

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Unidad Laguna
Subdirección de Postgrado
Sincronización de la ovulación en vacas Holstein bajo
condiciones de enfriamiento ambiental

Tesis

Juan Luis Morales Cruz

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como
requisito parcial, para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Comité Particular

Asesor principal:

Dr. Carlos Alejandro Elizondo Vázquez

Asesor:

Dr. Carlos Leyva Orasma

Asesora:

Dra. Ilda Graciela Fernández García

Asesor:

Dr. Jesús Enrique Cantú Brito

M.C. Gerardo Arellano Rodríguez
Jefe del Departamento de Postgrado

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila, diciembre de 2004

Sincronización de la ovulación en vacas Holstein bajo condiciones de enfriamiento ambiental

Juan Luis Morales Cruz

Tesis

Presentada como requisito parcial para

obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Asesor

Dr. Carlos Alejandro Elizondo Vázquez

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de cuatro protocolos de sincronización de la ovulación (T2 ovsynch, T3 heatsynch T4 ovsynch + rbST, T5 heatsynch + rbST) y un tratamiento control (T1) sobre la fertilidad de vacas inseminadas en el invierno y en el verano. Se utilizaron vacas Holstein (n=219) que fueron alojadas en corrales con un sistema de enfriamiento ambiental y repartidas aleatoriamente en 5 tratamientos en dos estaciones. Se evaluaron las tasas de preñez, el número de lactancia, la producción de leche, el índice de temperatura y humedad, la temperatura rectal, la condición corporal, los días abiertos, el porcentaje de vacas repetidoras y la concentración de progesterona plasmática postinseminación. En el invierno con heatsynch se encontraron diferencias ($P < 0.01$) en las tasas de preñez a la primera IA en comparación al control y al heatsynch + rbST. Con ovsynch, las tasas de preñez acumulativa fueron más altas ($P < 0.01$) que los grupos control en el verano y en ambas estaciones en forma conjunta. Las tasas de preñez de invierno fueron más elevadas ($P < 0.01$) que las del verano, tanto para la segunda y tercera

inseminación, así como para las tasas de preñez acumulativa. El número de lactancia y la producción de leche no tuvieron efecto en las tasas de preñez. Las vacas con condición corporal >3 tuvieron tasas de preñez más altas, con tendencia estadística ($P=0.09$). En cuanto al THI y la temperatura rectal al momento de la inseminación, se encontraron diferencias en las dos estaciones ($P<0.01$). Los días abiertos en el invierno también fueron menores ($P<0.01$) con heatsynch que con los demás tratamientos, excepto con el control. El porcentaje de vacas repetidoras en el verano fue menor con ovsynch vs el control, con tendencia estadística ($P<0.06$). Los niveles de progesterona en el día 11 postinseminación no mostraron diferencias para las vacas gestantes ni para las vacas vacías y en el día 21 postinseminación tampoco hubo diferencia en el invierno, pero sí se encontró diferencia ($P<0.05$) en el verano. Se concluye que en el verano las tasas de preñez acumulativas más altas fueron obtenidas con ovsynch, que con los protocolos de sincronización de la ovulación, sin rbST en el día 0, las vacas tuvieron un desempeño reproductivo superior y que aun cuando las vacas estuvieron en corrales provistos de un sistema de enfriamiento evaporativo, las tasas de preñez acumulativas de invierno fueron más altas que las de verano.

Palabras clave: vacas lecheras, sincronización de la ovulación, inseminación artificial programada, ovsynch, heatsynch, rbST, estrés calórico.

**Synchronization of ovulation in Holstein cows under ambient
cooling conditions**

Thesis

by

Juan Luis Morales Cruz

presented as a partial requirement to obtain the degree of

MASTER IN AGRARIAN SCIENCE

Advisor

Dr. Carlos Alejandro Elizondo Vázquez

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of four protocols of ovulation synchronization (T2 ovsynch, T3 heatsynch, T4 ovsynch + rbST, T5 heatsynch + rbST) and one control treatment (T1) on fertility of cows inseminated during winter and during summer. Lactating Holstein cows (n=219), housed in corrals with an environmental cooling system, were randomly divided into 5 treatments in two seasons. Pregnancy rates, lactation number, milk production, THI, rectal temperature, body condition, days open, repeat breeder cows rate and postinsemination plasmatic progesterone concentrations were evaluated. Pregnancy rates in winter with heatsynch were different at the first AI ($P<0.01$) in comparison with control and heatsynch + rbST. With ovsynch, cumulative pregnancy rates were higher ($P<0.01$) than control groups during summer and in both seasons combined. Pregnancy rates during winter were higher ($P<0.01$) than during summer for second and third insemination, as well

as for cumulative pregnancy. Lactation number and milk production didn't have effect on pregnancy rates. Cows with body condition >3 had higher pregnancy rates, with statistical tendency ($P=0.09$). THI and rectal temperature at the moment of the artificial insemination were different in the two seasons ($P<0.01$). Days open during winter were lower ($P<0.01$) also with heatsynch than with all other treatments, except control group. Rate of repeat breeder cows during summer was smaller with ovsynch vs control, with statistical tendency ($P<0.06$). Levels of plasmatic progesterone on day 11 postinsemination didn't show difference for pregnant neither for empty cows and on day 21 postinsemination there were no differences in winter, but they were different ($P<0.05$) in summer. It is concluded that, during summer higher rates of cumulative pregnancy were obtained with ovsynch, that with ovulation synchronization protocols, without rbST on day 0, cows had a superior reproductive performance and that even when cows were in corrals provided with an evaporative cooling system, cumulative pregnancy rates in winter were higher than in summer.

