inicia cerca de la mitad del ciclo estral. El folículo dominante de la segunda onda folicular puede continuar hasta la ovulación en el momento de la regresión del cuerpo lúteo. Algunas vacas tienen ondas de crecimiento folicular donde el segundo folículo dominante sufre atresia, y se inicia una tercera onda folicular (Henao y Trujillo, 2000).

1.1.4 Ovulación

La ovulación es el proceso en el que se da la ruptura del folículo dominante de la última onda y se libera un oocito maduro con capacidad de ser fertilizado. Los mecanismos bioquímicos implicados en este proceso no están del todo claros, sin embargo, se sabe que la LH y la consecuente producción de hormonas esteroideas son la señal neuroendocrina de la ovulación, actuando sobre el folículo mediante la inducción de la síntesis de AMPc, y a través de la activación de la proteína kinasa dependiente de este compuesto (Karsch *et al.*, 1992).

El pico preovulatorio de gonadotropinas induce cambios importantes tanto en el folículo como en el complejo oocito-células del *cumulus oophorous*. En esta fase el oocito reinicia la meiosis y se lleva a cabo el proceso denominado expansión del *cumulus oophorous* o mucinificación, el cual consiste en que las células del *cumulus oophorous* en respuesta al pico preovulatorio de gonadotropinas secretan ácido hialurónico, el cual al hidratarse, se expande y las células son redondeadas por una matriz mucinosa. En el folículo preovulatorio debe ocurrir la mucinificación como prerrequisito para que éste continúe su camino hasta la ovulación (Murphy *et al.*, 2001; Richards *et al.*, 2002).

Los procesos de diferenciación y luteinización se llevan a cabo por las células de la granulosa que permanecen dentro del folículo, este tipo de células en conjunto con las células de la teca interna dan origen al cuerpo lúteo, el cual es primordial para el reconocimiento de la gestación. El pico preovulatorio de LH induce la ovulación y la diferenciación de los residuos celulares del folículo para formar un cuerpo lúteo e iniciar la síntesis de progesterona (Eppig, 2001; Richards *et al.*, 2002). El folículo prevulatorio

crece, gana gran tamaño y produce estradiol suficiente para inducir el comportamiento del estro y el pico preovulatorio de LH, lo cual es seguido por la ovulación entre 18-32 horas después. El tamaño del folículo ovulatorio es altamente variable entre las vacas (Henao y Trujillo, 2000) el cual varía de 15 a 18 mm de diámetro en el caso de vacas con ovulación espontánea.

1.1.5 Atresia

Los oocitos presentes en los ovarios están asociados al desarrollo de un grupo de folículos en diferentes fases de crecimiento, es decir, en forma de folículos primarios, secundarios y terciarios, de los cuales un determinado número, dependiendo de la especie, es seleccionado para continuar su desarrollo (Driancourt, 1999; Erickson y Shimasaki, 2001; Richards *et al.*, 2002).

Al inicio de su desarrollo en la etapa posnatal, los folículos primordiales tendrán dos posibles caminos. Si las condiciones hormonales son las adecuadas continuarán su desarrollo hasta la liberación de un óvulo maduro en el proceso de ovulación. Por otro lado, más del 99% de los folículos no llegan a ovular y degeneran mediante un proceso controlado conocido como atresia, apoptosis o muerte celular programada (Erickson y Shimasaki, 2001; Richards *et al.*, 2002).

Al momento del nacimiento la hembra cuenta aproximadamente 150 000 folículos primordiales, de los cuales solo 100 logran madurar durante la vida productiva de la vaca y el resto degeneran mediante el proceso de atresia. Dicho proceso implica una serie de cambios bioquímicos y morfológicos, debido a los cuales la mayoría de los

oocitos no logran la maduración. Durante el proceso de atresia los folículos pasan por los siguientes eventos: a) pérdida de la actividad de la aromatasa de las células de la granulosa, b) aparición de gránulos picnóticos que se originan de la fragmentación del ADN, c) acumulación de proteínas de unión de los IGFs de bajo peso molecular en el fluido folicular, d) desaparición de las células en mitosis al interior de la granulosa, e) desunión de los receptores a las gonadotropinas, f) desaparición de las enzimas tecales involucradas en la esteroidogénesis, g) reanudación de la meiosis y apoptosis, y h) llenado de la cavidad del antro (Driancourt, 1999; Gordon, 1996).

1.2 NÚMERO DE ONDAS FOLICULARES POR CICLO

Rajakoski (1960) introdujo el concepto de onda folicular, afirmando que la población de folículos que emergen en los ovarios durante el ciclo estral se caracterizan por una fase de crecimiento, seguida de una fase estática y finalmente ovulan o sufren atresia, con diferentes patrones de desarrollo siendo los más frecuentes aquellos compuestos por dos ondas (Carriere *et al.*, 1995; Ginther *et al.*, 1989b) o tres ondas foliculares (Carriere *et al.*, 1995; Fortune, 1993; Taya *et al.*, 1996). También es posible encontrar ciclos estrales con una o cuatro ondas foliculares, aunque su incidencia es baja (Savio *et al.*, 1988; Sirois y Fortune, 1988).

El desarrollo de una onda folicular está caracterizado por el crecimiento sincronizado de varios folículos de 4-5 mm de diámetro, seguido por la selección del folículo dominante y la regresión de los folículos subordinados (Ginther *et al.*, 1989a). El monitoreo de las estructuras ováricas mediante ultrasonografía transrectal ha demostrado que el desarrollo folicular ocurre en dos o tres ondas durante un ciclo estral en bovinos. Los estudios

científicos utilizando ultrasonografía transrectal han llevado a la clarificación de la naturaleza del desarrollo folicular antral en ganado (Pierson y Ginther, 1984). Los primeros estudios utilizando ultrasonido revelaron que el crecimiento folicular ocurre en ondas, cada una culminando con la formación de un folículo grande (Figura 1).

La emergencia de la primera onda folicular, en ciclos de 2 ó 3 ondas ocurre inmediatamente después de la ovulación, mientras que la segunda onda ocurre entre los días 9 ó 10 en el ciclo de 2 ondas y entre los días 8 ó 9 en ciclos de 3 ondas, con una tercera onda emergiendo en los días 15 ó 16 (Ginther *et al.*, 1989b).

Las vacas lecheras primíparas y multíparas en producción exhiben más ciclos de dos ondas mientras que las vaquillas lecheras nulíparas tienden a exhibir más ciclos de tres y cuatro ondas. Algunos factores que pueden influenciar el número de ondas por ciclo estral en el ganado lechero incluyen el consumo de alimeto (Murphy *et al.*, 1991), la edad, el número de parto, y el estado de la lactancia (Lucy *et al.*, 1992a).

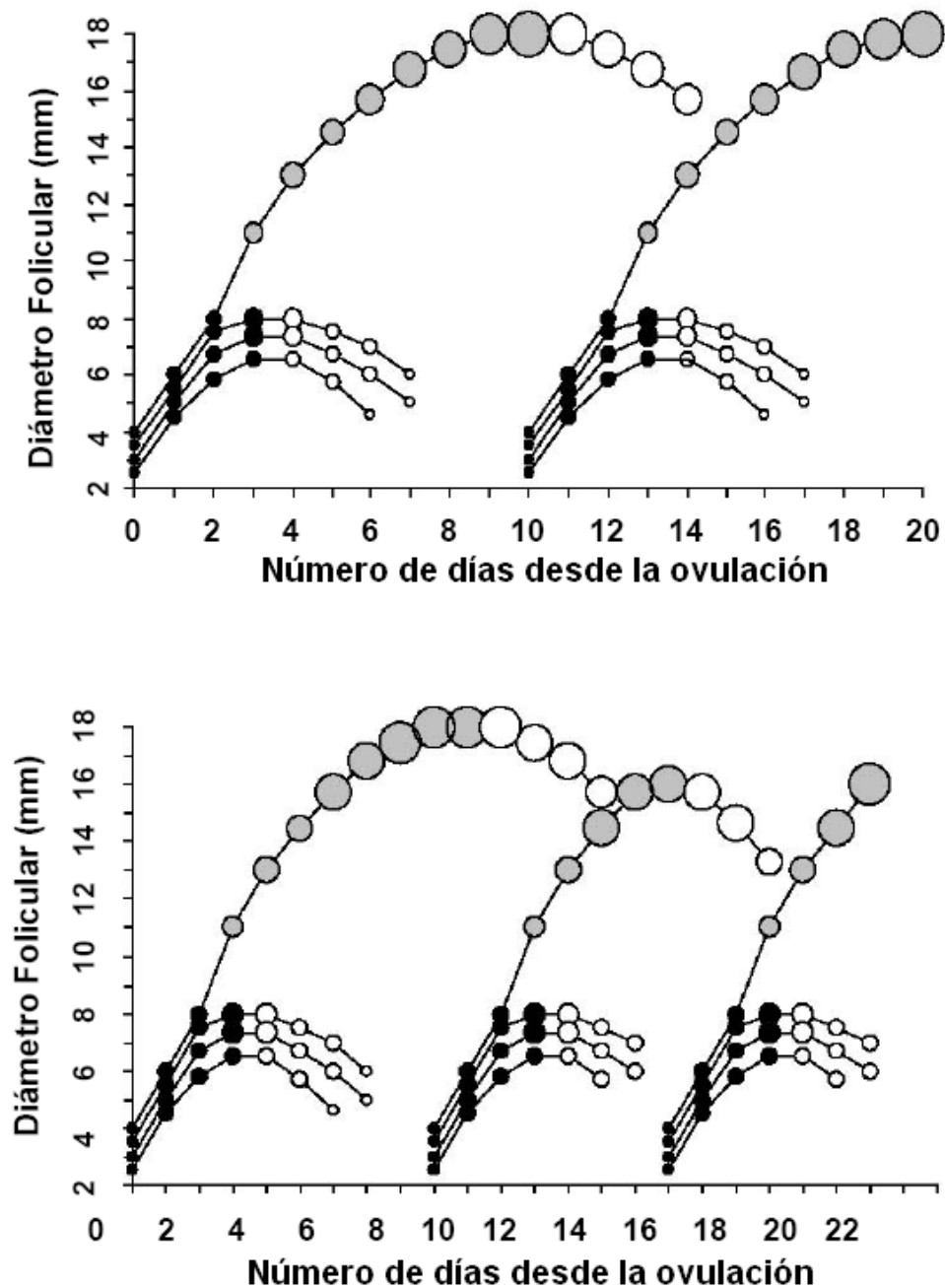


Figura 1. Dinámica folicular durante un ciclo estral en bovinos. El diagrama muestra dos (parte superior) o tres ondas (parte inferior) de crecimiento folicular durante el ciclo estral en bovinos. Los folículos en crecimiento antes de la selección del folículo dominante se muestran como círculos negros, los folículos dominantes de cada onda se muestran como círculos grises y los folículos atrésicos se muestran como círculos blancos.

2. MORTALIDAD EMBRIONARIA

La pérdida de preñez es la responsable de la mayor parte de las fallas en la gestación de animales de granja, la cual puede dividirse en mortalidad embrionaria y fetal. El proceso reproductivo normal se acompaña de un pequeño porcentaje de pérdida, que puede considerarse inevitable. La terminación de la preñez puede ocurrir en distintas etapas: 1) antes del reconocimiento maternal de gestación, en cuyo caso no se afecta la duración del ciclo estral (mortalidad embrionaria temprana); 2) después del reconocimiento maternal de gestación, y está relacionado con una alteración en la longitud del ciclo estral (mortalidad embrionaria tardía); y 3) durante la etapa fetal (mortalidad fetal).

El periodo embrionario de gestación comprende de la concepción al fin del estado de diferenciación (cerca del día 42) y el periodo fetal comprende del día 42 al parto. Las mayores pérdidas de gestación ocurren durante el periodo embrionario temprano (Vanroose *et al.*, 2000). Si bien el riesgo de pérdidas fetales incrementa en sistemas intensivos de producción de leche (Forar *et al.*, 1995). Las mayores pérdidas de preñez ocurren antes del día 45 de gestación. Por su parte Starbuck *et al.* (2004) reportaron un 7.1% de pérdidas embrionarias entre la semana cinco y la semana siete de gestación y un 4.3% pérdidas fetales entre las semanas siete y nueve de gestación. Sin embargo, en estudios recientes (Nation *et al.*, 2003; Smith y Stevenson, 1995; Silke *et al.*, 2002;) se ha reportado un porcentaje de pérdidas de gestación de 7 a 33% en vacas lecheras lactando entre los días 28 y 98 de gestación.

El bajo porcentaje de gestación es provocado por la alta incidencia de muerte embrionaria temprana. Tanto en animales con historia de infertilidad como en animales

con fertilidad normal, se ha observado que cerca de 90% de los ovocitos son fertilizados; sin embargo, una alta proporción de los embriones mueren antes de los 16 días posinseminación, y los primeros siete días representan el periodo en que acontecen más pérdidas embrionarias (Thatcher *et al.*, 1994). En algunos estudios (Gustafsson, 1985; Linares, 1982) se ha demostrado que los embriones de animales subfértiles colectados el día 7 posterior al servicio, tienen anormalidades en su desarrollo tales como retraso en su crecimiento y en la diferenciación celular. La etiología de la muerte embrionaria es de naturaleza diversa, pero puede resumirse en factores genéticos y ambientales. Dentro de los factores genéticos están consideradas las anormalidades cromosómicas, las cuales pueden producirse espontáneamente durante la gametogénesis, fertilización o embriogénesis. Las anormalidades cromosómicas ocurren aproximadamente en 7.5% de los embriones (Wilmut *et al.*, 1986). Los factores ambientales son los responsables de la mayor parte de las muertes embrionarias tempranas. Aquí están considerados los factores de naturaleza hormonal, nutricional, climática e infecciosa (Thatcher *et al.*, 1994).

En bovinos el 88 a 90% de las ovulaciones resultan en la fertilización. Sin embargo, la tasa de preñez en los días 45 a 60 posinseminación únicamente es de 55 a 60%. Esta discrepancia entre la tasa de preñez esperada y la observada se ha atribuido a pérdidas embrionarias tempranas. Trabajos recientes indican que otros factores están involucrados. Algunos de estos son asincronía entre el embrión y el útero (Maurer y Echternkamp, 1982), altas temperaturas ambientales (Thatcher, 1974), interrupción de un programa intrínseco del desarrollo (Johnson, 1979), infecciones uterinas (Gröhn y

Rajala-Schultz, 2000), exceso de proteína en la dieta (Elrod y Butler, 1993) e inadecuada función de cuerpo lúteo (Mann y Lamming, 1999).

La tasa de concepción a los 28 a 32 días posinseminación en vacas lecheras multíparas varía entre 40 y 47% (Fricke *et al.*, 1998; Pursley *et al.*, 1997) mientras que la tasa de concepción en vaquillas lecheras llega casi 75% (Pursley *et al.*, 1997). De la misma manera, la pérdida de la preñez en vacas lecheras multíparas es mayor que en las vaquillas de leche (20% vs 5%; Smith y Stevenson, 1995). Debido a que la preñez puede determinarse más temprano con ultrasonido que con palpación, la tasa de pérdida de preñez es casi siempre mayor. De las vacas con preñez confirmada a los 28 días posinseminación, entre 14 y 16% experimentan pérdida de preñez antes de los 56 días (Fricke *et al.*, 1998). Así, las vacas diagnosticadas preñadas a los 28 días utilizando ultrasonido deben programarse para un nuevo examen alrededor de los 60 días, cuando la tasa de pérdida embrionaria por día disminuye considerablemente.

3. RECONOCIMIENTO MATERNAL DE GESTACIÓN

Después de un apareamiento y una fecundación exitosos, el embrión debe anunciar su presencia al sistema materno y bloquear la regresión del cuerpo lúteo, proceso denominado luteólisis, a fin de mantener la producción lútea de progesterona. La presencia del cuerpo lúteo es esencial para el establecimiento de la gestación, en todos los animales domésticos el embrión secreta y sintetiza esteroides y/o proteínas para señalar su presencia al sistema materno. Estas moléculas sirven para modular la síntesis de prostaglandina F₂ alfa (PGF_{2α}) del útero y evitar la regresión del cuerpo lúteo. Durante el periodo crítico de la liberación de PGF_{2α} uterina, el embrión debe cubrir una

gran parte del endometrio materno para regular la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$. El periodo decisivo en el que el embrión emite la señal para el bloqueo de la luteólisis y permite que se establezca la preñez, se denomina “Reconocimiento maternal de la gestación”.

El término “reconocimiento maternal de la gestación” se define como una expresión de la función lútea que mantiene la gestación temprana e inhibe el mecanismo luteolítico normal. Posteriormente se descubrió que en los rumiantes, proteínas específicas secretadas por el trofoblasto embrionario son mediadores del reconocimiento maternal (Bazer *et al.*, 1986) el cual ocurre en la vaca alrededor del día 15 posinseminación. Hernández *et al.* (1992) estudiaron la expresión del interferon- τ en embriones originados por fertilización *in vitro* y observaron que la producción de éste comienza a expandir el blastocisto en los días 8-9 posinseminación justo antes de la ruptura de la zona pelúcida y la implantación.

El desarrollo del cuerpo lúteo, el crecimiento folicular y las concentraciones de progesterona y estrógenos influyen la sobrevivencia embrionaria y el mantenimiento del cuerpo lúteo después de la fertilización (Thatcher *et al.*, 1997). El desarrollo del cuerpo lúteo resulta en la secreción de progesterona, la cual influye el desarrollo del embrión, la producción de interferon- τ y la inhibición de la cascada luteolítica (Mann y Lamming, 2001). El establecimiento y mantenimiento de la gestación son procesos complejos que requieren de una precisa comunicación y sincronía entre el embrión y la madre. La función de la progesterona es crítica, en este proceso la insuficiente actividad lútea ha sido asociada con infertilidad en ganado (Wiebold, 1998). La baja

concentración de progesterona durante la gestación temprana puede afectar el desarrollo embrionario y el reconocimiento maternal (Mann *et al.*, 1999).

En la vaca el reconocimiento maternal de la gestación ocurre entre los días 16 y 19 de la gestación (Thatcher *et al.*, 1995). El modelo para el reconocimiento maternal de la vaca es muy parecido al de la oveja, aunque no está muy claro que exista una relación directa entre la estimulación de la oxitocina y la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en la vaca. El embrión bovino produce un número de proteínas acídicas de bajo peso molecular (22 000 – 24 000) que incluyen la proteína trofoblástica bovina-1 (bTP-1). Similar a la proteína trofoblástica ovina-1 (oTP-1). Esas proteínas ahora son reconocidas como interferones (IFN) (Roberts *et al.*, 1991). La bTP-1 se clasifica como un IFN- τ y se denomina IFN- τ bovino (bIFN- τ) (Roberts *et al.*, 1992).

El endometrio de las vacas preñadas produce un inhibidor de la síntesis de prostaglandina endometrial (EPSI) que específicamente reduce la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Gross *et al.*, 1988; Helmer *et al.*, 1989). Este inhibidor parece ser el ácido linoléico. La proporción de este ácido con el ácido araquidónico (el precursor de $\text{PGF}_{2\alpha}$) es mucho más alta en vacas gestantes que en las no gestantes, lo que sugiere una función importante de las alteraciones en la composición de lípidos del tejido uterino en el reconocimiento maternal de la gestación en vacas (Staples *et al.*, 1998). No existe evidencia de un EPSI en la oveja.