Keywords: dairy cows, synchronization of ovulation, timed insemination, ovsynch, heatsynch, rbST, heat stress

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	x
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Estrés calórico	4
2.2 Parámetros reproductivos.....	6
2.3 Hormonas que intervienen en la reproducción	7
2.3.1 Hormona liberadora de gonadotropinas	7
2.3.2 Uso de la GnRH en los programas reproductivos	8
2.3.3 Hormona de crecimiento o somatotropina bovina	9
2.3.4 Uso de la somatotropina en los programas reproductivos.....	11
2.3.5 Estrógenos	13
2.3.6 Uso del cipionato de estradiol en los programas reproductivos	15
2.3.7 Prostaglandina F _{2α}	17
2.3.8 Uso de las prostaglandinas en los programas reproductivos	19

2.4 Algunas estrategias para elevar los parámetros reproductivos del ganado lechero bajo estrés calórico	21
2.4.1 Sincronización de estro y ovulación	22
2.4.2 Sistemas de enfriamiento corporal	24
2.4.2.1 Descripción del sistema de enfriamiento corporal (Korral Kool)	26
2.5 Efecto de la condición corporal sobre los programas de sincronización de la ovulación.....	27
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1 Descripción del área de estudio	29
3.2 Descripción de los animales	29
3.3 Diseño del experimento	31
3.3.1 Invierno.....	31
3.3.2 Verano	31
3.4 Monitoreo del clima y temperatura rectal.....	33
3.5 Obtención de muestras de sangre para determinación de progesterona	33
3.6 Descripción del material utilizado para los tratamientos.....	34
3.7 Variables evaluadas	34
3.8 Análisis estadístico	35
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1 Tasas de preñez	36
4.2 Número de lactancia y producción de leche	42

4.3 Temperatura ambiente, humedad relativa, THI y temperatura rectal	44
4.4 Condición corporal	45
4.5 Días abiertos	47
4.6 Porcentaje de vacas repetidoras.....	52
4.7 Concentración de progesterona plasmática posterior a la IA.....	56
V CONCLUSIONES	62
VI LITERATURA CITADA	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Protocolo de los tratamientos de la sincronización de estro y de la ovulación, de las vacas Holstein llevados a cabo en el invierno de 2002.....	32
2. Protocolo de los tratamientos de la sincronización de estro y de la ovulación, de las vacas Holstein llevados a cabo en el verano de 2003.....	33
3. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) en invierno	37
4. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) en verano	37
5. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) sin considerar el efecto de la estación	39

6. Tasa de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo en cada estación, sin considerar el efecto de los tratamientos	41
7. Tasa de preñez (%) en la primera IA por número de lactancia sin considerar los tratamientos ni la estación	42
8. Medias de mínimos cuadrados \pm EEM de la producción de leche (kg) a los 120 días postparto con relación a las tasas de preñez en la primera IA sin considerar la estación en los protocolos de sincronización de estro y de TAI	43
9. Medias de mínimos cuadrados (\pm EEM) del THI, temperatura ambiente y humedad relativa dentro del corral con enfriamiento ambiental y temperatura rectal en la IA.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Tasa de preñez por CC a la primera IA y a los 180 días postparto en vacas con CC menor a 3 vs vacas con CC igual o mayor a 3 en los protocolos de TAI	46
2. Días abiertos comparados entre tratamientos en cada estación en que se llevaron a cabo los protocolos de TAI	48
3. Días abiertos en los protocolos de TAI comparando el mismo tratamiento en diferente estación	49
4. Porcentaje de vacas repetidoras entre tratamientos en cada estación en que se llevaron a cabo los protocolos de TAI	51
5. Porcentaje de vacas repetidoras en los protocolos de TAI comparando el mismo tratamientos en diferente estación	52

6. Porcentaje de vacas repetidoras por tratamiento sin considerar el efecto de la estación	53
7. Porcentaje de vacas repetidoras por estación sin considerar el efecto de los tratamientos	54
8. Concentraciones plasmáticas de progesterona en el día 11 y 21 posterior a la IA para vacas gestantes vs vacas vacías en el invierno	57
9. Concentraciones plasmáticas de progesterona posterior a la IA en el día 11 y 21 para vacas gestantes vs vacas vacías en el verano	58
10. Concentraciones plasmáticas de progesterona posterior a la IA en el día 11 y 21 para vacas gestantes vs vacas vacías sin considerar la estación	59

I INTRODUCCIÓN

La fertilidad del ganado bovino lechero ha decrecido durante los últimos años en diferentes partes del mundo por razones multifactoriales, pero debido principalmente a la alta producción de leche que se ha alcanzado y al intenso manejo a que están sometidas las vacas lecheras.