En ausencia de un apareamiento y fecundación exitosos, el útero sintetiza y libera $\text{PGF}_{2\alpha}$ luteolítica para iniciar la regresión morfológica del cuerpo lúteo y cese la producción de

progesterona. Este proceso sirve para iniciar un nuevo ciclo de receptividad sexual (regreso al estro) en preparación para el apareamiento y fecundación, en otro intento por establecer la preñez.

4. FACTORES QUE AFECTAN LA FERTILIDAD DE LA VACA

4.1 Producción de leche

La fertilidad en los hatos lecheros ha disminuido en los últimos 30 años, lo cual a coincidido con un incremento en la producción de leche; sin embargo, la producción de leche, como tal, no influye en la fertilidad sino que son los factores asociados con el manejo en los hatos lecheros los que la determinan (Lucy, 2001). En el ganado bovino lechero existe un efecto adverso sobre la fertilidad en los primeros meses de lactancia, como consecuencia de la alta producción láctea (Gordon, 1996). Esto se debe fundamentalmente al balance negativo de energía que experimentan las vacas en esta etapa, ya que es cuando se alcanza la máxima producción de leche (Gutiérrez, 2001). La disminución del rendimiento reproductivo está relacionado con los picos más altos de producción en vacas de alto rendimiento (Lean *et al.*, 1989). Comparadas con vacas de baja producción, las vacas altas productoras tienen bajos rendimientos reproductivos, ya que requieren un mayor tiempo para recibir su primer servicio y tienen un menor porcentaje de concepción al primer servicio (Dhaliwal *et al.*, 1996).

La tasa de concepción en vacas lecheras lactando en los Estados Unidos ha disminuido desde 1950 (Butler y Smith, 1989), mientras que la producción de leche anual por vaca ha incrementado 3.3 veces de 2410 a 8061 kg (Lucy, 2001). En el Reino Unido la fertilidad también ha disminuido en el periodo de 1975 a 1982 a el periodo de 1995 a

1998 (Royal *et al.*, 2000b). Entre esos periodos, la tasa de gestación después del primer servicio disminuyó de 56 a 40%, a pesar de que los intervalos a primer servicio son similares, mientras que los intervalos entre partos incrementaron de 370 a 390 días. Estos hallazgos mostraron una relación inversa entre producción de leche y fertilidad, no es de asombrarse que existe un antagonismo genético entre algunas características reproductivas y la producción de leche. Este antagonismo se manifiesta particularmente en vacas primíparas.

El comportamiento reproductivo ha disminuido en Norte América, Europa y Australia. Las razones de dicha disminución son multifactoriales y no están totalmente asociadas con un incremento en la producción de leche (Lucy, 2001). Estudios en epidemiología indican que otros factores tales como enfermedades reproductivas (retención de placenta, metritis, quistes ovaricos) o la época de parto son relativamente más importantes que la producción de leche sobre el comportamiento reproductivo (Gröhn y Rajala-Schultz, 2000). En este aspecto, la selección genética a la que se ha sometido el ganado lechero no ha producido un deterioro genético de la fertilidad. Por lo tanto, la alta producción de leche en sí misma no sería la principal causa de la disminución de la fertilidad; más bien, ello podría deberse en gran medida a estrategias de alimentación equivocadas, dietas no equilibradas y aporte insuficiente de nutrientes, lo que en definitiva se traduce en un severo desbalance endocrino-metabólico que afecta negativamente tanto la producción de leche como la reproducción de las vacas (Chalupa y Ferguson, 1990).

La baja fertilidad no es provocada por medio de la lactancia como proceso fisiológico, sino por los cambios metabólicos que impone la producción de grandes volúmenes de leche y el inadecuado consumo de nutrimentos. Así las vacas lecheras después del parto caen en un balance energético negativo, lo cual significa que la suma de energía necesaria para su propio mantenimiento y la que requiere para producción es mayor que la consumida, por lo que se ven obligadas a utilizar sus reservas corporales. Estas vacas llagan a su punto más bajo de balance energético entre los días 10 y 20, y sigue en balance negativo aproximadamente hasta los días 70 u 80; en algunos casos, sobre todo en las vacas de primer parto hasta el día 100 posparto (Lucy *et al.*, 1992b; Villa *et al.*, 1988). El balance energético negativo afecta el control neuroendocrino de la reproducción, lo cual se ha asociado con la baja fertilidad (Butler, 2000; Villa *et al.*, 1988).

En un estudio realizado por Fricke y Wiltbank (1999) se encontró que la incidencia de ovulaciones múltiples está asociada con el nivel de producción de leche. Sin embargo, Santos *et al.* (2001) no observaron efecto entre la producción de leche y la incidencia de ovulaciones múltiples en vacas tratadas con hCG y vacas control. Wiltbank *et al.* (2000) sugirieron que las vacas con alta producción pueden seleccionar más de un folículo, lo cual resulta en una doble ovulación. El tratamiento con hCG en el día 5 después de la inseminación induce la formación de cuerpos lúteos accesorios, incrementa las concentraciones de progesterona y mejora la tasa de concepción en vacas altas productoras (Santos *et al.*, 2001).

4.2 Condición corporal

La medida de condición del cuerpo se utiliza como método subjetivo para determinar las reservas corporales en ovejas, vacas productoras de carne y vacas lecheras. El método se basa en la evaluación visual y táctil de las reservas de grasas del cuerpo en las regiones lumbares y pélvicas y generalmente el valor de condición corporal se mide en una escala de 1 a 5. El nivel de gordura o la medida de condición corporal en períodos clave durante una lactancia, tales como el cambio en condición corporal en la lactancia temprana podría afectar la reanudación de los ciclos estrales y el éxito de los procesos reproductivos. El cambio en condición corporal en las primeras semanas de lactancia puede indicar el grado de actividad metabólica, así como el déficit de energía para producción, el cual se puede resolver a través de la movilización de reservas corporales (Pryce y Løvendahl, 1999). Reynolds y Beever (1995) mencionan que la movilización de tejidos corporales sostiene una producción promedio de 7 kg de leche por día.

La condición corporal de las vacas lecheras al momento del servicio está relacionada de manera positiva con la fertilidad. Kunkle *et al.* (1997) indican que las vacas que llegan con baja condición al parto tienen menos producción de leche y bajos índices de concepción que aquellas que llegan al parto con una condición moderada. La eficiencia reproductiva de la vaca después del parto depende en gran medida de su estado nutricional (Butler y Smith, 1989; Sasser *et al.*, 1988). La eficiencia reproductiva de vacas mantenidas en un nivel de condición corporal de 3.3 (escala 1-5) es buena, mientras que vacas mantenidas con una condición de 2.5 son ineficientes (Wildman *et al.*, 1982). Lalman *et al.* (1997) mencionan que las vacas que son servidas con una condición corporal menor a 2 tienen menor fertilidad que las que llegan entre 2.5 y 3

grados de condición corporal. Por otro lado, Domínguez (1997) reporta un mayor número de folículos de más de 4 mm de diámetro en vacas con una condición entre 3 y 5.

Santos *et al.* (2001) observaron que la administración de hCG mejora el porcentaje de gestación en vacas que pierden condición corporal entre el día de la inseminación y el día 28 después de la inseminación. Estos autores también señalan que vacas con condición corporal moderada al momento de la inseminación tienen una tasa de concepción más alta que vacas con baja condición corporal (48.7 vs 34.4%, respectivamente).

4.3 Nutrición

La nutrición es tan variable que en cualquier momento debe ser cuidadosamente valorada en términos de sus posibles efectos sobre la fertilidad de la vaca. Aun cuando las vacas raramente están mal alimentadas, en ocasiones la dieta no cubre los requerimientos de energía para mantener su peso y su alta producción de leche durante los primeros días de la lactancia. Las pérdidas de peso vivo en este periodo a menudo están relacionadas con una disminución en la eficiencia reproductiva debido a un retraso en el inicio de la actividad ovárica posparto y una disminución en el índice de concepción (Gordon, 1996). Otros investigadores como Ryan *et al.* (1992) y Williams (1989) señalan que la inclusión de grasa en la dieta con la finalidad de incrementar la cantidad de energía consumida por el animal, ha demostrado aumentar el desarrollo folicular ovárico, reducir el periodo anovulatorio posparto y modular la actividad lútea.

El inadecuado consumo de energía en la dieta y una pobre condición corporal pueden afectar negativamente la función reproductiva. La suplementación lipídica se ha utilizado para incrementar la densidad de energía en la dieta y disminuir los efectos negativos asociados (Coppock y Wilks, 1991). Los lípidos suplementados pueden tener efectos positivos directos en la reproducción en ganado de carne independiente de la contribución de energía. La suplementación lipídica ha mostrado un efecto positivo en la función reproductiva en varios tejidos importantes incluyendo el hipotálamo, la pituitaria anterior, el ovario y el útero (Funston, 2004). Los efectos documentados de la suplementación con lípidos sobre el metabolismo de las hormonas han sido contradictorios. El consumo de aceites vegetales poliinsaturados ha mostrado un incremento de insulina en suero y las concentraciones de la hormona de crecimiento en vacas lecheras y productoras de carne (Williams y Stanko, 1999). Sin embargo, Bottger *et al.* (2002) no reportan diferencias en las concentraciones de glucosa en suero, hormona de crecimiento, factor de crecimiento parecido a la insulina tipo I (IGF-I) e insulina en vaquillas de carne suplementadas con semillas con alto contenido de ácidos grasos linoléico y oléico.

El incremento en el potencial genético para la producción de leche ha sido asociado con una disminución de la fertilidad en vacas lecheras lactando (Butler y Smith, 1989). Las estrategias para mantener los requerimientos nutricionales de las vacas altas productoras han sido necesariamente cambiadas en conjunto con las ganancias genéticas. Las dietas altas en proteína (17 a 19%) soportan y estimulan la alta producción de leche en la lactancia temprana (Grings *et al.*, 1991). Actualmente, el NRC (NRC, 1989) recomienda dietas que contienen 18 a 19% de proteína cruda para vacas altas productoras. Aunque

dietas altas en proteína estimulan la producción de leche, en la mayoría de los estudios se ha encontrado que incrementar la proteína es perjudicial para el comportamiento reproductivo de la vaca lechera (Ferguson y Chalupa, 1989).

4.4 Edad de la vaca

La fertilidad de vacas lecheras disminuye conforme avanza la edad. En términos generales, las novillas lecheras que tienen su primer parto a los dos años de edad llegan a la gestación con más dificultad que las vacas maduras; las vacas viejas próximas a su fin de vida activa, tienen índices de fertilidad más bajos (Gordon, 1996). Eicker *et al.* (1996) mencionan que las vacas adultas muestran una diferencia de 8% menos en la tasa de concepción que vacas jóvenes. Ríos y Salazar (1997) no encontraron diferencias significativas en el porcentaje de fertilidad entre vacas (63.2%) y vaquillas (62.5%) sincronizadas; Martínez y Pichardo (1999) reportan resultados similares. Por otro lado, en ganado de carne sincronizado Romero (2002) encontró que las vaquillas mostraron menor fertilidad ($P<0.08$) que las vacas (50.0% y 75.0%) respectivamente; sin embargo, Rodríguez (1995) reporta mayores niveles de fertilidad en vaquillas.

Rajamahendran y Taylor (1990) no encontraron diferencias en el número de días del parto a la primera ovulación en vacas de primer parto y vacas con más de un parto; estos resultados son similares a los reportados por El-Din *et al.* (1995) quienes no encontraron diferencias en el reinicio de la actividad ovárica posparto en vacas con diferente número de parto. Por su parte Eicker *et al.* (1996) mencionan que los días abiertos y el intervalo del parto a la primera inseminación son mayores en vacas con más de tres partos en comparación con vacas jóvenes.

4.5 Época de parto

Fonseca *et al.* (1983) encontraron que las vacas que parieron entre los meses de diciembre y febrero presentaron un intervalo a la primera ovulación posparto 6.5 ± 2.9 días más largo que las vacas que parieron entre septiembre y noviembre. Opsomer *et al.* (2000) observaron que el número de vacas que reiniciaron la actividad ovárica en los primeros 50 días posparto fue afectado ($P < 0.001$) por la época de parto (Primavera 55%; verano 69%; otoño 55%; invierno 43%). Por su parte, El-Din *et al.* (1995) encontraron que las vacas que parieron entre primavera y verano mostraron el mismo intervalo al reinicio de la actividad ovárica (25.1 ± 1.4 días) que las vacas que parieron en otoño e invierno (28.1 ± 1.7 días).

La administración hCG induce la formación de cuerpos lúteos en un mayor porcentaje de vacas durante época fría. Santos *et al.* (2001) mencionan que vacas control y vacas tratadas con hCG presenta una tasa de concepción similar durante el periodo cálido (44.1 vs 43.3% , respectivamente); sin embargo, vacas tratadas con hCG durante el periodo frío tuvieron mayor tasa de concepción que vacas control (47.8 vs 34.2% , respectivamente).

Según Roth *et al.* (2000) la dominancia de folículo preovulatorio se incrementa en verano, lo que se relaciona negativamente con la fertilidad, además de que disminuye la secreción de esteroides foliculares. Savio *et al.* (1990) encontraron mayores ($P < 0.05$) intervalos entre el parto y la detección del primer folículo dominante en vacas que parieron en primavera (20.1 ± 10.1 días) que las vacas que parieron en otoño (6.8 ± 1.8

días); sin embargo, el intervalo del parto a la primera ovulación posparto no se afectó por la época de parto (primavera 27.3 ± 18.9 ; otoño 27.4 ± 25.9 días).

4.6 Detección de estros

La eficiencia en la detección de estros es el factor de manejo más importante a considerar para obtener una fecundación exitosa posterior al servicio. Stevenson (2001) menciona que es importante reconocer con exactitud los signos de estro e identificar todos los celos, ya que se reporta que en los establos lecheros de Estados Unidos de América aproximadamente solo el 50% de los celos son detectados (Seeger, 1994). Un estudio reciente en los Estados Unidos de América (Washburn *et al.*, 2002) reportó para 1999 una disminución en la tasa de detección de estros de 50.9 y 59.6% en 1985 a 41.5 y 49.5% en vacas Holstein y Jersey, respectivamente.

La eficiencia en la detección de celos se define como el porcentaje de vacas en “estro” que son identificadas. En México la eficiencia es baja y en promedio se detecta el 44% de los celos. La baja eficiencia en la detección de celos se debe principalmente a errores humanos como son: poco tiempo dedicado a esta actividad, personal no experimentado y malas instalaciones. Esta ineficiencia en la detección de celos puede incrementar el intervalo promedio entre inseminación de 40 a 50 días (Stevenson y Call, 1983) y limita la eficiencia reproductiva. Los errores en la detección de celos son definidos por la proporción de vacas que son inseminadas y que no están en celo. Estos errores son muy comunes y han sido detectados entre un 5 a 30% mediante investigaciones determinando progesterona en sangre. Dichos errores incrementan los días abiertos y los costos por pérdida de semen.

Whisnant *et al.* (1999) mencionan que uno de los problemas más marcados en la eficiencia reproductiva de los hatos lecheros, es la baja detección de estros siendo este el factor limitante en la fertilidad de las vacas lecheras. Esto se acentúa en la época de verano donde posiblemente por la reducción de la producción de estradiol, la intensidad del estro disminuye hasta 50% en comparación con el invierno. El estrés calórico marcado reduce en las células de la granulosa de los folículos la actividad de la aromatasa, disminuyendo así el nivel del estradiol (Wolfenson *et al.*, 2000).

El estrés fisiológico y ambiental en vacas lecheras altas productoras afecta negativamente la detección del estro y la fertilidad. El éxito de los programas de inseminación artificial en los establos lecheros depende de la detección precisa y eficiente del estro; sin embargo, la exactitud y la eficiencia en la detección del estro son muy variables y dependen de factores del animal, del ambiente y de manejo. En vacas altas productoras, la competencia alterada de los folículos y los bajos niveles circulantes de estradiol durante el proestro se asocian con tasas reducidas de detección de estros y fertilidad (Santos *et al.*, 2002).

5. ALTERNATIVAS PARA MEJORAR LA FERTILIDAD EN VACAS

5.1 ADMINISTRACIÓN DE GnRH

5.1.1 Administración de GnRH el día de la inseminación

La GnRH es un neuropéptido que estimula las células gonadotrópicas en la hipófisis anterior o adenohipófisis para la secreción de LH y FSH (D' Occhio *et al.*, 2002). Se ha indicado que la GnRH aplicada al momento de inseminación induce la ovulación y mejora el porcentaje de concepción (D' Occhio *et al.*, 2002; Taponen *et al.*, 2000). Esta

forma de enfrentar la falla en la concepción se fundamenta en el concepto de que esta hormona sincroniza la ovulación con el momento de la inseminación (Morgan y Lean, 1993; Stevenson *et al.*, 1990), previenen problemas de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo (Morgan y Lean, 1993). Son muchos los estudios y también la variabilidad de los resultados (Cuadro 1).

La administración de GnRH al inicio del estro (antes de que ocurra el pico preovulatorio de LH) provoca un pico de LH de mayor amplitud que el pico fisiológico de LH; mientras que si se administra al momento de la inseminación cuando ya han transcurrido más de 12 horas del inicio del estro, la liberación de LH es significativamente menor (Rosenberg *et al.*, 1991). Morgan y Lean (1993) analizaron los resultados de 40 estudios publicados en 27 artículos y observaron que la administración de GnRH aumentó la probabilidad de gestación en los animales tratados, en particular en vacas repetidoras.

5.1.2 Administración de GnRH los días 5 y 6 después de la inseminación

Recientemente se ha enfatizado el uso de GnRH durante la fase luteal temprana para el soporte de la función del cuerpo lúteo (D' Occhio *et al.*, 2002) y de esta forma posiblemente reducir la mortalidad embrionaria al momento del reconocimiento maternal de la gestación (Shaw, 1999). El tratamiento con GnRH durante los días 5 y 6 posinseminación ha demostrado efectividad para desarrollar un cuerpo lúteo accesorio e incrementar los niveles de progesterona (Rajamahedran *et al.*, 1998; Schmitt *et al.*, 1996b). Rusbridge *et al.* (1992) mostraron que la administración de GnRH el día 6 posinseminación induce la formación de un cuerpo lúteo accesorio en un 75% las vaquillas tratadas; en otro estudio (Schmitt *et al.*, 1996a) reportan que el 93% (13/14) de

las vaquillas que fueron tratadas con GnRH el día 5 después de la inseminación formaron un cuerpo lúteo accesorio. Schmitt *et al.* (1993) mencionan que las concentraciones de progesterona en plasma en vaquillas que formaron un cuerpo lúteo en respuesta a la administración de GnRH el día 5 del ciclo estral, fueron significativamente menores comparadas con las concentraciones en vaquillas tratadas con hCG el día 5 que también formaron un cuerpo luteo adicional.

Cuadro 1. Efecto de la administración de GnRH en el porcentaje de gestación en bovinos.

Día	Dosis (µg)	Porcentaje de Gestación		Efecto	Referencia
		Control	Tratadas		
0	100	54.2%(45/83)	36.8%(36/81)	-17.2%	Swanson y Young (1990)
0	10	42.4%(219/516)	48.8%(251/514)	+6.4%	Ryan <i>et al.</i> (1991)
0 + 12	10 + 10	42.4%(219/516)	51.1%(257/503)	+8.7%	Ryan <i>et al.</i> (1991)
0	50	33.5%(553/1649)	38.1%(180/472)	+4.6%	Morales <i>et al.</i> (1998a)
0	100	47.6%(10/21)	80.0%(16/20)	+32.4%	Luna y Serrano (2004)
5	100	44.4%(87/196)	47.7%(102/214)	+3.3%	Bartolome <i>et al.</i> (2005)
15	100	44.4%(87/196)	43.5%(91/209)	-0.9%	Bartolome <i>et al.</i> (2005)

5.1.3 Administración de GnRH los días 12 ó 13 después de la inseminación

La modificación de la dinámica folicular en los días 12 y 13 posinseminación ha favorecido la fertilidad (Humblot y Thibier, 1981; Macmillan *et al.*, 1986; Lajili *et al.*, 1991). Macmillan *et al.* (1986) encontraron que la administración de GnRH en los días 12 ó 13 posinseminación en vacas en lactación provocó un incremento significativo del porcentaje de concepción. Esos mismos autores observaron que el tratamiento con GnRH provocó luteinización y atresia de los folículos, lo cual fue asociado con un alargamiento del ciclo estral (Macmillan y Thatcher, 1991).

Evidentemente, las características de la población folicular en el diestro medio y tardío y en consecuencia la actividad estrogénica durante este periodo pueden estar influyendo en el establecimiento de la gestación. Pritchard *et al.* (1994) observaron que las vacas que tuvieron concentraciones bajas de estradiol en el diestro tardío presentaron un porcentaje de concepción mayor que las vacas con concentraciones elevadas. Por otra parte, Mann *et al.* (1995) encontraron que las vacas tratadas con GnRH el día 12 posinseminación que resultaron gestantes tuvieron menores concentraciones de estradiol que las vacas que no concibieron.

Mateos *et al.* (2002) reportaron que las concentraciones de progesterona y estradiol fueron similares entre las vacas gestantes y vacías. No obstante, las vacas gestantes tuvieron menor diámetro folicular pero no ocurrió lo mismo con las concentraciones de estradiol, ya que estas fueron similares a la de las vacas no gestantes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios aplicando GnRH en los días 11, 12 ó 13, en los cuales la eliminación de los folículos grandes ha incrementado el porcentaje de concepción (Humblot y Thibier, 1981; Macmillan *et al.*, 1986; Lajili *et al.*, 1991). Sin embargo, este efecto no ha sido favorable en todos los casos, ya que en otros trabajos no ha habido tal efecto (Peters *et al.*, 2000). Esta situación probablemente depende de las particularidades de los hatos estudiados y también de la gran variabilidad en la población folicular de las vacas al momento del tratamiento, lo cual está relacionado con el número de ondas foliculares (Fortune, 1994).

5.2 USO DE LA ULTRASONOGRAFÍA

La aplicación de la ultrasonografía transrectal en tiempo real al estudio de la reproducción bovina representa un avance tecnológico que ha revolucionado nuestro conocimiento de la biología reproductiva. El uso de imágenes obtenidas con ultrasonido ha clarificado la naturaleza del complejo proceso reproductivo en bovinos, incluyendo la dinámica folicular, funcionamiento del cuerpo lúteo, y desarrollo fetal. La adopción masiva de la ultrasonografía para exámenes reproductivos de rutina es la próxima contribución de esta tecnología a la industria lechera (Fricke, 2000; Fortune, 1993).

Los exámenes reproductivos de rutina en lechería deben incluir la visualización de las principales estructuras (o su ausencia) en los dos ovarios. Aunque la palpación rectal puede ser un método preciso para el diagnóstico de preñez, es un método deficiente para definir los folículos ováricos (Pieterse *et al.*, 1990). En contraste, la imagen del ultrasonido permite una alta precisión y rapidez para evaluar las estructuras ováricas (Griffin y Ginther, 1992). Comúnmente, los practicantes bovinos proceden directamente a escanear el útero durante el examen reproductivo olvidando por completo los ovarios. Esto es un error, pues los ovarios contienen abundante información que puede ser utilizada como ayuda diagnóstica en la revisión del tracto reproductivo. Por ejemplo, la presencia o ausencia de cuerpo lúteo ayuda en el diagnóstico de la preñez, especialmente si es un diagnóstico temprano. Cuando está presente, el tamaño y la ubicación (ovario derecho o izquierdo) del cuerpo lúteo indica la localización del concepto dentro del útero si la vaca está preñada (Fricke, 2000). Debido a que la mayoría de los gemelos en el ganado bovino son dicigóticos (Wiltbank *et al.*, 2000) la presencia de múltiples cuerpos lúteos es un indicador diagnóstico de la presencia de gestación gemelar. Las patologías

del ovario, como “ovarios estáticos” y quistes foliculares y luteinizados pueden ser fácilmente distinguidos. Sin embargo, el uso de las estructuras ováricas como ayudas diagnósticas durante los exámenes reproductivos, requieren amplio conocimiento de la anatomía y fisiología ovárica y reproductiva.

El diagnóstico de quistes en ganado lechero ocurre con mayor frecuencia durante los exámenes posparto de rutina realizados por el practicante bovino. La palpación rectal de una estructura grande y llena de fluido es comúnmente interpretada como un hallazgo clínico de un quiste folicular. La diferenciación de un quiste luteal y uno folicular mediante palpación rectal es difícil, aún para personal más experimentado. La precisión en el diagnóstico aumenta cuando se utiliza ultrasonografía transrectal, con la correcta identificación de más del 90% de los quistes luteales y cerca del 75% de los quistes foliculares (Farin *et al.*, 1990).

El uso de la ultrasonografía tiene varias ventajas una de estas es la detección precisa y la visualización de patologías uterinas y ováricas, que mediante palpación rectal son muy difíciles de detectar, lo anterior facilita la selección y aplicación de adecuadas terapias hormonales. Por su parte Bo *et al.* (1995) mencionan que la combinación de la ultrasonografía y tecnologías reproductivas como un sistema de manejo reproductivo mejora varios parámetros dentro de una explotación.

El uso de la ultrasonografía transrectal para determinar el estado temprano de preñez es una de las aplicaciones más prácticas del ultrasonido en reproducción de ganado lechero. La identificación temprana de las vacas vacías después del servicio mejora la eficiencia

reproductiva y la tasa de preñez en un hato al disminuir el intervalo entre inseminaciones e incrementar la tasa de servicio (Fricke, 2000).

Debido a que la preñez puede determinarse más temprano con ultrasonido que con palpación, la tasa de pérdida de preñez es casi siempre mayor. Aunque la tasa de pérdida de preñez es significativa, la técnica de ultrasonido no ha sido implicada como causa de muerte embrionaria en el ganado (Ball y Logue, 1994; Baxter y Ward, 1997). Por el contrario, el ultrasonido es una técnica mucho menos invasiva que la palpación rectal para el diagnóstico temprano de gestación (Paisley *et al.*, 1978) y puede minimizar la incidencia de abortos ocasionados por palpación rectal.

La ultrasonografía transrectal puede utilizarse para determinar el sexo del feto bovino *in vivo*. El sexo se determina mediante la evaluación de la morfología del tubérculo genital y es un método confiable y preciso para la determinación del sexo a partir del día 55 - 60 de gestación (Curran *et al.*, 1989). Debido al descenso del tracto reproductivo y el concepto uterino por delante del borde anterior de la pelvis hacia la cavidad abdominal a medida que avanza la gestación, se torna cada vez más difícil alcanzar el feto para hacer un diagnóstico acertado en etapas posteriores de la gestación.

5.3 ADMINISTRACIÓN DE PROGESTERONA

El conocimiento de que la progesterona es una hormona vital durante la gestación temprana y que está asociada con el control del desarrollo temprano del embrión, por lo que ha sido motivo de varios estudios en los cuales la suplementación con progesterona

ha sido utilizada en un intento para incrementar el porcentaje de gestación en ganado bovino (Cuadro 2).

En vaquillas productoras de carne, Garrett *et al.* (1988) encontraron que incrementar la concentración de progesterona en los días 2 a 5 después de la inseminación, tuvo como resultado un aumento significativo en el desarrollo del embrión en el día 14 posinseminación (el embrión incremento 10 veces su longitud). En un estudio reciente Kerbler *et al.* (1997) demostraron un escaso incremento en producción de interferon- τ en el día 18, por embriones bovinos colectados de vacas en las cuales la progesterona había sido incrementada artificialmente desde alrededor del día 8 posinseminación mediante la inducción de un cuerpo lúteo accesorio. Esto es soportado por otro estudio en el cual la administración suplementaria de progesterona desde el día 5 a 9, pero no desde el día 12 a 16 después del servicio resultó en un incremento significativo en producción de interferon- τ en el día 16 después de la inseminación (Mann *et al.*, 1998).

En diversos estudios se han encontrado concentraciones de progesterona más bajas durante la fase lútea de vacas que no quedan gestantes después de la inseminación artificial comparadas con aquellas que si quedaron gestantes (Mann *et al.*, 1995; Butler *et al.*, 1996); en ovejas se ha encontrado que las concentraciones bajas de progesterona durante la fase lútea se asocian con un pobre desarrollo embrionario (Nephew *et al.*, 1991). En bovinos se ha encontrado que la administración de progesterona exógena acelera el desarrollo de los embriones (Garrett *et al.*, 1988) y resulta en mejores índices de gestación (Mann y Lamming, 1999). Sin embargo, en otros estudios no se han detectado diferencias entre las concentraciones de progesterona de los animales que

quedan gestantes y aquellos que no lo hacen (Hernández *et al.*, 1993). Garrett *et al.* (1988) encontraron que la administración de progesterona al inicio del ciclo estral acelera el desarrollo embrionario e incrementa la producción de interferon- τ en vacas productoras de carne. Mann y Lamming (2001) demostraron que las vacas lecheras en las que la progesterona se elevó lentamente durante el inicio del ciclo estral, y que tuvieron concentraciones promedio de progesterona más bajas de lo normal, tuvieron embriones en el día 16 del ciclo (justo antes del reconocimiento materno de la gestación) menos desarrollados de lo normal, y no producían interferon- τ o lo producían en cantidades muy pequeñas. La producción deficiente de progesterona puede resultar en la presencia de embriones con pobre desarrollo, incapaces de provocar el reconocimiento maternal de la gestación debido a su limitada producción de interferon- τ . En vacas no existen evidencias de que la progesterona estimule directamente el desarrollo embrionario, lo que sugiere que el efecto estimulador del desarrollo embrionario sería mediado por efectos de la progesterona sobre el ambiente uterino.

El efecto de los bajos niveles de progesterona sobre la sensibilidad uterina a la oxitocina puede ser independiente del desarrollo embrionario y su producción de interferon- τ . Wamsley *et al.* (2003) trabajando con novillas que no habían sido servidas, a las que se les había inducido la producción de concentraciones subnormales de progesterona durante la fase lútea, encontraron que producían más PGF_{2 α} en el día 16 de ciclo, y respondían a la administración de oxitocina con mayor secreción de PGF_{2 α} que las novillas testigo que tenían concentraciones normales de progesterona.

En vacas lecheras se ha encontrado que la alta producción láctea se asocia con una mayor tasa de eliminación de la progesterona (Rabiee *et al.*, 2001a). También se ha encontrado que las vacas con alto consumo de alimento eliminan más rápidamente tanto progesterona endógena como la administrada exógenamente, lo que resulta en menores concentraciones plasmáticas de la hormona (Rabiee *et al.*, 2001a, 2001b). Sangsritavong *et al.* (2002) demostraron que un alto consumo de alimento se asocia con mayor flujo de sangre en el hígado y mayor catabolismo de las hormonas esteroides en dicho órgano.

Cuadro 2. Efecto de la suplementación con progesterona en el porcentaje de gestación en bovinos.

Día	Control	Tratadas	Efecto	Referencia
5	45.0%(9/20)	73.7%(14/19)	+18.7%	Sreenan y Diskin (1983)
10	61.1%(102/167)	65.4%(102/156)	+4.3%	Sreenan y Diskin (1983)
5	30.0%(9/30)	60.7%(17/28)	+30.7%	Robinson <i>et al.</i> (1989)
10	30.0%(9/30)	59.3%(16/27)	+29.3%	Robinson <i>et al.</i> (1989)
5	57.1%(8/14)	68.0%(17/25)	+10.9%	Walton <i>et al.</i> (1990)
14	63.6%(300/472)	64.0%(329/514)	+0.4%	Macmillan <i>et al.</i> (1991)
4	66.3%(309/476)	74.6%(344/461)	+8.3%	Macmillan <i>et al.</i> (1991)
13	42.4%(39/92)	50.0%(18/36)	+7.6%	Stevenson y Mee (1991)
7	53.6%(83/155)	57.9%(92/159)	+4.3%	Van Cleef <i>et al.</i> (1991)
3	34.9%(22/63)	47.8%(32/67)	+12.9%	Larson <i>et al.</i> (1995)
10	53.3%(72/135)	56.0%(75/134)	+2.7%	Mann <i>et al.</i> (1998)

5.4 ADMINISTRACIÓN DE hCG

5.4.1 Administración de hCG el día de la inseminación

El porcentaje de gestación en diferentes estudios en los cuales se ha administrados hCG el momento del servicio muestran mucha variabilidad en los resultados. En un estudio (Morales *et al.*, 1998a) en el cual un primer grupo de vacas recibieron 2500 UI de hCG al momento de la inseminación, un segundo grupo de vacas recibió una segunda inseminación (reinseminación) 12 h después de la primera y un tercer grupo de vacas control, el porcentaje de gestación fue similar ($P>0.05$) entre grupos (hCG, 40.7%;

reinseminación, 34.7% y testigos, 33.5%). Se desconoce el mecanismo por el cual la hCG administrada al momento de la inseminación pudiera estar mejorando la fertilidad. Es poco probable que se deba a que se evita la ovulación retardada, ya que ésta tiene baja incidencia, aun en animales repetidores (Hernández *et al.*, 1993). Es cuestionable el mejoramiento de la función del cuerpo lúteo en los animales tratados, puesto que la función del cuerpo lúteo es similar a la de los animales testigos (Lewis *et al.*, 1990). Morales *et al.* (1998b) evaluaron la función del cuerpo lúteo y la fertilidad de vacas repetidoras tratadas con 2 500 UI de hCG al momento de la inseminación y no observaron un mejoramiento de la función lútea ni de la fertilidad.

El factor que puede favorecer la fertilidad en las vacas tratadas con hCG es el hecho de que la aplicación de esta hormona al momento de la inseminación probablemente sincronice el momento de la ovulación con el servicio (Stevenson *et al.*, 1990) si esta condición se presenta en hatos con deficiencias en la detección de estros, en los cuales el único criterio para inseminar es la información que proporciona la actividad motriz de la vaca o las características de los órganos genitales, entonces sí podría estar contribuyendo a mejorar la fertilidad.

Morales *et al.* (1998b) encontraron que las concentraciones de progesterona en vacas repetidoras que recibieron 2 500 UI hCG fueron similares a las de las vacas del grupo testigo, resultados similares fueron obtenidos en vacas de primer servicio (Sianangama y Rajamahendran, 1992). El tratamiento con hCG al momento de la inseminación no ha mejorado la función del cuerpo lúteo (Morales *et al.*, 1998b); sin embargo, en otros estudios se ha observado un incremento si el mismo tratamiento se realiza durante el

metaestro y diestro (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Walton *et al.*, 1990). La respuesta puede obedecer al efecto de la hCG sobre la función de un cuerpo lúteo previamente formado (Breuel *et al.*, 1990) o a la inducción de cuerpos lúteos accesorios (Price y Webb, 1989).

Morales *et al.* (1998b) mencionan que la actividad adicional de LH inducida por la administración de hCG al momento de la inseminación no tuvo un efecto sobre el desarrollo de un cuerpo lúteo de mejor función, y es poco probable que haya provocado una mejor sincronización de la ovulación con respecto al momento de la inseminación, como lo señala Breuel *et al.* (1990) ya que si bien estos tratamientos se recomiendan para evitar problemas de ovulación retardada, hay evidencias que indican que los problemas de ovulación no constituyen una causa importante de infertilidad en hembras bovinas (Hernández *et al.*, 1993).

5.4.2 Administración de hCG los días 5 y 6 después de la inseminación

Las evaluaciones de tratamientos que consisten en provocar la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y, con ello, el desarrollo de un cuerpo lúteo accesorio se muestran en el Cuadro 3. El tratamiento con hCG durante los días cinco y siete posinseminación ha demostrado efectividad para desarrollar un cuerpo lúteo accesorio e incrementar los niveles de progesterona (Kerbler *et al.*, 1997; Price y Webb, 1989; Thatcher *et al.*, 2001). Sin embargo, los resultados de fertilidad no han sido consistentes (Cuadro 4); en algunos de los estudios (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Thatcher *et al.*, 2001; Walton *et al.*, 1990) en los que se ha administrado hCG durante el día cinco posinseminación, se ha incrementado significativamente el

porcentaje de concepción, tanto en vacas repetidoras como en no repetidoras. Sin embargo, Schmitt *et al.* (1996) no encontraron diferencias en la tasa de gestación en vaquillas Holstein (hCG = 64.8% vs control = 62.9%) o vacas de la misma raza lactando (hCG = 24.2% vs control 23.5%) que recibieron 3000 UI de hCG el día 5 ó 6. En otro estudio, Sianangama y Rajamahendran (1992) trataron 32 vacas Holstein lactantes con 1 000 UI de hCG el día siete posinseminación, el porcentaje de concepción fue significativamente diferente ($P<0.05$) entre las vacas tratadas (66.0%) y las del grupo testigo (42.0%).

Cuadro 3. Efecto de la administración de hCG en la formación de cuerpos lúteos accesorios en bovinos.