Las producciones de leche elevadas se han logrado debido a una intensa selección genética y a una mejor alimentación, pero el potencial genético de las vacas lecheras se aprovecha en forma limitada en las zonas de intenso calor, ya que la fertilidad y en ocasiones hasta la salud de los animales se ve afectada, ya que disminuye el consumo de alimento como respuesta del organismo para evitar el aumento en la temperatura corporal.

La Comarca Lagunera es una de las principales cuencas lecheras de México, donde la temperatura ambiental es elevada durante la mayor parte del año, por lo que las vacas están sometidas a un intenso estrés calórico, lo que ha despertado el interés de algunos investigadores para estudiar y conocer las repercusiones que tienen las altas temperaturas sobre la fertilidad de las vacas lecheras y así poder encontrar alternativas para contrarrestar estos efectos.

La fertilidad de las vacas con producción alta de leche bajo estrés calórico disminuye porque presentan estros que pueden pasar desapercibidos, ya sea por manifestarse con menor intensidad o por ausencia de signos externos, de tal manera que la detección de calores es deficiente (Badinga *et al.*, 1985).

En los establos lecheros la eficiencia reproductiva también puede verse afectada por otros factores como el retraso en la involución uterina, las fallas en la ovulación, los porcentajes de concepción bajos y el incremento en la mortalidad embrionaria (Roche *et al.*, 2000).

Para contrarrestar los efectos nocivos del calor sobre la fertilidad se han utilizado diversas estrategias como la sincronización de estro y la sincronización de la ovulación, en esta última se encuentra el protocolo ovsynch desarrollado por Pursley *et al.* (1995), que consiste en la aplicación de análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y prostaglandinas (PGF2 α) para inducir la ovulación e inseminar a un tiempo determinado, por lo que se elimina la necesidad de la detección de calores. Posteriormente se han desarrollado otras modificaciones a este protocolo, como el denominado heatsynch. También existen reportes (Lucy *et al.*, 1995) de que la somatotropina bovina recombinante (rbST, por sus siglas en inglés) puede ser benéfica en la fertilidad, por el posible efecto que pudiera presentarse en las primeras fases de desarrollo del embrión.

Otra de las estrategias empleadas contra el estrés calórico es tratar de mantener un clima de confort de los animales, mediante sistemas de enfriamiento ambiental en los corrales durante los meses con temperaturas más elevadas (Armstrong, 1994).

Se considera importante encontrar soluciones a esta problemática que limita la eficiencia reproductiva que se ve tan afectada en la época de calor y por lo tanto con repercusiones económicas de consideración.

Con base a lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar cuatro tratamientos de sincronización de la ovulación e inseminación artificial a tiempo fijo, tanto en invierno como en verano, sobre algunos parámetros reproductivos en el ganado lechero bajo un sistema de enfriamiento ambiental.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Estrés calórico

El estrés es definido como la incapacidad del animal de competir con el medio ambiente (Dobson y Smith, 2000). El estrés calórico también llamado estrés térmico ocurre cuando se combinan condiciones medioambientales que causan que la temperatura ambiental se encuentre por encima de la zona de confort o zona de termoneutral de los animales (Armstrong, 1994) y es considerado como una de las principales causas de la baja de fertilidad en las vacas lecheras en algunos países (Wolfenson *et al.*, 2000).

Las temperaturas ambientales altas provocan un cambio en el funcionamiento del sistema endocrino, ya que al inicio del estrés calórico se incrementan los niveles sanguíneos de cortisol, de prolactina, de epinefrina y de norepinefrina; en caso de que la hipertermia se prolongue hasta llegar a ser un estrés calórico crónico, sólo se mantienen elevados los niveles de las catecolaminas. Existen evidencias que señalan que el estrés calórico tiene un marcado efecto en el tiempo preciso de la liberación de las hormonas reproductivas en la fase folicular (Mellado, 1995).

Entre las investigaciones que se han realizado para entender el descenso en la fertilidad durante los meses de verano, se ha encontrado que existe un aumento en la hormona folículo estimulante (FSH) plasmática durante el periodo periovulatorio en vacas sometidas a estrés calórico, quizás asociado a un decremento pronunciado en la concentración de inhibina inmunorreactiva en el plasma sanguíneo (Wolfenson *et al.*, 2000).

En relación con las hormonas involucradas en la reproducción, se ha observado que el estrés calórico agudo provoca un incremento en los niveles de progesterona así como una reducción en la hormona luteinizante (LH), el estrés también reduce la frecuencia y amplitud de la GnRH y por ende de los pulsos de LH, esta evidencia sugiere que el estrés ejerce su efecto en el hipotálamo o en algunas áreas del cerebro (Mellado, 1995). También se reporta que las vacas sometidas a una exposición crónica al estrés calórico del verano disminuyen la producción de progesterona en el plasma sanguíneo, lo que puede causar un desarrollo aberrante del folículo que a su vez conduce a la maduración anormal del oocito en el folículo maduro y por lo tanto a la muerte embrionaria (Ahmad *et al.*, 1995).