Día	Dosis (UI)	Incidencia de CL accesorios		Efecto	Referencia
		Tratadas	Control		
4-7	1 500	83.3%(10/12)	0%(0/3)	83.3%	Price y Webb (1989)
0	1 000	37.5%(3/8)	12.5%(1/8)	25.0%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
7	1 000	77.8%(7/9)	12.5%(1/8)	65.3%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
14	1 000	44.4%(4/9)	12.5%(1/8)	31.9%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
7	1 000	100%(6/6)	0%(0/6)	100.0%	Sianangama y Rajamahendran (1996)
5	3 000	100%(5/5)	0%(0/4)	100.0%	Schmitt <i>et al.</i> (1996a)
5	3 000	100%(4/4)	0%(0/4)	100.0%	Schmitt <i>et al.</i> (1996b)
5	1 500	100%(12/12)	0%(1/17)	100.0%	Kerbler <i>et al.</i> (1997)
5	3 000	100%(6/6)	0%(0/7)	100.0%	Díaz <i>et al.</i> (1998)
5	3 300	86.2%(175/203)	23.2%(47/203)	63.1%	Santos <i>et al.</i> (2001)
7	2 500	96.8%(31/32)	0%(0/30)	96.9%	Fantini <i>et al.</i> (2004b)

5.4.3 Administración de hCG los días 12 a 14 después de la inseminación

Los tratamientos hormonales que ocasionan la luteinización de los folículos en los días 12 a 14 posinseminación provocan un retraso de la luteólisis y se asocian con un aumento en el porcentaje de concepción (Mateos *et al.*, 2002). Sin embargo, Rodríguez *et al.* (1997) concluyeron que el tratamiento con 2 500 UI vía intramuscular de hCG en

el día 12 ó 13 después del servicio en vacas de tres o más servicios no se mejoró el porcentaje de concepción.

La administración de hCG en los días 12 y 13 del ciclo estral provoca la luteinización y ovulación de los folículos dominantes, lo cual se ha relacionado con un alargamiento del ciclo estral (Macmillan y Thatcher 1991); sin embargo, los resultados de fertilidad son contradictorios mientras en unos estudios se observa mejoramiento de la fertilidad (Rajamahendran y Sianangama, 1992; Sianangama y Rajamahendran, 1992), en otros no (Eduvie y Seguin, 1982; Rodriguez *et al.*, 1997). La causa de la discrepancia en la fertilidad obtenida posiblemente se debe a que la etiología de la falla en la concepción puede ser diferente entre los distintos experimentos, y el beneficio logrado mediante la luteinización de los folículos en algunos casos es mínimo o no existe. Por otro lado, el tratamiento con hCG elimina la fuente de estradiol mediante la luteinización de los folículos y retrasa la regresión del cuerpo lúteo (Macmillan y Thatcher 1991), aunque existe evidencia en la cual no se observa este efecto (Helmer y Britt, 1986), lo que permite pensar que posiblemente este no es un método adecuado para alargar la fase lútea.

Cuadro 4. Efecto de la administración de hCG en el porcentaje de gestación en bovinos.

Día	Dosis (UI)	Porcentaje de Gestación		Efecto	Referencia
		Control	Tratadas		
12	10 000	63.4%(64/101)	58.6%(58/99)	-4.8%	Eduvie y Seguin (1982)
4	3 000	58.8%(30/51)	55.0%(33/60)	-3.8%	Breuel <i>et al.</i> (1990)
5	1 500	39.5%(17/43)	47.2%(17/36)	+7.7%	Walton <i>et al.</i> (1990)
0	5 000	54.2%(45/83)	50.0%(38/76)	-4.2%	Swanson y Young (1990)
5	1 500	57.1%(8/14)	57.1%(8/14)	0.0%	Walton <i>et al.</i> (1990)
0	1 000	36.8%(7/19)	40.0%(8/20)	+3.2%	Sianangama y Rajamahendran (1992)
7	1 000	36.8%(7/19)	55.0%(11/20)	+18.2%	Sianangama y Rajamahendran (1992)
14	1 000	36.8%(7/19)	50.0%(10/20)	+13.2%	Sianangama y Rajamahendran (1992)
0	1 000	37.5%(3/8)	50.0%(4/8)	+12.5%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
7	1 000	37.5%(3/8)	77.8%(7/9)	+40.3%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
14	1 000	37.5%(3/8)	44.4%(4/9)	+6.9%	Rajamahendran y Sianangama (1992)
5	3 000	62.8%(76/121)	64.8%(79/122)	+2.0%	Schmitt <i>et al.</i> (1996a)
5	3 000	23.5%(24/102)	24.2%(24/99)	+0.7%	Schmitt <i>et al.</i> (1996a)
12	2 500	31.4%(38/121)	31.0%(37/119)	-0.4%	Rodriguez <i>et al.</i> (1997)
5	1 500	64.7%(11/17)	75.0%(9/12)	+10.3%	Kerbler <i>et al.</i> (1997)
0	2 500	33.5%(553/1649)	40.8%(86/211)	+7.3%	Morales <i>et al.</i> (1998a)
0	2 500	34.2%(795/2327)	40.8% (86/211)	+6.6%	Morales <i>et al.</i> (1998b)
5	3 300	36.4%(74/203)	40.4%(82/203)	+4.0%	Santos <i>et al.</i> (2001)
1	1 500	45.0%(18/40)	42.5%(17/40)	-2.5%	Nishigai <i>et al.</i> (2002)
6	1 500	45.0%(18/40)	67.5%(27/40)	+22.5%	Nishigai <i>et al.</i> (2002)
7	1 000	23.3%(7/30)	40.6%(13/32)	+17.3%	Fantini <i>et al.</i> (2004a)
5	1 500	46.3%(82/177)	63.6%(78/179)	-2.7%	Hanlon <i>et al.</i> (2005)

LITERATURA CITADA

- Adams, G. P. 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superovulation. *Theriogenology* 41: 19-24.
- Ball, P. J., and D. D. Logue. 1994. Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.* 134: 532 (Abstract).
- Bao, B., and H. A. Garverick. 1998. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Anim. Sci.* 76: 1903-1921.
- Bartolome, J. A., P. Melendez, D. Kelbert, K. Swift, J. McHale, J. Hernandez, F. Silvestre, C. A. Risco, A. C. M. Arteché, W. W. Thatcher, and L. F. Archbald. 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63: 1026-1037.
- Baxter, S. J., and W. R. Ward. 1997. Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. *Vet. Rec.* 140: 287-288.
- Bazer, F. W., J. L. Vallet, R. M. Roberts, D. C. Sharp, and W. W. Thatcher. 1986. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 76: 841-850.
- Binelli, M., W. W. Thatcher, R. Mattos, and P. S. Baruselli. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56: 1451-1463.
- Bo, G. A., G. T. Adams, M. Caccia, M. Martínez, R. A. Pierson, and R. J. Mapletoft. 1995. Ovarian follicular wave emergente after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 39: 193-204.
- Bodensteiner, K., K. Kot, M. C. Wiltbank, and O. J. Ginther. 1996. Synchronization o emergence of follicular waves in cattle. *Theriogenology* 45: 1115-1128.
- Boland, M. P., and P. Lonergan. 2003. Effects of nutrition on fertility in dairy cows. *Advances in Dairy Technology* 15: 19-33.
- Bottger, J. D., B. W. Hess, B. M. Alexander, D. L. Hixon, L. F. Woodard, R. N. Funston, D. M. Hallford, and G. E. Moss. 2002. Effects of supplementation with high linoleic o oleic cracked safflower seedson postpartum reproduction and calf performance of primiparous beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80: 2023-2030.
- Breuel, K. F., J. C. Spitzer, C. E. Thompson, and J. F. Breuel. 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 34: 139-145.

- Butler, W. R., and R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72: 767-783.
- Butler, W. R., J. J. Calaman, and S. W. Bean. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74: 858-865.
- Butler, W. R. 2000. Nutritinal interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 449-457.
- Carriere, P. D., D. Amaya, and B. Lee. 1995. Ultrasography and endocrinology of ovarian dysfuntions induced in heifers with estradiol valerate. *Theriogenology* 43: 1061-1076.
- Chalupa, W. y J. D. Ferguson. 1990. El impacto de la nutrición en la reproducción de las vacas lecheras. Servicio Técnico Laboratorio Roche.
- Coppock, C. E., and D. L. Wilks. 1991. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield and composition. *J. Anim. Sci.* 69: 3826-3837.
- Curran, S., J. P. Kastelic, and O. J. Ginther. 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim. Reprod. Sci.* 19: 217-227.
- Darwash, A. O., G. E. Lamming, and J. A. Wooliams. 1999. The potential for identifying heritable endocrine parameters associated with fertility in pos-partum dairy cows. *Anim. Sci.* 68: 333-347.
- Dhaliwal, G. S., R. D. Murray, and H. Dobson. 1996. Effects of milk yield and calving to first service interval, in determining herd fertility in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 41: 109-117.
- Díaz, T., E. J. P. Schmitt, R. L. De la Sota, M. J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.* 76: 1929-1936.
- D' Occhio, M., G. Fordyce, T. Jubb, L. Fitzpatrick, N. Cooper, W. Aspden, M. Bolam, and T. E. Trigg. 2002. Use of GnRH agonist implants for long-term supression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Anim. Reprod. Sci.* 74: 151-162.
- Driancourt, M. A. 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35: 55-79.

- Driancourt, M. A. 1999. Crecimiento folicular en los animales domésticos. *In: Memorias Fisiología de la Reproducción en Pequeños Rumiantes*. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Estado de México. pp: 84-87.
- Driancourt, M. A., P. Guet, and T. Magallon. 2000. Ovine follicular fluid inhibits aromatase activity. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18: 349-362.
- Domínguez, M. M. 1997. Efectos de la condición corporal, estado reproductivo y grupo racial sobre población folicular y calidad de los ovocitos en vacas. *In: Memorias VII Curso Internacional de Reproducción Bovina*. México, D.F. pp: 143-144.
- Eduvie, L. O., and B. E. Seguin. 1982. Corpus luteum function and pregnancy rate in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at middiestrus. *Theriogenology* 17: 415-422.
- Eicker, S. W., Y. T. Grohn, and J. A. Hertl. 1996. The association between cumulative milk yield, days open and days to first breeding in New York Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 79: 235-241.
- El-Din, A. Z., T. Nakao, M. A. Raouf, M. Moriyoshi, K. Kawata, and Y. Moritsu. 1995. Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 38: 203-214.
- Elrod, C. C., and W. R. Butler. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.* 71: 694-701.
- Eppig, J. J. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 122: 829-838.
- Erickson, G. F., and S. Shimasaki. 2001. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil. Steril.* 76: 943-949.
- Fantini, F. J. C., L. E. Kozicki, and F. P. Souza. 2004a. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on estrous cycle length and pregnancy rates in cattle. *Arch. Vet. Sci.* 9: 55-59.
- Fantini, F. J. C., L. E. Kozicki, and F. P. Souza. 2004b. Induction of accessory corpus luteum by human chorionic gonadotropin (hCG) and the relationship with progesterone concentrations in cattle. *Arch. Vet. Sci.* 9: 115-120.
- Farin, P. W., R. S. Youngquist, J. R. Parfet, and H. A. Garverick. 1990. Diagnosis of luteal and follicular cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. *Theriogenology* 34: 633-642.
- Ferguson, D. J., and W. Chalupa. 1989. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 746-766.

- Fonseca, F. A., J. H. Britt, B. S. McDaniel, J. W. Wilk, and A. H. Rakes. 1983. Reproductive traits of Holstein and Jersey. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrous, conception rates and days open. *J. Dairy Sci.* 66: 1128-1147.
- Fricke, P. M., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 1275-1284.
- Fricke, P. M., and M. C. Willtbank. 1999. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology* 52: 1133-1143.
- Fricke, P. M. 2000. Aplicaciones Prácticas del Ultrasonido para el Manejo Reproductivo en Ganado Lechero. <http://www.wisc.edu/dysci/omex/rep-phys/pubs/ultrasound502spanish.pdf>. (Revisado el 27 de enero del 2006).
- Forar, A. L., J. M. Gay, and D. D. Hancock. 1995. The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 43: 989-1000.
- Fortune, J. E. 1993. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility?. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 111-125.
- Fortune, J. E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.* 50: 225-232.
- Furtune, J. E., G. M. Rivera, A. C. O. Evans, and A. M. Turzillo. 2000. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 65: 648-654.
- Funston, R. N. 2004. Fat supplementation and reproduction in beef females. *J. Anim. Sci.* 82(E. Suppl.): E154-E161.
- Garrett, J. E., R. D. Geisert, M. T. Zavy, and G. L. Morgan. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fertil.* 84: 437-446.
- Ginther, O. J., L. Knopf, and J. P. Kastelic. 1989a. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.* 87: 223-230.
- Ginther, O. J., L. Knopf, and J. P. Kastelic. 1989b. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 87: 223-230.
- Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, and K. Kot. 1996. Selection of dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55: 1187-1194.

- Griffin, P. G., and O. J. Ginther. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70: 953-972.
- Grings, E. E., R. E. Roffler, and D. P. Deitelhoff. 1991. Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. *J. Dairy Sci.* 74: 2580-2587.
- Gong, J. G., T. A. Bramley, A. R. Peters, and R. Webb. 1995. Effects of chronic treatment with a potent GnRH agonist on peripheral FSH concentrations and ovarian follicle development in heifers. *Biol. Reprod.* 52(Suppl. 1): 160 (Abstract).
- Gordon, I. 1996. Reproducción Controlada del Ganado Vacuno y Búfalos. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 514 p.
- Gröhn, Y. T., and P. J. Rajala-Schultz. 2000. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 605-614.
- Gross, T. S., W. W. Thatcher, P. J. Hansen, J. W. Jonson, and S. D. Helmer. 1988. Presence of an intracellular endometrial inhibitor of prostaglandin synthesis during early pregnancy in the cow. *Prostaglandins* 35: 359-378.
- Gustafsson, H. 1985. Characteristics of embryos from repeat breeder and virgin heifers. *Theriogenology* 23: 487-498.
- Gutiérrez, A. C. 2001. Influencia de la nutrición en la reproducción. *In: Memoria del II Curso Internacional de Fisiología de la Reproducción en Rumiantes.* Colegio de Posgraduado. Montecillos, Estado de México. pp: 155-166.
- Hanlon, D. W., G. M. Jarratt, P. J. Davidson, A. J. Millar, and V. L. Douglas. 2005. The effect of hCG administration five days after insemination on the first service conception rate of anestrous dairy cows. *Theriogenology* 63: 1938-1945.
- Henao, G., y L. E. Trujillo. 2000. Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 13: 108-120.
- Helmer, S. D., and J. H. Britt. 1986. Fertility of dairy cattle treated with human chorionic gonadotropin (hCG) to stimulate progesterone secretion. *Theriogenology* 26: 683-695.
- Helmer, S. D., T. S. Gross, G. R. Newton, P. J. Hansen, and W. W. Thatcher. 1989. Bovine trophoblast protein-1 complex alters endometrial protein and prostaglandin secretion and induces an intracellular inhibitor of prostaglandin synthesis *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 87: 421-430.

- Hernández, C. J., L. Zarco, and T. V. Lima. 1993. Incidence of delayed ovulation in Holstein heifers and its effects on fertility and early luteal function. *Theriogenology* 40: 1073-1081.
- Hernández, L. J. J., J. D. Sikes, C. N. Murphy, A. J. Watson, G. A. Schultz, and R. M. Roberts. 1992. Expression of bovine trophoblast interferon in conceptus derived by in vitro technique. *Biol. Reprod.* 47: 374-380.
- Humblot, P., and M. Thibier. 1981. Effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) treatment during the midluteal phase in repeat breeder cows. *Theriogenology* 16: 375-379.
- Ireland, J. J. 1987. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fertil.* 34: 39-54.
- Johnson, M. H. 1979. Intrinsic and extrinsic factors in preimplantation development. *J. Reprod. Fertil.* 55: 255-265.
- Karsch, F. J., S. M. Moenter, and A. Caraty. 1992. The neuroendocrine signal for ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 329-341.
- Kerbler, T. L., M. M. Buhr, L. T. Jordan, K. E. Leslie, and J. S. Walton. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon- τ synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 47: 703-714.
- Kunkle, W. E., R. S. Sand y D. O. Rae. 1997. Efecto de la condicion corporal en la productividad del ganado bovino para carne. *In: Memorias del Curso Alternativas de Manejo de Bovinos de Carne en Pastoreo.* Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp: 95-108.
- Lajili, H., P. Humblot, and M. Thibier. 1991. Effect of PGF2 alpha treatment on conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after artificial insemination. *Theriogenology* 36: 335-347.
- Lalman, D. L., D. H. Keisler, J. E. Williams, E. J. Scholljagerds, and D. M. Mallett. 1997. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. *J. Anim. Sci.* 75: 2003-2008.
- Larson, S. F., W. R. Butler, and W. B. Currie. 1995. Progesterone supplementation increases pregnancy rates in lactating dairy cattle. *J. Reprod. Fertil.* 15: 63 (Abstract).
- Lean, I. J., J. C. Galland, and J. L. Scott. 1989. Relationship between fertility, peak milk yields and lactational persistency in dairy cows. *Theriogenology* 31: 1093-1103.

- Lewis, G. S., D. W. Caldwell, Jr. C. E. Rexroad, H. H. Dowlen, and J. R. Owen. 1990. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 66-72.
- Linares, T. 1982. Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 4: 189-198.
- Lucy, M. C., J. D. Savio, L. Badinga, R. L. De La Sota, and W. W. Thatcher. 1992a. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- Lucy, M. C., C. R. Staples, W. W. Thatcher, P. S. Erickson, R. M. Cleale, J. L. Firkins, M. R. Murphy, J. H. Clark, and B. O. Brodie. 1992b. Influence of diet composition, dry matter intake, milk production and energy balance on time of postpartum ovulation and fertility in dairy cows. *Anim. Prod.* 54: 323-331.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?. *J. Dairy Sci.* 84: 1277-1293.
- Luna, N. P. y P. G. Serrano. 2004. Comportamiento reproductivo en vacas lecheras repetidoras sometidas a diferentes tratamientos hormonales durante la inseminación artificial. *In: Memorias de la XIV Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Calidos; 7 y 8 de octubre; Mexicali, Baja California, México.* pp: 116-119.
- Macmillan, K. L., V. K. Taufa, and A. M. Day. 1986. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (Buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 11: 1-10.
- Macmillan, K. L., V. K. Taufa, A. M. Day, and A. J. Peterson. 1991. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 43(Suppl): 304 (Abstract).
- Macmillan, K. L., and W. W. Thatcher. 1991. Effects of an agonist of gonadotrophin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 45: 883-889.
- Mann, G. E., G. E. Lamming, and M. D. Fray. 1995. Plasma oestradiol during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 121-131.
- Mann, G. E., G. E. Lamming, and P. A. Fisher. 1998. Progesterone control of embryonic interferon- τ production during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 21: 37 (Abstract).