Wilson *et al.* (1998) indican que las concentraciones de estradiol son bajas durante las diferentes fases del ciclo estral en las vacas estresadas por el calor ambiental. La capacidad esteroideogénica en los folículos se ve afectada porque existe una disminución en la actividad de la aromatasa en las células de

la granulosa y por ende un valor menor en la concentración de estradiol en los folículos dominantes durante el día 8 del ciclo estral (Badinga *et al.*, 1993).

Wolfenson *et al.* (2000) señalan que dentro de las publicaciones relativas a las alteraciones de los mecanismos de los procesos reproductivos estudiados bajo condiciones de estrés calórico, se ha encontrado que la mayoría de las estructuras son susceptibles de ser afectadas y mencionan al oocito, a las células de la granulosa y de la teca en el folículo preovulatorio, al desarrollo del embrión en sus primeras fases, al cuerpo lúteo, al endometrio y a la hipófisis anterior.

2.2 Parámetros reproductivos

Entre los parámetros reproductivos que se ven afectados por el estrés calórico se mencionan las tasas de preñez, la detección de celos, los días abiertos, el porcentaje de vacas gestantes al diagnóstico, el número de partos y el intervalo entre partos. (Fernández, 2003).

Cavestany *et al.* (1985) reportaron que entre las alteraciones de los parámetros reproductivos, con relación a los efectos en los bovinos sometidos a condiciones ambientales con temperaturas altas, está la disminución en los porcentajes de concepción de un 40 a 60 % que se presenta en los meses de invierno, a un 10 a 20 % en los meses de verano.

También Lozano y González (2003) señalan que el aumento en el intervalo entre partos, con relación al óptimo, que es de doce a trece meses, representa un mayor costo, ya que se prolonga el periodo de lactación en que la vaca produce menos.

2.3 Hormonas que intervienen en la reproducción

2.3.1 Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

Las células neuroendocrinas que secretan GnRH se originan en la placa olfatoria nasal fuera del sistema nervioso central, de ahí migran al cerebro medio durante el desarrollo prenatal y son las responsables de la función hormonal reproductiva (Wray, 2001).

La migración de las células GnRH ocurre en los axones olfatorio/vomeronasal y la alteración de esta migración resulta en una disfunción reproductiva que se conoce como síndrome de Kallmann (Schwanzel-Fukuda *et al.*, 1989), quienes también indican que estas células son un componente neuroendocrino del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.

La GnRH ocupa un papel central en la reproducción de los mamíferos, es un neuropéptido de diez aminoácidos que es liberado de una manera pulsátil por la células secretoras que proyectan sus axones a la eminencia media en el hipotálamo medio basal, en esta área existe una red de vasos sanguíneos

conocidos como vasos porta-hipofisarios en donde la GnRH es liberada y tiene su acción en las células gonadotropas de la adenohipófisis uniéndose a receptores específicos y desencadenando eventos que incluyen la micro-agregación de receptores para GnRH, la activación de un segundo mensajero, la liberación de las hormonas gonadotropinas (LH y FSH) y la nueva síntesis de estas hormonas (D'Occhio *et al.*, 2000).

2.3.2 Uso de la GnRH en los programas reproductivos

La GnRH dentro de los programas reproductivos ha sido ampliamente utilizada, en el postparto temprano en vacas lecheras (12-14 días), puede ayudar al reinicio de la actividad ovárica, eleva las concentraciones de 17β estradiol al incrementar el crecimiento folicular que es importante para provocar la ovulación (Zaied *et al.*, 1980).

La administración de la GnRH puede modificar la función pre o postovulatoria del folículo ovárico o las características de la capacidad secretora del cuerpo lúteo en desarrollo, ayudando a la conversión de células pequeñas a células grandes en el cuerpo lúteo, incrementando así la secreción de la progesterona (Mee *et al.*, 1993), quienes también mencionan que Hsueh y Jones en 1981 describieron la presencia de una afinidad alta en los sitios de unión de la GnRH en los ovarios de la rata, lo que implica una posible acción directa de la GnRH en los ovarios de los mamíferos.

Se ha demostrado que los programas de inseminación a tiempo fijo utilizando agonistas de GnRH, son una alternativa efectiva para el manejo reproductivo de las vacas lecheras ya que se logra la sincronización de la ovulación cuando se administra también PGF2 α (Pursley *et al.*, 1995) y como consecuencia se incrementan las tasas de preñez en las vacas bajo estrés calórico (Stevenson *et al.*, 1996; Kastelic y Mapletoft, 1998), sin embargo, estos autores mencionan que el programa de inseminación a tiempo fijo no protege al embrión de los efectos producidos por el estrés calórico.

2.3.3 Hormona del crecimiento o somatotropina bovina

En la década de los veinte, Evans y Simpson observaron que un extracto aislado de la hipófisis bovina estimulaba el crecimiento de las ratas, este extracto fue referido como hormona del crecimiento o somatotropina (Hernández y Díaz, 2003). La hormona de crecimiento es una hormona proteínica formada por 192 aminoácidos y con un peso molecular de 22,000 daltones (McMahon *et al.*, 2001).