- Mann, G. E., G. E. Lamming, R. S. Robinson, and D. C. Wathes. 1999. The regulation of interferon- τ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 54(Suppl): 317-328.
- Mann, G. E., and G. E. Lamming. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 269-274.
- Mann G. E., and G. E. Lamming. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121: 175-180.
- Martínez, H. J. M. y R. D. Pichardo. 1999. Efecto de edad en un programa de sincronización de estros en vacas y vaquillas Holstein tratadas con Norgestomet + Prostaglandina $F_{2\alpha}$. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 40 p.
- Mateos, R. A., C. J. Hernández, R. J. S. Morales y T. G. Rodríguez. 2002. Tamaño folicular, progesterona y estradiol plasmáticos en los días 12-14 posinseminación y porcentaje de concepción de vacas Holstein. *Arch. Zootec.* 51: 327-334.
- Maurer, R. R., and S. E. Echternkamp. 1982. Hormonal asynchrony and embrionic development. *Theriogenology* 17: 11-22.
- Morales, R. J. S., G. Santiago y C. J. Hernández. 1998a. Efectividad del uso de GnRH, hCG y la reinseminación como tratamientos de vaca repetidora en la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo. *In: Memorias del XXII Congreso Nacional de Buiatría; 20-25 de julio; Acapulco (Gro), México.* pp: 323-325.
- Morales, R. J. S., C. J. Hernández y G. J. A. Vázquez. 1998b. Efecto del tratamiento con hCG al momento de la inseminación artificial sobre la función del cuerpo lúteo y fertilidad de vacas Holstein repetidoras. *Vet. Méx.* 29: 269-272.
- Morales, R. J. S., C. J. Hernández, T. G. Rodríguez y F. R. Peña. 2000. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas del primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Vet. Méx.* 31: 179-184.
- Morgan, W. F., and I. J. Lean. 1993. Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Aust. Vet. J.* 70: 205-209.
- Murphy, M. G., W. J. Enright, M. A. Crowe, K. McConnell, L. J. Spicer, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 92: 333-338.
- Murphy, B., C. Lindsell, and J. Sirois. 1994. Endogenous inhibitors of follicle development. *Joint FAO-IAEA division*, 1-4.

- Murphy, B. D., N. Gervy, C. T. Ruiz, F. Cote, B. R. Downey, and J. Sirois. 2001. Formation and early development of the corpus luteum in pigs. *Reproduction* 58 (Suppl): 47-63.
- National Research Council. 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6th rev. ed. Washington, DC: Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Nation, D. P., J. Malmo, and G. M. Davis. 2003. Accuracy of bovine pregnancy detection using transrectal ultrasonography at 28 to 35 days after insemination. *Aust. Vet. J.* 81: 63-65.
- Nephew, K. P., K. E. McClure, T. Ott, D. H. Budois, F. W. Bazer, and W. F. Pope. 1991. Relationship between variation in conceptus development and differences in estrous cycle duration of ewes. *Biol. Reprod.* 44: 536-539.
- Nishigai, M., H. Kamomae, T. Tanaka, and Y. Kaneda. 2002. Improvement of pregnancy rate in Japanese black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. *Theriogenology* 58: 1597-1606.
- Opsomer, G., Y. T. Gröhn, J. Hertl, M. Coryn, H. Deluyker, and A. De Kruif. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53: 841-857.
- Paisley, L. G., W. D. Mickelsen, and O. L. Frost. 1978. A survey of the incidence of prenatal mortality in cattle following pregnancy diagnosis by rectal palpation. *Theriogenology* 9: 481 (Abstract).
- Peters, A. R., T. A. Martínez, and A. J. C. Cook. 2000. A meta-analysis of studies of the effect of 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 54: 1317-1326.
- Pierson, R. A., and O. J. Ginther. 1984. Ultrasography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology* 22: 225-233.
- Pieterse, M. C., M. A. Taverne, T. A. Kruip, and A. H. Willemse. 1990. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet. Rec.* 126: 552-554.
- Price, C. A., and R. Webb. 1989. Ovarian response to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 86: 303-308.
- Pritchard, J. Y., F. N. Schrick, and E. K. Inskeep. 1994. Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. *Theriogenology* 42: 247-259.
- Pryce, J. E., and P. Løvendahl. 1999. Options to reduce vulnerability to metabolic stress by genetic selection. Pages 119–128 *in* *Metabolic Stress in Dairy Cows*. J. D.

- Oldham, G. Simm, A. F. Groen, B. L. Nielsen, J. E. Pryce, and T.L.J. Lawrence, eds. Br. Soc. Anim. Sci. Occasional Publ. 24.
- Pursley J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80: 301-306.
- Rabiee, A. R., D. Dalley, J. M. Borman, K. L. Macmillan, and F. Schwarzenberger. 2001a. Progesterone clearance rate in lactating dairy cows with two levels of dry matter and metabolisable energy intakes. *Anim. Reprod. Sci.* 72: 11-25.
- Rabiee, A. R., K. L. Macmillan, F. Schwarzenberger, and P. J. Wright. 2001b. Effects of level of feeding and progesterone dose on plasma and fecal progesterone in ovariectomised cows. *Anim. Reprod. Sci.* 73: 185-195.
- Rajakoski, E. 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Acta Endocrinol.* 34(Suppl. 52): 1-68.
- Rajamahendran, R., and P. C. Sianangama. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J. Reprod. Fertil.* 95: 577-584.
- Rajamahendran, R., and C. Taylor. 1990. Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim. Reprod. Sci.* 22: 171-180.
- Rajamahendran, R., J. D. Ambrose, E. J. P. Schmitt, M. J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 1998. Effects of Buserelin injection and Dersorelin (GnRH-agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows. *Theriogenology* 50: 1141-1155.
- Reynolds, C. K., and D. E. Beever. 1995. Energy requirements and responses: a UK perspective. Pages 31-34 in *Breeding and feeding the High Genetic Merit Dairy Cow*. T.L.J. Lawrence, F.J. Gordon and A. Carson, eds. Br. Soc. Anim. Sci. Occasional Publ. No. 19.
- Richards, J. S., D. L. Russell, S. Ochsner, M. Hsieh, K. H. Doyle, A. E. Falender, Y. K. Lo, and S. C. Sharma. 2002. Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation and luteinization. *Recent. Prog. Horm. Res.* 57: 195-220.
- Ríos, P. R. y O. J. Salazar. 1997. Efecto de edad del animal sobre la respuesta a un programa de sincronización de estros en ganado Holstein utilizando Crestar®. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 47 p.

- Roberts, R. M., and F. W. Bazer. 1988. The functions of uterine secretions. *J. Reprod. Fertil.* 82: 875-892.
- Roberts, R. M., S. W. Klemann, D. W. Leaman, J. A. Bixby, J. C. Cross, C. E. Farin, K. Imakawa, and T. R. Hansen. 1991. The polypeptides and genes for ovine and bovine trophoblast protein-1. *J. Reprod. Fertil.* 43(Suppl.): 3-12.
- Roberts, R. M., J. C. Cross, and D. W. Leman. 1992. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr. Rev.* 13: 432-452.
- Robinson, N. A., K. E. Leslie, and J. S. Walton. 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72: 202-207.
- Roche, J. F., M. A. Crowe, and M. P. Boland. 1992. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 371-378.
- Rodríguez, G. O. 1995. Efecto de edad de las donadoras y receptoras en un programa de transferencia de embriones en ganado bovino. Tesis de Maestría. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 91 p.
- Rodriguez, T. G., R. S. Morales, C. A. Parra y C. J. Hernandez. 1997. Efecto de la administración de gonadotropina corionica humana (hCG) en el día 12 o 13 postinseminación sobre el porcentaje de concepción de vacas Holstein de tres o más servicios. *In: Memorias del Congreso Nacional de Buiatría, del 9-12 de junio; Colima (Col), México.* pp: 331-333.
- Romero, M. C. 2002. Efecto de edad y tipo de semen en la fertilidad de vacas F1 (Cebú por Pardo Suizo). Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 60 p.
- Rosenberg, M., S. Y. Chun, M. Kaim, Z. Herz, and Y. Folman. 1991. The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 24: 13-24.
- Roth, Z., R. Meidan, R. Braw-Tal, and D. Wolfenson. 2000. Immediate and delayed effect of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cow. *J. Reprod. Fertil.* 120: 83-90.
- Royal, M., G. E. Mann, and A. P. F. Flint. 2000a. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet. J.* 160: 53-60.
- Royal, M. D., A. O. Darwash, A. P. F. Flint, R. Webb, J. A. Wooliams, and G. E. Lamming. 2000b. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* 70: 487-501.

- Rusbridge, S. M., T. A. Bramley, and R. Webb. 1992. A comparison of GnRH-induced corpora lutea and spontaneously formed CL in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 9: 33 (Abstract).
- Ryan, D. P., E. Kopel, M. P. Boland, and R. A. Godke. 1991. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Theriogenology* 36: 367-377.
- Ryan, D. P., R. A. Spoon, and G. L. Williams. 1992. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle-stimulating-hormone. *J. Anim. Sci.* 70: 3505-3513.
- Sangsritavong, S., D. K. Combs, R. Sartori, L. E. Armentano, and M. C. Wiltbank. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85: 2831-2842.
- Santos, J. E. P., W. W. Thatcher, L. Pool, and M. W. Overton. 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79: 2881-2894.
- Santos, J. P. E., S. O. Juchem, R. L. A. Cerri y K. N. Galvao. 2002. Manejo reproductivo: Uso coordinado de bST y estrategias alimenticias potenciales para mejorar la eficiencia reproductiva en ganado lechero. *In: Memorias DIGAL Chihuahua, México.* pp: 83-96.
- Sasser, R. G., R. T. Williams, R. C. Bull, C. A. Runder, and D. G. Falk. 1988. Postpartum reproductive performance in crude protein restricted beef cows return to oestrous and conception. *J. Anim. Sci.* 65: 31-42.
- Savio, J. D., L. Keena, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 83: 663-671.
- Savio, J. D., M. P. Boland, N. Hynes, and J. F. Roche. 1990. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88: 569-579.
- Schmitt, E. J. P., T. Diaz, R. L. De la Sota, and W. W. Thatcher. 1993. Differential responses of the luteal phase in cattle following ovulation of the First wave follicle with a GnRH agonist versus hCG. *J. Anim. Sci.* 71(suppl. 1): 212 (Abstract).
- Schmitt, E. J. P., T. Diaz, C. M. Barros, R. L. De la Sota, M. Drost, E. W. Fredriksson, C. R. Staples, R. Thorner, and W. W. Thatcher. 1996a. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 74: 1074-1083.

- Schmitt, E. J. P., C. M. Barros, P. A. Fields, M. J. Fields, T. Diaz, J. M. Kluge, and W. W. Thatcher. 1996b. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 74: 1915-1929.
- Seger, P. L. 1994. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *J. Dairy Sci.* 77: 2745-2753.
- Shaw, D. W. 1999. Use of GnRH to enhance pregnancy rates and shorten the postpartum interestrus interval in dairy cattle. *Theriogenology* 2: 9-10.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 35: 85-96.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran. 1996. Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology* 45: 583-592.
- Silke, V., M. G. Diskin, D. A. Kenny, M. P. Boland, J. F. Mee, and J. M. Sreenan. 2002. Extent pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 71: 1-12.
- Sirois, J., and J. E. Fortune. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39: 308-317.
- Smith, M. W., and J. S. Stevenson. 1995. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alfa and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.* 73: 3743-3751.
- Sreenan, J. M., and M. G. Diskin. 1983. Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *Vet. Rec.* 112: 517-521.
- Starbuck, M. J., R. A. Dailey, and E. K. Inskeep. 2004. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 84: 27-39.
- Staples, C. R., J. M. Burke, and W. W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 856-871.
- Stevenson, J. S., and E. P. Call. 1983. Influence of early estrus, ovulation, and insemination on fertility in postpartum Holstein cows. *Theriogenology* 19: 367-375.

- Stevenson, J. S., E. P. Call, R. K. Scoby, and A. P. Phatak. 1990. Double insemination and GnRH treatment of repeat-breeding cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 1766-1772.
- Stevenson, J. S., and M. O. Mee. 1991. Pregnancy rate of Holstein cows after post-insemination treatment with a progesterone-releasing intra-vaginal device. *J. Dairy Sci.* 74: 3849-3856.
- Stevenson, J. S. 2001. Reproductive management of dairy cows in high milk-producing herds. *J. Dairy Sci.* 84(E suppl): E128-E143.
- Sunderland, S. J., M. A. Crowe, M. P. Boland, J. F. Roche, and J. J. Ireland. 1994. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 101: 547-555.
- Swanson, L. V., and A. J. Young. 1990. Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat-breeder cows when administered at the time of insemination. *Theriogenology* 34: 955-963.
- Taponen, T., M. H. Rodríguez, and T. Katila. 2000. Administration of gonadotropin-releasing hormone during metoestrus in cattle; influence on luteal function and cycle length. *Anim. Reprod. Sci.* 64: 161-169.
- Taya, K., H. Kaneko, T. Takedomi, H. Kishi, and G. Watanabe. 1996. Role of inhibin in the regulation of FSH secretion and folliculogenesis in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 563-570.
- Thatcher, W. W. 1974. Effects of season, climate and temperature on reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 57: 360-368.
- Thatcher, W. W., C. R. Staples, G. Danet-Desnoyers, B. Oldick, and E. P. Schmitt. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Anim. Sci.* 72(Suppl. 3): 16-30.
- Thatcher, W. W., M. D. Meyer, and D. G. Danet. 1995. Maternal recognition of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 49(Suppl): 15-28.
- Thatcher, W. W., M. Binelli, J. Burke, C. R. Staples, J. D. Ambrose, and S. Coelho. 1997. Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. *Theriogenology* 47: 131-140.
- Thatcher, W. W., F. Moreira, J. E. P. Santos, R. C. Mattos, F. L. Lopes, S. M. Pancarci, and C. A. Risco. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55: 75-89.
- Van Cleef, J., M. Drost, and W. W. Thatcher. 1991. Effects of post-insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology* 36: 795-807.

- Villa, G. A., T. L. Hughes, R. S. Emery, L. T. Chapin, and R. L. Fogwell. 1988. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 71: 1063-1072.
- Vanroose, G., A. De Kruif, and A. Van-Soom. 2000. Embryonic mortality-pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 131-143.
- Walton, J. S., G. W. Halbert, N. A. Robinson, and K. E. Leslie. 1990. Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days post-insemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 54: 305-308.
- Wamsley, N. E., P. D. Burns, T. E. Engle, and R. M. Enns. 2003. Effect of fish meal supplementation on endometrial sensitivity to oxytocin in beef heifers having low luteal phase progesterone. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*, 54: 1-4.
- Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, and A. J. McAllister. 2002. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.* 85: 244-251.
- Webb, R., R. G. Gosden, E. E. Telfer, and R. M. Moor. 1999. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. *Anim. Sci.* 68: 257-284.
- Webb, R., J. G. Gong, C. G. Gutiérrez, D. G. Armstrong, and B. K. Campbell. 1995. Control of ovarian function in cattle. *In: Proceedings of the British Society of Animal Science*. Paper 6.
- Whisnant, C. S., S. P. Washburn, and P. W. Farin. 1995. Current concepts in synchronization of estrus and ovulation of dairy cows. <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings/0032.pdf> (Revisado el 27 de enero del 2006).
- Wiebold, J. L. 1998. Embryonic mortality and the uterine environment in first service lactating dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 84: 393-399.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, E. P. Wagner, and R. L. Boman. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.
- Wilmut, I., D. E. Sales, and C. J. Ashworth. 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fertil.* 76: 851-864.
- Wiltbank, M., P. Fricke, S. Sangsritavong, R. Sartori, and O. J. Ginther. 2000. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83: 2998-3007.

- Williams, G. L. 1989. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.* 67: 785-793.
- Williams, G. L., and R. L. Stanko. 1999. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0915.pdf> (Revisado el 27 de enero del 2006).
- Wolfenson, D., Z. Roth, and R. Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat stressed cattle: Basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60: 535-547.

CAPÍTULO III

ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) Y FERTILIDAD DE VACAS HOLSTEIN

Juan Francisco Escalera Martínez, Raymundo Rangel Santos, Raymundo Rodríguez De Lara, José Guadalupe García Muñiz y Carlos Sánchez Del Real

RESUMEN

Con los objetivos de evaluar el efecto de la administración de hCG el día 7 después de la inseminación, en la formación de un cuerpo lúteo accesorio, determinar el nivel de progesterona en plasma y evaluar la fertilidad, se utilizaron 204 vacas Holstein multíparas en lactancia, las cuales se asignaron aleatoriamente a dos tratamientos: T1 (n=102), las vacas recibieron 1 000 UI de hCG y T2 (n=102), las vacas recibieron 2 mL de solución salina. Los días 7 y 14 después del servicio se tomaron muestras de sangre de la vena yugular para determinar el nivel de progesterona en plasma y el día 14 se revisaron los ovarios con un ultrasonido para evaluar la incidencia de cuerpos lúteos accesorios así como su diámetro, perímetro y área. La progesterona se determinó mediante radioinmunoanálisis. El diagnóstico de gestación se determinó por ultrasonido los días 35 y 60 después del servicio, en las vacas que no retornaron a estro en el siguiente ciclo estral. La incidencia de cuerpos lúteos accesorios y el porcentaje de gestación se analizaron mediante regresión logística y el diámetro, perímetro, área y el nivel de progesterona mediante procedimientos de modelos mixtos. El nivel de progesterona en los días 7 y 14 después de la inseminación fue similar ($P>0.05$) entre tratamientos. La incidencia de cuerpos lúteos fue mayor ($P<0.01$) en T1 (76.5%) que en T2 (8.8%). No se encontraron diferencias ($P>0.05$) en el diámetro vertical, perímetro y área de los cuerpos lúteos accesorios entre T1 y T2 (17.1 ± 0.3 vs 17.4 ± 0.8 mm; 65.9 ± 1.3 vs 66.2 ± 3.4 mm; y 299.9 ± 10.9 vs 293.9 ± 29.7 mm², respectivamente) ni en el porcentaje de gestación entre tratamientos el día 35 (53.9 vs 43.1%) y 60 (43.1 vs 35.3%), respectivamente. En conclusión, la administración de hCG el día 7 después de la inseminación induce la formación de cuerpos lúteos accesorios, sin afectar sus características morfológicas, el nivel de progesterona y la fertilidad de vacas Holstein.

Palabras clave: Gonadotropinas, cuerpo lúteo accesorio, porcentaje de gestación, vacas lecheras.

ADMINISTRATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG) AND FERTILITY OF HOLSTEIN COWS

Juan Francisco Escalera Martínez, Raymundo Rangel Santos, Raymundo Rodríguez De Lara, José Guadalupe García Muñiz y Carlos Sánchez Del Real

ABSTRACT

The objectives of this research were to evaluate the effect of hCG administration 7 days after insemination on the induction of accessory corpora lutea, the level of plasma progesterone and the fertility of Holstein cows. Two hundred and four lactating Holstein cows were randomly assigned into two treatments: the cows in T1 (n=102) received 1 000 UI of hCG 7 days after insemination and the cows in T2 (n=102) received 2 mL of saline solution. On days 7 and 14 after insemination, blood samples of the jugular vein were collected to determine the level of plasma progesterone and on day 14 the ovaries were scanned with an ultrasound to evaluate the incidence of accessory corpora lutea and their diameter, perimeter and area. Progesterone was determined using radioimmunoassay. The diagnosis of pregnancy was conducted by ultrasound on days 35 and 60 after insemination in cows that did not return to estrous the following estrous cycle. The incidence of accessory corpora lutea and pregnancy rate were analyzed through multiple logistic regression and the diameter, perimeter and area of the corpora lutea and the level of progesterone through mixed models procedures. The level of progesterone on days 7 and 14 after insemination was similar ($P>0.05$) between treatments. The incidence of accessory corpora lutea was higher ($P<0.01$) in T1 (76.5%) than in T2 (8.8%). There were no differences ($P>0.05$) in the diameter, perimeter and area of the accessory corpora lutea between T1 and T2 (17.1 ± 0.3 vs 17.4 ± 0.8 mm; 65.9 ± 1.3 vs 66.2 ± 3.4 mm; and 299.9 ± 10.9 vs 293.9 ± 29.7 mm², respectively). Similarly, there were no differences ($P>0.05$) in pregnancy rate between treatments on day 35 (53.9 vs 43.1%) and 60 (43.1 vs 35.3%), respectively. In conclusion, the administration of hCG 7 days after insemination induces the formation of accessory corpora lutea, without affecting their morphological characteristics, the level of progesterone and the fertility of Holstein cows.