Hernández y Díaz (2003) mencionan que Asdell en 1932 y Asimov y Krouze en 1937 observaron que la somatotropina estimulaba la producción de leche en la cabra y en la vaca, pero hasta 1982 se publicaron resultados del primer experimento realizado con somatotropina bovina recombinante (rbST) en vacas lecheras.

El factor de crecimiento insulínico (IGF-I) aumenta su concentración con la aplicación de rbST y posiblemente así la somatotropina ejerce su acción como mediador de los efectos del estado nutricional en la función ovárica durante el periodo del postparto (Andrade *et al.*, 1996).

A principio de la década de los ochenta se logró producir la rbST, mediante tecnología del ácido desoxiribonucleico (ADN) recombinante. La estructura tridimensional de la rbST está bien establecida y consiste en cuatro hélices alfa y regiones adyacentes de polipéptidos no helicoidales, siendo cada molécula bivalente, ya que tienen dos sitios diferentes (1 y 2) que se unen a los diferentes receptores de la bST, la rbST con esta estructura es muy parecida a la bST bovina, con una secuencia similar de aminoácidos que hace que los receptores tengan la misma afinidad por las dos estructuras, lo que no sucede con la bST de origen humano (Etherton y Bauman, 1998). En las vacas tratadas con rbST, la producción lechera puede aumentar de 15 a 40 % (Bauman, 1992).

2.3.4 Uso de la rbST en los programas reproductivos

Los efectos benéficos del uso de la rbST en la fertilidad de las vacas son debidos a que se incrementa el número de folículos ováricos de distintos tamaños. En las vaquillas se incrementan los folículos que miden entre 3 a 5 mm. y en las vacas los folículos de 6 a 9 mm. (Gong *et al.*, 1991). Así mismo, Chandrashekar *et al.* (2004) afirman que la deficiencia en la hormona de

crecimiento modifica la foliculogénesis, la maduración ovárica, la ovulación y la preñez. Lucy *et al.* (1995) mencionan que la rbST tiene efectos sobre el cuerpo lúteo (CL) incluyendo un incremento en su peso, aumentando la concentración de la progesterona en la sangre de las vacas tratadas con esta hormona.

Por el contrario, Cole *et al.* (1992) señalan que la somatotropina tiene efectos adversos sobre la fertilidad, incrementándose los días abiertos y disminuyendo las tasas de preñez; estas alteraciones de los parámetros reproductivos se asocian a un balance energético negativo en el postparto que experimentan las vacas lecheras tratadas con rbST (Kirby *et al.*, 1997).

En otro estudio realizado por Bartolome *et al.* (2002) se encontró que la aplicación de 500 mg de rbST en vacas lecheras, del día 1 al día 3 con relación al día de la primera aplicación de GnRH (día 0), tiene un efecto positivo sobre el folículo preovulatorio, en el oocito y en las tasas de concepción en vacas sin quistes ováricos.

Existen otros reportes en los que se encontró que la rbST estimula *in vitro* la maduración de los oocitos y el desarrollo embrionario (Moreira *et al.*, 2002), por otro lado, Morales-Roura *et al.* (2001) indican que con la aplicación de rbST, en vacas con más de tres servicios, el día del estro y 10 días más tarde, se elevaron las tasas de preñez (29.3 % tratadas vs 16.9 % control).

Moreira *et al.* (2002) y Thatcher *et al.* (2002) demostraron que con la administración de la rbST al momento de la IA en vacas donadoras de embriones, decreció el número de ovocitos no fertilizados, se incrementó el porcentaje de embriones transferibles (77.2 % tratadas vs 56.4 % control), además estimula el desarrollo embrionario al estado de blastocisto.

Con relación a las células del *cumulo*, a las de la granulosa y al oocito se ha encontrado que tienen receptores para la bST, por lo que el tratamiento con la hormona somatotropina recombinante estimula la expansión del *cumulo* y la maduración nuclear del oocito, además incrementa la fertilización debido a que ayuda a la maduración de los ovocitos (Izadyar *et al.*, 1996; 1998).

Los efectos de la rbST en el desarrollo embrionario temprano son observados en vacas donadoras lactantes y no lactantes, así los embriones transferidos de vacas tratadas con rbST incrementan las tasas de preñez en vacas receptoras, sin estar asociada la calidad o el estado de desarrollo del embrión transferido, así como que los embriones tratados con rbST tienen la capacidad de secretar más interferón-tau (IFN- τ) que contribuye a un índice alto de sobrevivencia embrionaria durante el periodo de reconocimiento materno de la preñez (Moreira *et al.*, 2002). Este efecto puede ser directo o indirecto, mediado por el incremento en las concentraciones plasmáticas del IGF-I (Lucy *et al.*, 1995). Sin embargo, estos mismos autores señalan que los mecanismos

por los cuales la rbST incrementa las tasas de preñez no están claros, ya que aparentemente otros factores maternos y embrionarios también contribuyen a tal efecto.