Key Words: Gonadotropins, accessory corpus luteum, pregnancy rate, dairy cows.

INTRODUCCIÓN

La producción lechera ha experimentado un desarrollo creciente en los últimos años por vaca y por año debido a las mejoras conseguidas en la formulación de raciones, el manejo de la alimentación y en la calidad genética de los hatos. Desafortunadamente estos avances se han visto parcialmente eclipsados por un descenso en los parámetros reproductivos (Martínez y Sánchez, 1999). La baja fertilidad es uno de los problemas reproductivos más importantes de las vacas lecheras. Actualmente el porcentaje de concepción al primer servicio difícilmente supera 35% (Hernández y Morales, 2001) y en algunos casos no alcanza el 30% (Aréchiga *et al.*, 1994).

Mann *et al.* (1999) observaron que altas concentraciones de progesterona tienen un efecto favorable en el desarrollo embrionario temprano, mientras que bajas concentraciones estuvieron asociadas con embriones pequeños. Sin embargo, Hernández y Morales (2001) señalan que la muerte embrionaria representa la principal causa de falla en la concepción. La etiología de la muerte embrionaria es diversa, no obstante se ha señalado que las anormalidades en el cuerpo lúteo son una causa importante. Las vacas que presentan fallas en el mantenimiento de su gestación suelen tener menores concentraciones de progesterona al inicio y mitad de la fase luteal causando grandes pérdidas en reproducción. Mann y Lamming (1999) señalaron que las anormalidades en la función del cuerpo lúteo son una causa importante de la falla en la concepción. Las medidas para corregir estas fallas reproductivas han incluido la administración de progesterona exógena (Robinson *et al.*, 1989), gonadotropina coriónica humana (hCG) (Breuel *et al.*, 1990) y factores liberadores de gonadotropinas (GnRH) (Lewis *et al.*, 1990).

La mayoría de las vacas experimentan dos o tres ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral; el primer folículo dominante se presenta a partir del día cinco después del celo y es capaz de responder al estímulo de un pico preovulatorio de LH (Roche, 1996). La administración de hCG durante la fase luteal temprana (días 5 a 7) induce la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y la formación de un cuerpo lúteo accesorio e incrementa los niveles de progesterona (Schmitt *et al.*, 1996a,b) y el porcentaje de concepción tanto en vacas repetidoras como en vacas no repetidoras (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Thatcher *et al.*, 2001).

En consideración a lo anterior el objetivo fue evaluar el efecto de la administración de hCG en la formación de un cuerpo lúteo accesorio, la concentración de progesterona en plasma sanguíneo y la fertilidad de vacas Holstein.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y clima

La investigación se realizó en la Granja Experimental del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, la cual se localiza a 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, con una altitud de 2250 m, con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, el más seco de los subhúmedos, con un porcentaje de lluvias invernales menor al 5% del total anual, con poca oscilación de temperaturas medias mensuales, siendo mayo el mes más caliente y enero el mes más frío, con una diferencia de temperatura entre el mes más caliente y el más frío de 6.1 °C y una precipitación media anual de 636.5 mm, caracterizando al clima del área la siguiente simbología

$Cb(w_0)(w)(i')g$, de acuerdo con las modificaciones de García (1988), al sistema de clasificación climática de Köppen.

Animales, alimentación y manejo

En la investigación se utilizaron 204 vacas Holstein lactantes con diferente número de parto (1 a 8) y con un peso promedio de 600 kg, las cuales se manejaron en confinamiento total. Las vacas fueron alimentadas con una dieta con base en alfalfa fresca, heno de alfalfa, ensilado de maíz y un concentrado comercial con 16% de proteína cruda y 2.7 Mcal de EM/kg de MS, además se les proporcionó agua limpia y una premezcla mineral comercial *ad libitum*. Las vacas se ordeñaron dos veces al día entre las 5:30 y 7:00 a.m. y las 3:00 y 5:00 p.m., el proceso de la ordeña comprendió el lavado de la ubre, la limpieza de los pezones con toallas, la colocación de las pezoneras y la aplicación de un sellador al finalizar la ordeña de la vaca.

Inseminación artificial

La inseminación de las vacas se realizó 12 horas después de detectado el celo, siguiendo la regla am-pm, es decir, las vacas que presentaron calor en la mañana se inseminaron por la tarde y las que presentaron calor durante la tarde hasta las 12:00 de la noche, se inseminaron al día siguiente por la mañana. La inseminación se realizó mediante la técnica recto-vaginal con un aplicador de acero inoxidable, se utilizaron pajillas de 0.5 mL de semen comercial con una concentración de 20×10^6 espermatozoides por pajilla, provenientes de sementales de fertilidad conocida. El sitio de depósito del semen fue en el cuerpo del útero.

Tratamientos

El día 7 después de la inseminación artificial se revisaron los ovarios mediante ultrasonografía y las vacas se asignaron aleatoriamente a dos tratamientos: T1, 102 vacas que recibieron 1000 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) (Chorulon, Intervet); y T2, 102 vacas que recibieron 2 mL de solución salina. En ambos casos la administración se realizó por vía intramuscular y todas las vacas recibieron el mismo manejo.

El día 7 después de la inseminación se realizó una revisión minuciosa de los ovarios mediante la utilización de un equipo de ultrasonografía (Sonovet 600, Medison, U.S.A.) y un transductor de 7.5 MHz para determinar la presencia y características tales como distancia vertical, horizontal, perímetro y área del cuerpo lúteo espontáneo (aquel que se forma después de que la vaca entra en celo y ovula); además se determinó el folículo de mayor tamaño en ese momento y se registró su distancia vertical y horizontal. Posteriormente, el día 14 después del servicio se realizó una segunda revisión de los ovarios, en la cual se realizaron las mediciones anteriores y se inspeccionó para determinar la presencia o ausencia de un segundo cuerpo lúteo (cuerpo lúteo accesorio) así como sus características (distancia vertical, horizontal, perímetro y área) en respuesta a la administración de hCG.

Colección de sangre

Los días 7 y 14 después de la inseminación artificial, se colectaron muestras de sangre en tubos vacutainer de 10 mL sin anticoagulante por punción de la vena yugular para determinar los niveles de progesterona en sangre en vacas de ambos grupos;

posteriormente las muestras fueron trasladadas al laboratorio en donde se realizó la obtención del plasma mediante la utilización de una centrífuga, en la cual se colocaron las muestras por 25 minutos a 2 500 r.p.m. El suero obtenido e identificado, se congeló y almacenó a -20 °C hasta su análisis para la determinación de progesterona.

Determinación de progesterona

La concentración de progesterona se determinó mediante el procedimiento de radioinmunoanálisis en una fase sólida, el cual ha sido validado para medir progesterona en plasma en bovinos (Rajamahendran y Taylor, 1990).

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó a todas las vacas que no retornaron en celo 21 días después del servicio, mediante la utilización de un equipo de ultrasonografía (Sonovet 600, Medison, U.S.A) 35 y 60 días posteriores a la inseminación.

Condición corporal

La condición corporal se registró para cada vaca el día 7 después de la inseminación artificial. Se utilizó la técnica descrita por Edmondson *et al.* (1989), la cual utiliza una escala de 1 a 5 puntos con aproximaciones de 0.25 puntos.

Variables de respuesta

Diámetro del folículo, y del cuerpo lúteo espontáneo y accesorio

La determinación del diámetro del folículo y del cuerpo lúteo espontáneo se efectuó los días 7 y 14 después del servicio, y el diámetro del cuerpo lúteo accesorio se determinó

únicamente el día 14 posinseminación. Todas las determinaciones se realizaron mediante la utilización de un equipo de ultrasonido (Sonovet 600, Medison, U.S.A.) con un transductor de 7.5 MHz. Las medidas se realizaron cuando en la pantalla del ultrasonido se observó el folículo o el cuerpo lúteo espontáneo y/o accesorio, en ese momento se fijó la imagen para medir su diámetro.

Gestación a 35 y 60 días posinseminación

El porcentaje de gestación a los 35 y 60 días posinseminación se determinó tomando en cuenta el número de vacas con diagnóstico de gestación positivo en relación con el número de vacas inseminadas.

Concentración de progesterona

La concentración de progesterona se obtuvo del análisis realizado en el laboratorio de las muestras de suero sanguíneo.

Análisis estadístico

Las variables discretas generadas fueron: la incidencia de cuerpos lúteos accesorios (1 = presencia, 0 = ausencia) y la ocurrencia de gestación (1 = gestante, 0 = vacía) a los 35 y 60 días posinseminación. Estas variables se analizaron a través de regresión logística múltiple utilizando el procedimiento LOGISTIC de SAS (SAS, 2001).

La probabilidad de presencia de cuerpos lúteos accesorios o de que la vaca quedará gestante a los 35 ó 60 días posinseminación se modeló con la siguiente expresión:

$$P_i = \text{Prob}(y_i = y_1 | x_1, \dots, x_3) = \frac{1}{1 + \exp\left[-\left(\beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i\right)\right]}$$

Donde:

$P_i = \text{Prob}(y_i = y_1 | x_1, \dots, x_3)$ es la probabilidad de que la variable de respuesta siendo modelada asuma el valor de 1 (ocurrencia del evento); y_1 es el primer valor ordenado de la variable de respuesta

β_0 = un intercepto

β_i 's = los coeficientes de regresión asociados con las variables independientes (x_i)

x_i = variables independientes (x_1 = tratamiento, x_2 = número de parto, x_3 = época de servicio)

Las variables continuas generadas como el diámetro, perímetro y área de los cuerpos lúteos espontáneos y accesorios y el nivel de progesterona en plasma se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2001).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + T_i + V_j + ES_k + NP_l + NS_m + b(\text{CCD7} - \mu_{\text{CCD7}}) + \varepsilon_{ijklmn}$$

Donde:

Y_{ijklm} = es el valor de variable de respuesta siendo modelada

μ = es la media general

T_i = es el efecto fijo del i-ésimo tratamiento (i = con hCG, sin hCG)

V_j = es el efecto aleatorio de la j-ésima vaca ($j = 1, \dots, 204$) $\sim \text{NI}(0, \sigma_v^2)$

ES_k = es el efecto fijo de la k-ésima época de servicio de la vaca (k = primavera, verano, otoño, invierno)

NP_l = es el efecto fijo del l-ésimo número de parto de la vaca ($l = 1, 2, 3+$)

NS_m = es el efecto fijo del m-ésimo número de servicio de la vaca ($1, 2, 3+$)

$CCD7$ = es la calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación como covariable

b = es el coeficiente de regresión lineal asociado con la calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación

$\hat{\mu}_{CCD7}$ = es la media estimada de la covariable calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación

ε_{ijklmn} = es el error aleatorio $\sim NI(0, \sigma^2_e)$

El número de parto, el número de servicio, la época de servicio y la condición corporal se incluyeron en el modelo estadístico al momento del análisis de los datos, pero no fueron significativos ($P > 0.05$) para todas las variables de respuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de los cuerpos lúteos

La incidencia de cuerpos lúteos accesorios fue mayor ($P < 0.01$) en vacas tratadas con hCG que en vacas control (Cuadro 5). La incidencia de cuerpos lúteos accesorios en vacas tratadas (76.5%) es semejante al 77.8% reportado por Rajamahendran y Sianangama (1992) quienes administraron 1 000 UI de hCG el día 7 posinseminación a vacas Holstein. Sin embargo, Santos *et al.* (2001) reportan 86.2% de cuerpos lúteos

accesorios en vacas de la misma raza, tratadas el día 7 después del servicio con 3 000 UI de hCG; resultados similares fueron reportados por Price y Webb (1989) y Walton *et al.* (1990) después de la aplicación de hCG los días 4 y 7 después del estro en vacas, pero sin referencias del estatus folicular al momento de la administración del tratamiento. Fantini *et al.* (2004b) reportaron una incidencia de cuerpos lúteos accesorios de 96.0% en vacas productoras de carne que recibieron 2 500 UI de hCG el día 7. Por otro lado, la incidencia de cuerpos lúteos accesorios de vacas control (8.8%) es menor al 12.5% reportado por Rajamahendran y Sianangama (1992), y al 23.2% reportado por Santos *et al.* (2001).

Cuadro 5. Incidencia de cuerpos lúteos accesorios (CL accesorio) en vacas Holstein con o sin hCG.

Tratamientos	Número de vacas		% de vacas con CL accesorio
	Total	Con CL accesorio	
hCG	102	78	76.5 ^a
Control	102	9	8.8 ^b

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente (P<0.01).

La alta incidencia de cuerpos lúteos accesorios en vacas tratadas con hCG puede deberse a que los folículos dominantes presentes en el día 7 posinseminación son menos probables de ser atrésicos (Bennett *et al.*, 1989; Taylor y Rajamahendran, 1991) y poseen más receptores para la hormona luteinizante (Bennett *et al.*, 1989).

En otro estudio con vacas Holstein, a las cuales se les administraron 1 000 UI de hCG los días 0 (día de la inseminación) y 14 posinseminación, Rajamahendran y Sianangama (1992) encontraron que la incidencia de cuerpos lúteos accesorios fue 37.5 y 44.4% para

las vacas tratadas el día 0 y 14, respectivamente. McDermott *et al.* (1986) y Price y Webb (1989) reportaron resultados similares en vacas ciclando.

No se encontraron diferencias ($P>0.05$) en el tamaño de los cuerpos lúteos accesorios (diámetro vertical y horizontal, perímetro y área) entre vacas tratadas con hCG y control (Cuadro 6). Sin embargo, Fantini *et al.* (2004b) reportaron que el diámetro del cuerpo lúteo accesorio el día 13 después de la inseminación fue más chico ($P<0.05$) que el cuerpo lúteo espontáneo a la misma edad del grupo tratado. Díaz *et al.* (1998) señalan que el crecimiento del cuerpo lúteo espontáneo y el accesorio no presentan diferencias ($P>0.10$) del día 3 al día 8 después de la ovulación. Estos mismos autores mencionan que el cuerpo lúteo accesorio es más chico ($P<0.01$) que el cuerpo lúteo espontáneo. Por otro lado, Sianangama y Rajamahendran (1996) encontraron que el cuerpo lúteo accesorio inducido en vacas por la administración de hCG el día 7 del ciclo estral es más chico y secreta menos progesterona que el cuerpo lúteo espontáneo a la misma edad. Sin embargo, la formación de un cuerpo lúteo accesorio incrementa la concentración de progesterona en plasma de 4.9 a 9.9 ng/mL del día 8 al día 14 (Breuel *et al.*, 1989; Fricke *et al.*, 1993). Díaz *et al.* (1998) encontraron que las concentraciones de progesterona incrementan de 0.9 ng/mL del día 1 a 6.4 ng/mL al día 6. Por otro lado, Fantini *et al.* (2004b) reportan que las concentraciones de progesterona no difieren ($P>0.05$) al día 7 entre vacas tratadas con hCG y control; sin embargo, observaron un incremento significativo en los días 13 y 24 después de la inseminación en las vacas que recibieron 2 500 UI de hCG.

Cuadro 6. Características del cuerpo lúteo accesorio (CL accesorio) al día 14 después de la inseminación en vacas Holstein con o sin hCG.

Tratamientos	No. de animales	Características del CL accesorio (Media $\pm$ E.E.)			
		Vertical (mm)	Horizontal (mm)	Perímetro (mm)	Área (mm ²)
hCG	78	17.1 $\pm$ 0.3 ^a	21.4 $\pm$ 0.5 ^a	65.9 $\pm$ 1.3 ^a	299.9 $\pm$ 10.9 ^a
Control	9	17.4 $\pm$ 0.8 ^a	20.4 $\pm$ 1.4 ^a	66.2 $\pm$ 3.4 ^a	293.9 $\pm$ 29.7 ^a

Medias con diferente literal en la misma columna difieren significativamente (P<0.05).

Porcentaje de gestación

La formación de un cuerpo lúteo accesorio eleva los niveles de progesterona en plasma, lo cual probablemente aumenta la sobrevivencia del embrión. Mann *et al.* (1999) observaron que altas concentraciones de progesterona tienen un efecto favorable en el desarrollo embrionario temprano, mientras que bajas concentraciones de progesterona fueron asociadas con embriones pequeños. La administración de hCG en vacas durante la fase luteal media ha sido asociada con un incremento entre 7.7 y 18% en la tasa de gestación (Sianangama y Rajamahendran, 1992; Walton *et al.*, 1990). En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) en el porcentaje de gestación entre vacas tratadas con hCG (53.9%; 55/102) y control (43.1%; 44/102) al día 35 posinseminación. Santos *et al.* (2001), reportaron un 45.8% de gestación en vacas lecheras tratadas con 3 300 UI de hCG el día 5 después de la inseminación y 38.0% para el grupo control, mientras que Fantini *et al.* (2004a), obtuvieron 40.6% y 23.3% de gestación para vacas de carne tratadas con 2 500 UI de hCG el día 7 después de la inseminación y controles, respectivamente. Por otro lado, Rajamahendran y Sianangama (1992) reportaron 77.8% de gestación en vacas lecheras tratadas con 1 000 UI de hCG el día 7 posterior al servicio, el cual fue mayor al 53.9% encontrado en el presente estudio y 37.5% para el grupo de vacas control, el cual es menor al 43.1% obtenido en este

estudio. En otro estudio, en el cual vacas lecheras fueron tratadas con 2 500 UI de hCG el día 12 ó 13 después de la inseminación, el porcentaje de gestación fue menor al encontrado en el presente estudio tanto en las vacas tratadas con hCG como en las vacas control (31.0% vs 31.4%, respectivamente) (Rodríguez *et al.*, 1997).

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en el porcentaje de gestación entre vacas tratadas con hCG (43.1%; 44/102) y control (35.3%; 36/102) al día 60 posinseminación. El mayor porcentaje de gestación en las vacas tratadas con hCG puede deberse a un incremento en la síntesis de progesterona. Los resultados de diversos estudios (Rajamahendran y Sianangama, 1992; Sianangama y Rajamahendran, 1992), indican que la administración de hCG los días 7 y 14 después del servicio incrementa los niveles de progesterona en plasma.

El porcentaje de gestación al día 60 posinseminación encontrado en este trabajo para el grupo con hCG y control (43.1% y 35.3%, respectivamente) es menor al 55.0 y 37.0% reportado por Sianangama y Rajamahendran (1992) quienes administraron 1 000 UI de hCG el día 7 posinseminación a vacas lecheras. Santos *et al.* (2001) reportaron que la tasa de concepción fue más alta en vacas que fueron tratadas con 3 300 UI de hCG el día 5 después de la inseminación que en el grupo control, en los días 45 (40.4>36.3%) y 90 (38.4>31.9%) después de la inseminación. La tasa de concepción al día 60 posinseminación en el presente estudio también fue más alta en vacas tratadas con 1 000 UI de hCG el día 7 después del servicio que en el grupo control (43.1>35.3%).