Por otro lado, Sauerwein *et al.* (2000) indican que en los toros, con la aplicación de la rbST, se incrementa la motilidad espermática y la capacidad de fertilización del espermatozoide, así como las concentraciones séricas de IGF-I que a su vez está correlacionada con el porcentaje normal de células espermáticas.

2.3.5 Estrógenos

Los estrógenos son las hormonas responsables del comportamiento sexual en las vacas y también estimula el pico preovulatorio de la LH provocando la liberación de GnRH desde el cerebro por un mecanismo de retroalimentación positiva (Wolfe *et al.*, 1992).

Los estrógenos se forman por una serie de mecanismos enzimáticos que a continuación se describen: a partir del acetato que se convierte en colesterol y éste por acción de la enzima desmolasa de colesterol estimulada por la LH en las células tecales se convierte en 5-pregnenolona, el cual es el precursor de la progesterona que es convertida a 17-hidroxipregnenolona por la 17 α -hidroxilasa, que a su vez también es convertida en dehidroepiandrosterona por

la 17, 20-liasa, posteriormente la 3β -hidroxisteroide deshidrogenasa es responsable de transformarla en androstenediona la cual es el precursor directo de la testosterona por la enzima 17β -hidroxisteroide-deshidrogenasa, la testosterona se difunde desde las células tecaes a las células de la granulosa que contienen aromatasa que activada por la FSH convierte la testosterona en estradiol (Rosenfeld *et al.*, 2001).

En la biosíntesis de los estrógenos existe una catalización que se hace por un miembro de la superfamilia del citocromo P450, también conocido como citocromo aromatasa P450 que es el producto del gen CYP19, esta proteína es la responsable de unir el substrato esteroide androgénico C19 y al catalizar la serie de reacciones forman fenol A que es característico de los estrógenos (O'Donnell *et al.*, 2001).

2.3.6 Uso del cipionato de estradiol (ECP) en los programas reproductivos

La contaminación bacteriana del lumen uterino después del parto está generalmente presente en el ganado, la infección comúnmente no es eliminada totalmente y persiste por varias semanas en 10 a 15 % de los animales con endometritis crónica, causando subfertilidad, incluso después de desaparecer los signos clínicos. Se ha observado que las vacas son menos susceptibles a la infección bacteriana durante el estro que en el diestro, de ahí que se haya utilizado la administración parenteral de estradiol como un tratamiento efectivo

para la endometritis (Sheldon, 2004), otro de los usos del estradiol es como inductor de celo ya que los patrones de desarrollo folicular pueden ser perturbados por la administración de estradiol, la variación en estos patrones pueden producir la sincronización del estro o la ovulación, lo cual permite la predeterminación del tiempo para la IA (Macmillan *et al.*, 2003).

El ECP es el único éster autorizado para su uso en ganado lechero en EUA (Colazo *et al.*, 2003) y es una alternativa más para el control del tiempo de la ovulación y para elevar las tasas de preñez. Se utiliza substituyendo la segunda inyección de GnRH del protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (TAI, por sus siglas en inglés) por benzoato de estradiol. A este programa se le conoce como heatsynch y la IA se realiza a las 30 a 34 h después de la inyección de benzoato de estradiol en ganado Cebú (Barros *et al.*, 2000; Fernandes *et al.*, 2001) y a las 48 h después en ganado Holstein (Pancarci *et al.*, 2002) ya que se sabe que el estrógeno endógeno tiene la capacidad de inducir el pico de LH con una diferencia de tiempo entre esas dos razas, estimulando la secreción hipotalámica de GnRH sobre todo cuando los niveles plasmáticos de progesterona son bajos, como sucede al finalizar el diestro o en el proestro. La diferencia entre el tiempo de la inyección de ECP y la IA es de 24 a 48 h, mientras que con GnRH la IA se realiza de 16 a 20 h después de la última inyección (Thatcher *et al.*, 2002).

Estos mismos autores afirman que al comparar los protocolos tanto de GnRH como los de ECP, no hubo diferencia en cuanto a los parámetros reproductivos, con la ventaja de que el protocolo de heatsynch es más económico.

Además, Pancarci *et al.* (2002) mencionan que con el protocolo de heatsynch, las vacas presentan mayor tono uterino y signos de celo más marcados, lo que sirve para que se acepte este protocolo en la práctica reproductiva de los establos. También señalan que el ECP se puede utilizar para la resincronización de las vacas en el segundo servicio, en estos casos el protocolo de heatsynch puede hacer posible una detección temprana de vacas vacías.

2.3.7 Prostaglandina F2 α (PGF2 α)

La PGF2 α es una luteosina que está ampliamente identificada en los mamíferos y su secreción depende del endometrio para que pueda causar la regresión del CL. Su estructura química está formada por 20 carbonos y ácidos grasos insaturados (Elmore, 1989) y se le considera importante para manipular la función reproductiva en los bovinos. De manera comercial se producen análogos que se utilizan rutinariamente para regular los ciclos reproductivos de la mayoría de los animales domésticos (McCracken *et al.*, 1999).

El nombre de esta hormona proviene de las propiedades químicas de esta sustancia; la F por su solubilidad en fosfato, el 2 por la doble ligadura en su cadena y la α por su química éster (Elmore, 1989).