El porcentaje de pérdida de gestación entre los días 35 y 60 después de la inseminación, encontrado en el presente estudio fue de 10.8% para las vacas tratadas y de 7.8% para las del grupo control, el cual es menor al reportado en los estudios de Mee *et al.* (1994), Fricke *et al.* (1998) y Vasconcelos *et al.* (1997), quienes mencionan que las vacas con gestación positiva confirmada el día 28 después de la inseminación, experimentaron una pérdida de gestación de 14 a 16% al día 56 posinseminación. En este sentido, la tasa de concepción a los 28 a 32 días posinseminación en vacas lecheras en producción varía del 40 al 47% (Fricke *et al.*, 1998; Pursley *et al.*, 1997) mientras que la tasa de concepción en vaquillas lecheras llega casi al 75% (Pursley *et al.*, 1997). De la misma manera, la pérdida de la preñez en vacas lecheras en producción es mayor que en las vaquillas (20% vs 5%; Smith y Stevenson, 1995).

Con el propósito de conocer si existen diferencias estadísticas en el porcentaje de gestación entre vacas que formaron un cuerpo lúteo accesorio y las que no lo hicieron, se realizó un análisis de los datos únicamente para el grupo de vacas tratadas con hCG. El análisis de vacas tratadas con hCG no mostró diferencias ($P>0.05$) en el porcentaje de gestación de vacas con y sin cuerpo lúteo accesorio (56.4 y 45.8%, respectivamente) (Cuadro 7). El porcentaje de gestación (56.4%) para vacas con cuerpo lúteo accesorio es mayor al reportado por Santos *et al.* (2001), quienes encontraron 46.3% de gestación en las vacas con más de un cuerpo lúteo (espontáneo y accesorio) y un porcentaje de 4.0% en vacas con un solo cuerpo lúteo (espontáneo), mientras que en este trabajo se reporta un 45.8% de gestaciones en vacas que no formaron un cuerpo lúteo accesorio. Sin embargo, la aparente superioridad de las vacas con cuerpo lúteo accesorio podría deberse a una mayor producción de progesterona. Se ha reportado que la administración

de hCG en los días 4 a 7 posinseminación (Fricke *et al.*, 1993; Price y Webb, 1989; Schmitt *et al.*, 1996a,b; Sianangama y Rajamahendran, 1996) ó 14 a 16 (Price y Webb, 1989) induce la formación de un cuerpo lúteo accesorio. El cuerpo lúteo adicional incrementa las concentraciones de progesterona en plasma (Breuel *et al.*, 1989; Fricke *et al.*, 1993; Schmitt *et al.*, 1996a,b). El incremento en la síntesis de progesterona podría ser resultado del crecimiento de las células lúteas del cuerpo lúteo espontáneo (Helmer y Britt, 1986) y de la formación de un cuerpo lúteo accesorio.

Cuadro 7. Porcentaje de gestación de vacas Holstein tratadas con hCG a los 35 días posinseminación con y sin cuerpo lúteo accesorio.

Tratamientos	Número de vacas		% de gestación
	Total	Gestantes	
Con CL Acc	78	44	56.4 ^a
Sin CL Acc	24	11	45.8 ^a

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$).

CL Acc = Cuerpo lúteo accesorio

Concentración de progesterona

La concentración de progesterona en plasma en las vacas que recibieron hCG fue similar ($P > 0.05$) a la de las vacas del grupo control (Cuadro 8). Los resultados son similares a los obtenidos por Sianangama y Rajamahendran (1996) quienes reportan que la concentración media de progesterona entre el grupo de vacas que recibieron 1 000 UI de hCG el día 7 después el servicio y el grupo de vacas control fue similar ($P > 0.05$) hasta el día 16 y de allí en adelante se observó una rápida disminución de progesterona en el grupo tratado. En otro estudio (Sianangama y Rajamahendran, 1992), en el cual se administró hCG los días 0, 7 y 14 posinseminación a vacas Holstein, se observó un incremento significativo en las concentraciones de progesterona del día 18 al día 42 en

las vacas tratadas en los días 7 y 14 después del servicio, en comparación con las vacas tratadas el día 0 y controles.

Las concentraciones de progesterona obtenidas en este estudio son similares a las reportadas por Morales *et al.* (1998) quienes no encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) durante los primeros 16 días posinseminación entre el grupo tratado con 2 500 UI de hCG el día de la inseminación y el grupo control, al utilizar vacas Holstein con más de tres servicios (vacas repetidoras). Por su parte, Sianangama y Rajamahendran (1992) también reportan resultados semejantes a los obtenidos en este estudio, en vacas de primer servicio tratadas con 1 000 UI de hCG el día de la inseminación. Morales *et al.* (1998) concluyen que el tratamiento con hCG al momento de la inseminación no mejora la función del cuerpo lúteo. Otros estudios (Helmer *et al.*, 1986; Sianangama y Rajamahendran, 1992) reportan un incremento en la concentración de progesterona cuando el tratamiento con hCG se aplica durante el metaestro y el diestro.

Cuadro 8. Niveles de progesterona (P_4) en plasma al día 7 y 14 posinseminación en vacas Holstein con o sin hCG.

Tratamiento	Número de animales	Concentración de P_4 (ng/mL)	
		Día 7	Día 14
hCG	19	2.53±0.7	5.42±0.50 ^a
Control	20	2.53±0.9	5.24±0.49 ^a

Medias con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P<0.05$).

Con el propósito de conocer si existen diferencias estadísticas en el nivel de progesterona entre las vacas con diagnóstico de gestación positivo y negativo, se realizó un análisis de estos datos. En el análisis de la concentración de progesterona en plasma entre vacas con diagnóstico de gestación positivo y negativo no se encontraron

diferencias significativas ($P>0.05$) en los días 7 y 14 después de la inseminación entre ambos grupos (Cuadro 9). Sianangama y Rajamahendran (1992) reportan que las concentraciones de progesterona en leche de vacas tratadas con hCG el día 7 (17.4 ± 1.2 ng/mL) fueron significativamente mayores el día 16 comparadas con la concentración de progesterona de vacas tratadas el día 0 (8.0 ± 1.4 ng/mL) o el día 14 después de la inseminación (11.2 ± 1.3 ng/mL) o del grupo control (2.4 ± 1.4 ng/mL). Estos mismos autores no reportaron concentraciones de progesterona para vacas gestantes y vacías, sin embargo, sí reportaron el porcentaje de gestación para el día 60 posinseminación y se observa que las vacas tratadas el día 7 presentaron mayor porcentaje de gestación (62%) comparado con el porcentaje de gestación de las vacas tratadas los días 0 (47%) y 14 (55%), lo cual sugiere que el mayor porcentaje de gestación se debió a la mayor concentración de progesterona.

Cuadro 9. Niveles de progesterona (P_4) en plasma al día 7 y 14 posinseminación en vacas Holstein con diagnóstico de gestación positivo o negativo.

Diagnóstico de gestación	Número de animales	Concentración de P_4 (ng/mL)	
		Día 7	Día 14
Positivo	20	2.53 ± 0.7	5.61 ± 0.88^a
Negativo	19	2.53 ± 0.9	5.06 ± 1.01^a

Medias con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P<0.05$).

En otro estudio, Walton *et al.* (1990) encontraron un porcentaje de gestación para vacas tratadas con 1 500 UI de hCG el día 5 posinseminación de 47.2% y 39.5% para vacas control, no siendo diferentes ($P>0.05$) y reportan las siguientes concentraciones de progesterona en leche los días 5 (1.4 ± 0.3 vs 0.9 ± 0.1 ng/mL), 14 (4.3 ± 0.5 vs 3.2 ± 0.3 ng/mL) y 20 (4.1 ± 0.6 vs 2.9 ± 0.3 ng/mL) para el grupo tratado y control respectivamente.

CONCLUSIONES

La administración de gonadotropina coriónica humana a vacas Holstein multíparas el día 7 después de la inseminación indujo la formación de cuerpos lúteos accesorios, sin afectar sus características morfológicas; no incrementó las concentraciones de progesterona en plasma; y no afectó el porcentaje de gestación al día 35 y 60 después de la inseminación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad Autónoma Chapingo y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por las facilidades otorgadas y el apoyo económico brindado durante los estudios de maestría del primer autor.

LITERATURA CITADA

- Aréchiga, C. F., O. Ortiz, and P. J. Hansen. 1994. Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology* 41: 251-1258.
- Bennett, W. A., L. V. Gonzalez, M. J. Stuart, and J. W. Fuquay. 1989. Effects of human chorionic gonadotropin pretreatment on endocrine, cytological and prostaglandin F_{2α} receptor patterns of the bovine corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.* 19: 179-189.
- Breuel, K. F., J. C. Spitzer, and D. M. Henricks. 1989. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 67: 1564-1572.
- Breuel, K. F., J. C. Spitzer, C. E. Thompson, and J. F. Breuel. 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 34: 139-145.
- Díaz, T., E. J. P. Schmitt, R. L. De la Sota, M. J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.* 76: 1929-1936.
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68-78.
- Fantini, F. J. C., L. E. Kozicki, and F. P. Souza. 2004a. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on estrous cycle length and pregnancy rates in cattle. *Arch. Vet. Sci.* 9: 55-59.
- Fantini, F. J. C., L. E. Kozicki, and F. P. Souza. 2004b. Induction of accessory corpus luteum by human chorionic gonadotropin (hCG) and the relationship with progesterone concentrations in cattle. *Arch. Vet. Sci.* 9: 115-120.
- Fricke, P. M., L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 1993. Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.* 71: 1242-1246.
- Fricke, P. M., J. N. Guenther, and M. C. Wiltbank. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 1275-1284.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 246 p.

- Helmer, S. D., and J. H. Britt. 1986. Fertility of dairy cattle treated with human chorionic gonadotropin (hCG) to stimulate progesterone secretion. *Theriogenology* 26: 683-695.
- Hernández, C. J. y R. J. S. Morales. 2001. Falla en la concepción en el ganado lechero: Evaluación de terapias hormonales. *Vet. Méx.* 32: 279-287.
- Lewis, G. S., D. W. Caldwell, J. C. E. Rexroad, H. H. Dowlen, and J. R. Owen. 1990. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 66-72.
- Mann, G. E., G. E. Lamming, R. S. Robinson, and D. C. Wathes. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 54: 317-328.
- Mann, G. E., and G. E. Lamming. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 269-274.
- Martínez, M. A. L. y C. J. F. Sánchez. 1999. Alimentación y reproducción en vacas lecheras. <http://www.eumedia.es/articulos/mg/111vacaslecheras.html>. (Revisado el 13 de febrero del 2006).
- McDermott, J. M., W. W. Thatcher, M. Drost, M. J. Martin, and D. J. Putney. 1986. Effect of hCG on cycle, response to PGF_{2α} and pregnancy rate in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 63(Suppl. 1): 354 (Abstract).
- Mee, J. F., D. P. Ryan, and T. Condon. 1994. Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.* 34: 532 (Abstract).
- Morales, R. J. S., C. J. Hernández y G. J. A. Vázquez. 1998. Efecto del tratamiento con hCG al momento de la inseminación artificial sobre la función del cuerpo lúteo y fertilidad de vacas Holstein repetidoras. *Vet. Méx.* 3: 269-272.
- Price, C. A., and R. Webb. 1989. Ovarian response to hCG treatment during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 86: 303-308.
- Pursley, J. R., M. R. Kosorok, and M. C. Wiltbank. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80: 301-306.
- Rajamahendran, R., and C. Taylor. 1990. Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim. Reprod. Sci.* 22: 171-180.
- Rajamahendran, R., and P. C. Sianangama. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora

- lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J. Reprod. Fertil.* 95: 577-584.
- Robinson, N. A., K. E. Leslie, and J. S. Walton. 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72: 202-207.
- Roche, J. F. 1996. Control and regulation of folliculogenesis – a symposium in perspective. *Rev. Reprod.* 1: 19-27.
- Rodríguez, T. G., R. S. Morales, C. A. Parra y C. J. Hernández. 1997. Efecto de la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en el día 12 ó 13 postinsenimación sobre el porcentaje de concepción en vacas Holstein de tres o más servicios. *In: Memoria del XXII Congreso Nacional de Buiatría.* pp: 331-333.
- Santos, J. E. P., W. W. Thatcher, L. Pool, and M. W. Overton. 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79: 2881-2894.
- SAS. 2001. SAS/STAT Users guide (release). SAS Inst. Inc., Cary, N.C.
- Schmitt, E. J. P., C. M. Barros, P. A. Fields, M. J. Fields, T. Diaz, J. M. Kluge, and W. W. Thatcher. 1996a. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 74: 1915-1929.
- Schmitt, E. J. P., T. Diaz, C. M. Barros, R. L. De la Sota, M. Drost, E. W. Fredriksson, C. R. Staples, R. Thorner, and W. W. Thatcher. 1996b. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 74: 1074-1083.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran, 1992. Effect de human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 38: 85-96.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran. 1996. Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology* 45: 583-592.
- Smith, M. W., and J. S. Stevenson. 1995. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.* 73: 3743-3751.

- Taylor, C., and R. Rajamahendran. 1991. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 61-68.
- Thatcher, W. W., F. Moreira, J. E. P. Santos, R. C. Mattos, F. L. Lopes, S. M. Pancarci, and C. A. Risco. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55: 75-89.
- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, J. A. Lacerda, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1997. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 56(Suppl. 1): 140 (Abstract).
- Walton, J. S., G. W. Halbert, N. A. Robinson, and K. E. Leslie. 1990. Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days post-insemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can. J. Vet. Sci.* 54: 305-308.

CAPÍTULO IV

ADMINISTRACIÓN DE GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (hCG) Y FERTILIDAD DE VAQUILLAS HOLSTEIN

Juan Francisco Escalera Martínez, Raymundo Rangel Santos, Raymundo Rodríguez De Lara, José Guadalupe García Muñiz y Carlos Sánchez Del Real

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de la administración de hCG el día 7 después de la inseminación en la formación de cuerpos lúteos accesorios y la fertilidad, se utilizaron 44 vaquillas Holstein, las cuales se asignaron aleatoriamente a dos tratamientos: T1, 24 vaquillas que recibieron 1 000 UI de hCG el día 7 después de la inseminación y T2, 20 vaquillas que recibieron de 2 mL de solución salina el mismo día, en ambos casos por vía intramuscular. Las vaquillas fueron alimentadas con una dieta con base en alfalfa fresca, heno de alfalfa, ensilado de maíz y un concentrado comercial con 16% PC y 2.7 Mcal de EM/kg de MS, así como agua y una premezcla mineral *ad libitum*. El día 14 se evaluó la incidencia de cuerpos lúteos accesorios y se determinó su diámetro, perímetro y área. El diagnóstico de gestación se realizó los días 35 y 60 posinseminación. La incidencia de cuerpos lúteos accesorios y el porcentaje de gestación se analizaron a través de regresión logística múltiple y las características de los cuerpos lúteos mediante procedimientos de modelos mixtos. La incidencia de cuerpos lúteos fue mayor ($P<0.01$) en T1 (83.3%) que en T2 (0%). No se encontraron diferencias ($P>0.05$) en el tamaño del cuerpo lúteo espontáneo entre tratamientos el día 7, en el porcentaje de gestación entre T1 y T2 a los 35 (75.0 vs 90%) y 60 (75.0 vs 80.0%) días después del servicio, ni entre vaquillas con y sin cuerpo lúteo accesorio (80.0 vs 50.0%) respectivamente. En conclusión, la administración de 1 000 UI de hCG el día 7 después de la inseminación induce la formación de cuerpos lúteos accesorios en vaquillas Holstein, sin afectar su fertilidad.

Palabras clave: Hembras nulíparas, gonadotropinas, cuerpo lúteo accesorio, porcentaje de gestación.

ADMINISTRATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG) AND FERTILITY OF HOLSTEIN HEIFERS

Juan Francisco Escalera Martínez, Raymundo Rangel Santos, Raymundo Rodríguez De Lara, José Guadalupe García Muñiz y Carlos Sánchez Del Real

ABSTRACT

With the objective of evaluating the effect of hCG administration on day 7 after insemination on the incidence of accessory corpora lutea and fertility, forty-four Holstein heifers were randomly assigned into two treatments: T1, 24 heifers received 1 000 UI of hCG on day 7 after insemination and T2, 20 heifers received 2 mL of saline solution the same day, in both cases by intramuscular injection. The heifers were fed with fresh alfalfa, alfalfa hay, corn silage and commercial concentrate containing 16% CP and 2.7 Mcal of ME/kg of DM, as well as water and mineral premix *ad libitum*. On day 14, the incidence of accessory corpora lutea was evaluated and its diameter, perimeter and area were determined. The diagnosis of pregnancy was carried out on days 35 and 60 after insemination. The incidence of accessory corpora lutea and pregnancy rate were analyzed through logistic regression and the diameter, perimeter and area of the corpora lutea were analyzed by mixed models procedures. The incidence of accessory corpora lutea was higher ($P<0.01$) in T1 (83.3%) than in T2 (0%). There were no differences ($P>0.05$) in the size of the spontaneous corpus luteum between treatments on day 7, in pregnancy rate between T1 and T2 on days 35 (75.0 vs 90%) and 60 (75.0 vs 80.0%) after the service, and between heifers with and without accessory corpus luteum (80.0 vs 50.0%), respectively. In conclusion, the administration of 1 000 UI of hCG on day 7 after insemination induces the formation of accessory corpora lutea in Holstein heifers, without affecting its fertility.

Key Words: Nuliparous females, gonadotropins, accessory corpus luteum, pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

El establecimiento y mantenimiento de la gestación, así como el crecimiento del embrión en el ganado están relacionados con la habilidad del cuerpo lúteo para secretar progesterona. Una deficiencia en la secreción de esteroides por el cuerpo lúteo podría contribuir con la pérdida del embrión (Thatcher *et al.*, 1994). La suplementación con progesterona durante la fase luteal del ciclo estral podría incrementar el porcentaje de gestación en vacas lecheras (Sianangama y Rajamahendran, 1992). Induciendo la formación de un cuerpo lúteo adicional durante la fase luteal del ciclo estral con gonadotropinas podría ser una estrategia para incrementar las concentraciones de progesterona en plasma durante la fase luteal.

Un aspecto de la dinámica folicular es el proceso del continuo crecimiento y regresión de folículos antrales que conducen el desarrollo del folículo preovulatorio (Lucy *et al.*, 1992). De una a cuatro ondas de crecimiento y desarrollo ocurren durante un solo ciclo estral en bovinos y el folículo preovulatorio es derivado de la última onda. Durante la última onda se desarrollan folículos antrales ≥ 2 mm para continuar a través de los estados de reclutamiento, selección y dominancia folicular (Ginther, 1996; Lucy *et al.*, 1992; Savio *et al.*, 1990). El primer folículo dominante puede identificarse retrospectivamente por ultrasonografía entre el día 2 y 4 del ciclo estral (Ginther, 1996; Savio *et al.*, 1990).