En la síntesis de las prostaglandinas, la liberación del ácido araquidónico desde los fosfolípidos por la activación de las enzimas fosfolipasas A_2 se considera como un paso importante, así el ácido araquidónico liberado es rápidamente convertido a $PGF2\alpha$ por la ciclooxigenasa (COX) o prostaglandina sintetasa (Vane y Botting, 1995).

En cuanto a la activación de las enzimas que controlan la síntesis de prostaglandina uterina, se sugiere que está a cargo de los estrógenos (Ham *et al.*, 1975) al actuar sobre la actividad de las fosfolipasas que son enzimas que liberan el ácido araquidónico (Bonney *et al.*, 1987). Sin embargo, un periodo corto de exposición a la progesterona puede cambiar el estímulo del estrógeno en la producción de prostaglandina endometrial (Lewis y Warren, 1977).

El principal efecto de la progesterona en la síntesis de prostaglandina endometrial es la acumulación de lípidos en el endometrio (Boshier *et al.*, 1981) pero también incrementa la concentración y la actividad de la COX (Eggleston *et al.*, 1990).

En consecuencia, son los estrógenos y la progesterona los que controlan primeramente la prostaglandina endometrial debido a la regulación de los receptores endometriales a oxitocina, ya que la estimulación mecánica del tracto reproductivo causa una elevación de la oxitocina neurohipofisiaria en la sangre periférica de algunas especies y se considera que la oxitocina es responsable del efecto mecánico para la liberación de $\text{PGF2}\alpha$ (McCracken *et al.*, 1999).

Un modelo para el control de la secreción de la $\text{PGF2}\alpha$ endógena es propuesto por estos mismos autores; al final de la fase luteal la pérdida de la acción de la progesterona ocurre debido a una baja regulación de sus receptores en el hipotálamo y en el endometrio que provoca el retorno de la acción estrogénica en estos tejidos, esta acción estimula el pulso generador de oxitocina hipotálmica que secreta niveles bajos de oxitocina intermitente y simultáneamente regula los receptores de oxitocina uterinos, posteriormente niveles bajos de $\text{PGF2}\alpha$ también son liberados desde el útero debido a la interacción de oxitocina pituitárica y los receptores de oxitocina endometriales, estos niveles bajos de $\text{PGF2}\alpha$ son suficientes para iniciar la liberación de oxitocina luteal, activando un estado de alta sensibilidad de los receptores de prostaglandinas en el cuerpo lúteo iniciando una secreción suplemental de oxitocina, la cual amplifica la liberación de $\text{PGF2}\alpha$ endometrial y esta producción alta de prostaglandina, activa la sensibilidad de sus propios

receptores e inhibe la secreción de progesterona y libera adicionalmente oxitocina luteal reforzando la síntesis de PGF2 α endometrial.

2.3.8 Uso de las prostaglandinas en los programas reproductivos

El descubrimiento y comercialización de la PGF2 α en la década de los setenta probablemente cambió el manejo reproductivo en el ganado bovino y fue llamado el medicamento del futuro en ese ámbito (Elmore, 1989).

La PGF2 α es ampliamente reconocida como un agente eficaz para el tratamiento de la endometritis, sobre todo si hay la presencia de un CL funcional (Paisley *et al.*, 1986) del mismo modo la PGF2 α puede utilizarse profilácticamente destruyendo el CL presente durante el puerperio temprano.

Por otra parte se reporta que el útero secreta grandes cantidades de PGF2 α durante el puerperio temprano y se especula que esta secreción podría tener efecto directo sobre el útero causando contracciones del miometrio que favorecen la involución uterina, sin embargo, Guilbault *et al.*, en 1987 citado por Revah *et al.* (1989) reportaron que el papel de la PGF2 α en la involución uterina, es dudoso, ya que la supresión de ésta durante el puerperio mediante la administración continua de un inhibidor de su síntesis no alteró el tiempo de involución uterina.

Diversos métodos de sincronización se han propuesto, en los cuales están incluidas principalmente las prostaglandinas. Con la sincronización del estro en las vacas lecheras se han podido elevar las tasas de preñez y reducir los días abiertos (Wenzel *et al.*, 1993). Actualmente se utiliza la combinación de análogos de prostaglandinas con hormonas liberadoras de gonadotropinas (Tenhagen *et al.*, 2000)

2.4 Algunas estrategias para elevar los parámetros reproductivos del ganado lechero bajo estrés calórico

Cualquiera que sea el programa reproductivo que se lleve a cabo, los factores de manejo pueden influenciar la fertilidad, entre los que se pueden mencionar la nutrición, el lugar en donde se encuentran los animales, la eficiencia en la detección de estro, el tiempo de la inseminación relacionado al momento de la observación del estro, el manejo del semen y la habilidad del inseminador, entre otros (Momcilovic *et al.*, 1998).

La incorporación sistémica de protocolos de sincronización de la ovulación en los programas reproductivos minimiza la necesidad de la labor de la detección de celo y ayuda a elevar el rendimiento del ganado lechero (Pankowski *et al.*, 1995).