La gonadotropina coriónica humana (hCG) promueve la ovulación del folículo dominante de la primera onda folicular y la formación de un cuerpo lúteo accesorio cuando se administra el día 4 (Breuel *et al.*, 1989), 5 (Schmitt *et al.*, 1996a,b), 6 (Díaz *et*

al., 1998; Fricke *et al.*, 1993), 7 (Rajamahendran y Sianangama, 1992; Sianangama y Rajamahendran, 1992, 1996) o el día 14 a 16 (Price y Webb, 1989) del ciclo estral. El cuerpo lúteo accesorio incrementa las concentraciones de progesterona en plasma (Breuel *et al.*, 1989; Fricke *et al.*, 1993; Schmitt *et al.*, 1996a). Únicamente un estudio caracterizó la dinámica folicular en el ovario durante este periodo (Sianangama y Rajamahendran, 1996). En consideración a lo anterior, el objetivo del presente experimento fue evaluar el efecto de la administración de hCG en la formación de un cuerpo lúteo accesorio y la fertilidad de vaquillas Holstein.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y clima

La investigación se realizó en la Granja Experimental del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, la cual se localiza a 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, con una altitud de 2250 m, con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, el más seco de los subhúmedos, con un porcentaje de lluvias invernales menor al 5% del total anual, con poca oscilación de temperaturas medias mensuales, siendo mayo el mes más caliente y enero el mes más frío, con una diferencia de temperatura entre el mes más caliente y el mes más frío de 6.1 °C y una precipitación media anual de 636.5 mm, caracterizando al clima del área la siguiente simbología Cb(w₀)(w)(i')g, de acuerdo con las modificaciones de García (1988), al sistema de clasificación climática de Köppen.

Animales, alimentación y manejo

En el presente trabajo se utilizaron 44 vaquillas de la raza Holstein con diferente número de servicios (1 a 3) y con una condición corporal entre 3.5 y 4.5, las cuales se manejaron en confinamiento total. Las vaquillas fueron alimentadas con una dieta con base en alfalfa fresca, heno de alfalfa, ensilado de maíz y un concentrado comercial con 16% de proteína cruda (PC) y 2.7 Mcal de EM/kg de MS, además se les proporcionó agua limpia y una premezcla mineral *ad libitum*.

Inseminación artificial

La inseminación se realizó 12 horas después de detectado el celo, siguiendo la regla am-pm, es decir, aquellas hembras que mostraron signos de celo en la mañana se inseminaron por la tarde y las que presentaron celo durante la tarde hasta las 12:00 de la noche, se inseminaron al día siguiente por la mañana. La inseminación se realizó mediante la técnica recto-vaginal con un aplicador de acero inoxidable, se utilizaron pajillas de 0.5 mL de semen comercial con una concentración de 20×10^6 espermatozoides por pajilla provenientes de sementales de fertilidad conocida. El sitio de depósito del semen fue en el cuerpo del útero.

Tratamientos

El día 7 después de la inseminación artificial, las vaquillas se distribuyeron aleatoriamente a los siguientes tratamientos: En el T1, las vaquillas (n=24) recibieron 1 000 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) (Chorulon, Intervet) vía intramuscular; y en el T2, las vaquillas (n=20) recibieron 2 mL de solución salina por la misma vía y todas las vaquillas recibieron el mismo manejo.

El día 7 después de la inseminación se realizó una revisión minuciosa de los ovarios mediante la utilización de un equipo de ultrasonografía (Sonovet 600, Medison, U.S.A.) y un transductor de 7.5 MHz para determinar la presencia y características tales como diámetro vertical, horizontal, perímetro y área del cuerpo lúteo espontáneo (aquel que se forma después de que la vaquilla entra en celo y ovula), además se determinó el folículo de mayor tamaño en ese momento y se registró su distancia vertical y horizontal. Posteriormente el día 14 después del servicio se realizó una segunda revisión de los ovarios, en la cual se determinaron las mismas mediciones anteriores y la presencia o ausencia de un segundo cuerpo lúteo, así como sus características (diámetro vertical y horizontal, perímetro y área) en respuesta a la administración de hCG.

Condición corporal

La condición corporal se registró para cada animal 7 días después del servicio, para lo cual se utilizó la técnica descrita por Edmondson *et al.* (1989), la cual utiliza una escala de 1 a 5 puntos con aproximaciones de 0.25 puntos. La evaluación de la condición corporal para cada vaquilla se realizó por un solo juez. La medida de condición corporal se incluyó en modelo estadístico como una covariable pero no resultó significativa ($P>0.05$) para todas las variables de respuesta.

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó los días 35 y 60 después del servicio, a todas aquellas vaquillas que no mostraron signos de celo 21 días después de la inseminación artificial, mediante la utilización de un equipo de ultrasonografía (Sonovet 600, Medison, U.S.A.).

Variables de respuesta

Diámetro del folículo, y del cuerpo lúteo espontáneo y accesorio

La determinación del diámetro del folículo y del cuerpo lúteo espontáneo se realizó a los días 7 y 14 después del servicio y el diámetro del cuerpo lúteo accesorio se midió únicamente el día 14 posinseminación. Todas las determinaciones se realizaron mediante la utilización de un ultrasonido (Sonovet 600, Medison, U.S.A.) con un transductor de 7.5 MHz. La medida se tomó cuando en la pantalla del ultrasonido se observó el folículo o el cuerpo lúteo espontáneo y/o accesorio, en ese momento se fijó la imagen para medir su diámetro.

Gestación a 35 y 60 días posinseminación

El porcentaje de gestación al los días 35 y 60 se calculó tomando en cuenta el número de vacas con diagnóstico de gestación positivo en estos días, en relación al número de vacas inseminadas.

Análisis estadístico

Las variables discretas generadas fueron: la incidencia de cuerpos lúteos accesorios (1 = presencia, 0 = ausencia) y la ocurrencia de gestación (1 = gestante, 0 = vacía) a los 35 y 60 días posinseminación. Estas variables se analizaron a través de regresión logística múltiple utilizando del procedimiento LOGISTIC de SAS (SAS, 2001).

La probabilidad de presencia de cuerpos lúteos accesorios o de que la vaquilla quedara gestante a los 35 ó 60 días posinseminación se modeló con la siguiente expresión:

$$P_i = \text{Prob}(y_i = y_1 | x_1, \dots, x_3) = \frac{1}{1 + \exp\left[-\left(\beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i\right)\right]}$$

Donde:

$\text{Prob}(y_i = y_1 | x_1, \dots, x_3)$ es la probabilidad de que la variable de respuesta siendo modelada asuma el valor de 1 (ocurrencia del evento); y_1 es el primer valor ordenado de la variable de respuesta

β_0 = un intercepto

β_i 's = los coeficientes de regresión asociados con las variables independientes (x_i)

x_i = variables independientes (x_1 = tratamiento, x_2 = época de servicio x_3 = número de servicios)

Las variables continuas generadas como diámetro, perímetro y área de los cuerpos lúteos espontáneos y accesorios se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2001).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + V_j + ES_k + NS_l + b(\text{CCD7} - \mu_{\text{CCD7}}) + \varepsilon_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijkl} = es el valor de la variable de respuesta siendo modelada

μ = es la media general

T_i = es el efecto fijo del i-ésimo tratamiento (i = con hCG, sin hCG)

V_j = es el efecto aleatorio de la j-ésima vaquilla ($j = 1, \dots, 44$) $\sim \text{NI}(0, \sigma_v^2)$

ES_k = es el efecto fijo de la k-ésima época de servicio de la vaquilla (k = primavera, verano, otoño, invierno)

NS_l = es el efecto fijo del l-ésimo número de servicio de la vaquilla ($l = 1, 2, 3$)

$CCD7$ = es la calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación como covariable

b = es el coeficiente de regresión lineal asociado con la calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación

$\hat{\mu}_{CCD7}$ = es la media estimada de la covariable calificación de la condición corporal al día 7 posinseminación

ε_{ijklm} = es el error aleatorio $\sim NI(0, \sigma^2_e)$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de los cuerpos lúteos

La incidencia de cuerpos lúteos accesorios fue mayor ($P < 0.01$) en las vaquillas tratadas con hCG en comparación con las vaquillas del grupo control (Cuadro 10). La incidencia de cuerpos lúteos accesorios en vaquillas tratadas con hCG (83.3%) es menor al 100% reportado por Schmitt *et al.* (1996b) y Díaz *et al.* (1998), quienes administraron 3 000 UI de hCG el día 5 y 6 después del celo, respectivamente. La incidencia de cuerpos lúteos accesorios en las vaquillas del grupo control fue cero, resultado también observado en otros trabajos (Díaz *et al.*, 1998; Schmitt *et al.*, 1996b). Por su parte, Price y Webb (1989) reportan que ninguna vaquilla del grupo control desarrolló un cuerpo lúteo accesorio (0%), mientras que el 83.0% de las vaquilla tratadas con 1 500 UI de

hCG los días 4-7 (fase luteal temprana) formaron un cuerpo lúteo; estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio.

Cuadro 10. Incidencia de cuerpo lúteo accesorio en vaquillas Holstein tratadas con hCG y control.

Tratamientos	Número de vaquillas		% de vaquillas con CL accesorio
	Total	Con CL accesorio	
hCG	24	20	83.3 ^a
Control	20	0	0.0 ^b

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.01$)

CL = cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo accesorio formado en respuesta a la aplicación de hCG, medido el día 14 es similar al cuerpo lúteo espontáneo de ambos grupos medido el día 7, es decir, a la misma edad. Díaz *et al.* (1998) mencionan que en vaquillas tratadas con hCG, el crecimiento del cuerpo lúteo espontáneo y accesorio no difiere ($P > 0.10$) del día 3 al día 8 después de la ovulación.

Las características del cuerpo lúteo espontáneo (Cuadro 11) el día del tratamiento (día 7 después del servicio) entre el grupo de vaquillas que recibieron hCG y el grupo control son similares ($P > 0.05$). Por su parte, Sianangama y Rajamahendran (1996) reportan que el diámetro del cuerpo lúteo espontáneo entre las vacas tratadas (1 000 UI de hCG el día 7) y controles antes de la administración de la hCG no fue diferente ($P > 0.05$). Díaz *et al.* (1998) no reportan diferencias ($P > 0.10$) en el tamaño promedio del cuerpo lúteo espontáneo entre vaquillas tratadas con hCG y vaquillas del grupo control. Sin embargo, en otro estudio Nishigai *et al.* (2001) mencionan que cuando se administran 1 500 UI de hCG el día 5 después de la ovulación el área total del cuerpo lúteo espontáneo y

accesorio fue significativamente incrementada. Sianangama y Rajamahendran (1996) mencionan que el cuerpo lúteo accesorio inducido por la aplicación de hCG el día 7 fue detectado el día 9 y fue diferenciado del cuerpo lúteo espontáneo por su menor diámetro. En este sentido, Díaz *et al.* (1998) encontraron que el cuerpo lúteo accesorio fue menor ($P>0.10$) que el cuerpo lúteo espontáneo en vaquillas tratadas con hCG.

Cuadro 11. Tamaño del cuerpo lúteo espontáneo de vaquillas Holstein con hCG y control el día 7 posinseminación.

Tratamientos	No. de vaquillas	Tamaño del cuerpo lúteo (Media $\pm$ E.E.)			
		Diámetro vertical (mm)	Diámetro horizontal (mm)	Perímetro (mm)	Área (mm ²)
hCG	24	17.2 $\pm$ 0.7 ^a	22.1 $\pm$ 0.9 ^a	66.9 $\pm$ 2.4 ^a	296.4 $\pm$ 11.7 ^a
control	19	14.5 $\pm$ 0.9 ^a	19.5 $\pm$ 0.9 ^a	59.6 $\pm$ 1.3 ^a	242.0 $\pm$ 10.1 ^a

Medias con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P<0.05$).

Porcentaje de gestación

El porcentaje de gestación a los 35 días después del servicio no fue diferente ($P>0.05$) en vaquillas que recibieron 1 000 UI de hCG con respecto a las vaquillas del grupo control (Cuadro 12). Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo son superiores a los reportados por Schmitt *et al.* (1996b), quienes encontraron un porcentaje de gestación en vaquillas Holstein de 65.0 (79/122) y 63.0% (76/121) para vaquillas tratadas con 3 000 UI de hCG el día 5 después de la inseminación y vaquillas del grupo control, respectivamente. En otro estudio, Breuel *et al.* (1990) quienes trataron vaquillas productoras de carne con 3 000 UI de hCG el día 4 después del servicio, reportaron un porcentaje de gestación de 55.0% para los animales que recibieron el tratamiento y un 59.0% para aquellos del grupo control; estos resultados también son inferiores a los

encontrados en el presente estudio. Lo anterior puede deberse a que en vaquillas cuando se realiza algún protocolo de sincronización, el porcentaje de gestación es menor al obtenido en vaquillas que no se sincronizan (Romero, 2002). Por otro lado, también con vaquillas productoras de carne que recibieron por vía intramuscular 3 000 UI de hCG el día 4 posinseminación, Breuel *et al.* (1989) reportan un porcentaje de gestación de 92.0% (11/12) para las vaquillas con hCG y un 55.0% (6/11) para el grupo control; estos resultados son contrarios a los obtenidos en este trabajo (75.0 vs 90.0%) para las vaquillas tratadas y controles, respectivamente.

Cuadro 12. Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG y control a los 35 días posinseminación.

Tratamientos	Número de vaquillas		% de gestación
	Total	Gestantes	
hCG	24	18	75.0 ^a
Control	20	18	90.0 ^a

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$)

El porcentaje de gestación a los 60 días después del servicio en vaquillas tratadas con hCG y vaquillas del grupo control (Cuadro 13) fue similar. Sin embargo, se aprecia una disminución del 10% en las vaquillas del grupo control entre el día 35 y el día 60, mientras que en las tratadas con hCG el porcentaje de gestación se mantiene; lo anterior pudiera deberse a la presencia de un cuerpo lúteo adicional, el cual está reforzando el mantenimiento de la gestación. Díaz *et al.* (1998) mencionan que el tratamiento con hCG el día 5 induce la formación de un cuerpo lúteo accesorio en todas las vaquillas tratadas con hCG, con lo cual las concentraciones de progesterona en plasma fueron mayores ($P < 0.01$) entre los días 9 a 17 en vaquillas tratadas con respecto a las controles.

Las altas concentraciones de progesterona en plasma probablemente favorecen las condiciones del medio ambiente uterino lo que ayuda a la sobrevivencia del embrión.

Cuadro 13. Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG y control a los 60 días posinseminación.

Tratamientos	Número de vaquillas		% de gestación
	Total	Gestantes	
hCG	24	18	75.0 ^a
Control	20	16	80.0 ^a

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$).

Con el propósito de conocer si existen diferencias estadísticas en el porcentaje de gestación entre vaquillas que formaron un cuerpo lúteo accesorio y las que no lo hicieron, se realizó un análisis de los datos únicamente del grupo de vaquillas tratadas con hCG. El análisis de vaquillas tratadas con hCG no mostró diferencias ($P > 0.05$) en el porcentaje de gestación entre vaquillas con y sin cuerpo lúteo accesorio (Cuadro 14). Sin embargo, la superioridad de las vaquillas con cuerpo lúteo accesorio podría deberse a una mayor producción de progesterona. Díaz *et al.* (1998) encontraron que las concentraciones de progesterona se incrementan de 0.9 ng/mL en el día 1 a 6.4 ng/mL en el día 6 y no difieren entre las vaquillas tratadas con 3000 UI de hCG y las vaquillas control. Sin embargo, el día 9 las concentraciones de progesterona fueron mayores ($P < 0.01$) en el grupo de vaquillas tratadas (15.3 ng/mL) comparativamente con el grupo de vaquillas control (11.1 ng/mL).

Cuadro 14. Porcentaje de gestación de vaquillas Holstein tratadas con hCG a los 60 días posinseminación con y sin cuerpo lúteo accesorio.

Tratamientos	Número de vaquillas		% de gestación
	Total	Gestantes	
Con CL Acc	20	16	80.0 ^a
Sin CL Acc	4	2	50.0 ^b

Tratamientos con diferente literal en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$).

CL Acc = Cuerpo lúteo accesorio

CONCLUSIONES

La administración de gonadotropina coriónica humana a vaquillas Holstein el día 7 después de la inseminación artificial indujo la formación de cuerpos lúteos accesorios sin afectar sus características morfológicas; y no afectó el porcentaje de gestación a los días 35 y 60 después de la inseminación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad Autónoma Chapingo y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por las facilidades otorgadas y el apoyo económico brindado durante los estudios de maestría del primer autor.

LITERATURA CITADA

- Breuel, K. F., J. C. Spitzer, and D. M. Henricks. 1989. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 67: 1564-1572.
- Breuel, K. F., J. C. Spitzer, C. E. Thompson, and J. F. Breuel. 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology* 34: 139-145.
- Diaz, T., E. J. P. Schmitt, R. L. De la Sota, M. J. Thatcher, and W. W. Thatcher. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.* 76: 1929-1936.
- Edmondson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68-78.
- Fricke, P. M., L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 1993. Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.* 71: 1242-1246.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 246 p.
- Ginther, O. J., M. C. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, and K. Kot. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 55: 1187-1194.
- Lucy, M. C., J. D. Savio, L. Badinga, R. L. De la Sota, and W. W. Thatcher. 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- Nishigai, M., H. Kamomae, T. Tanaka, and Y. Kaneda. 2001. The effect of administration of human chorionic gonadotropin in enhancing bovine corpus lutea luteinization and luteal function. *J. Reprod. Dev.* 47: 283-294.
- Price, C. A., and R. Webb. 1989. Ovarian response to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 86: 303-308.
- Rajamahendran, R., and P. C. Sianangama. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *J. Reprod. Fertil.* 95: 577-584.
- Romero, M. C. 2002. Efecto de edad y tipo de semen en la fertilidad de vacas F1 (Cebú por Pardo Suizo). Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 60 p.

- SAS. 2001. SAS/STAT Users guide (release). SAS Inst. Inc., Cary, N.C.
- Savio, J. D., M. P. Boland, N. Hynes, and J. F. Roche. 1990. Resumption of follicular activity in the early post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88: 569-579.
- Schmitt, E. J. P., C. M. Barros, P. A. Fields, M. J. Fields, T. Diaz, J. M. Kluge, and W. W. Thatcher. 1996a. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 74: 1915-1929.
- Schmitt, E. J. P., T. Diaz, C. M. Barros, R. L. De La Sota, M. Drost, E. W. Fredriksson, C. R. Staples, R. Thorner, and W. W. Thatcher. 1996b. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 74: 1074-1083.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 35: 85-96.
- Sianangama, P. C., and R. Rajamahendran. 1996. Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology* 45: 583-592.
- Thatcher, W. W., C. R. Staples, G. Danet-Desnoyers, B. Oldick, and E. S. P. Schmitt. 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J. Anim. Sci.* 72(Suppl.3): 16 (Abstract).