Un programa de TAI se realizó en Florida, USA durante el verano (de la Sota *et al.*, 1998) obteniendo un incremento las tasas de preñez a los 120 días postparto que resultó en un 27 % en el grupo tratado vs un 16.5 % del grupo control, también el número de días abiertos y el número de servicios por concepción fue más menor en el grupo tratado, en ese estudio se demostró que el programa de TAI incluyendo agonistas de GnRH durante el estrés calórico puede ayudar a eliminar la necesidad de la detección de celo.

Wolfenson *et al.* (2000) señalan que para lograr parámetros más altos en la fertilidad de las vacas sometidas al estrés calórico, se deben procurar condiciones de enfriamiento durante toda la época de calor, y aún así en esos meses los porcentajes de fertilidad siguen siendo bajos, además que los tratamientos hormonales son limitados para elevar las tasas de preñez, sin embargo, con el uso de TAI sí se han logrado tasas de preñez más altas y se ha reducido el número de días abiertos.

2.4.1 Sincronización de estro y ovulación

En décadas pasadas se desarrollaron protocolos de manejo reproductivo que sincronizan la presentación del estro usando PGF2 α , estos protocolos no controlan el momento de la IA y por lo general en las vacas lecheras las tasas de preñez son demasiado bajas después de la detección de estro (Lucy *et al.*, 1986). Estas tasas de preñez bajas se pueden deber a una variación en el

tiempo de ovulación con respecto al tiempo de la inseminación (Pursley *et al.*, 1997a).

Uno de los factores que limita los buenos resultados en la fertilidad es la falla en la detección de celos y por lo tanto que la IA no se realice en el momento adecuado (Ruíz, 2004). Actualmente se han desarrollado programas controlados para la sincronización de la ovulación y la TAI, como son los implantes (Geary *et al.*, 1998) y las esponjas vaginales de liberación de progesterona (Cavestany *et al.*, 2003), junto con el protocolo ovsynch. Este programa de sincronización de la ovulación consiste en la inyección de GnRH el día 0 para reclutar un folículo ovulatorio; de PGF2 α en el día 7 que va provocar la regresión del cuerpo lúteo y permitir la maduración del folículo ovulatorio; posteriormente se aplica una segunda inyección de GnRH a las 48 h después para inducir la ovulación y de 16 a 20 h posteriores se realiza la IA. Los resultados indican que las tasas de preñez son más altas que las de los grupos controles, sincronizados solamente con prostaglandinas, con la ventaja de no requerir detección de celos y de que se puede elegir el día de la IA para procurar hacerlo coincidir con el término del periodo de espera voluntario (Pursley *et al.*, 1997a).

En un estudio más reciente, Thatcher *et al.* (2002) modificaron el programa de sincronización de la ovulación, llamándolo presynch que consiste en la aplicación de PGF2 α 12 días previos a la primera administración de

GnRH, obteniendo resultados más altos en las tasas de preñez, debido posiblemente a la gran cantidad de vacas que ovulan con la primera aplicación de GnRH en el protocolo de ovsynch.

Peters y Pursley (2003) afirman que la ovulación en vacas Holstein puede ser sincronizada cuando se administra GnRH junto con la PGF2 α . Sin embargo, la diferencia entre la aplicación entre una y otra debe ser de más de 24 horas ya que si el tiempo es menor se puede comprometer la ovulación e incluso la fase luteal subsiguiente.

Con la somatotropina bovina inyectada el día de la primera aplicación de GnRH, se logra una elevación en las tasas de preñez a la primera IA (Moreira *et al.*, 2000b), también se incrementa la producción del IGF-I resultando en el aumento de este factor en la sangre periférica y en el fluido folicular (Lucy *et al.*, 1995). La presencia de receptores para el IGF-I en los folículos ováricos está demostrada, así como su efecto en el desarrollo folicular (Spicer y Echterkamp, 1995).

2.4.2 Sistemas de enfriamiento corporal

De acuerdo con Armstrong (1994) son cuatro los factores ambientales que influyen en la temperatura ambiental; la temperatura del aire, la humedad relativa, el movimiento del aire y la radiación solar. Se considera que cuando la

temperatura ambiental excede los 27°C con una humedad baja, las vacas lecheras están por encima de la zona de confort o zona termoneutral.

Comúnmente se usa el índice de temperatura y humedad (THI) para indicar el grado de estrés calórico en el ganado lechero. El THI se obtiene mediante una fórmula reportada por Ingraham *et al.* (1974), tomando en cuenta la temperatura y humedad promedio del día: $THI = (1.8 \times db + 32) - ((0.55 - 0.55 \times RH)((1.8 \times db + 32) - 58))$, en donde: db es bulbo seco y expresa la temperatura en °C y RH es la humedad relativa expresada en porcentaje. Se considera que cuando el valor del THI excede las 72 unidades, las vacas lecheras se encuentran bajo condiciones de estrés calórico.

Armstrong (1994) menciona que el organismo de la vaca lechera tiene la capacidad de responder severamente a los efectos del estrés calórico disminuyendo el consumo de alimento, incrementando el consumo de agua, cambiando la actividad metabólica y los requerimientos de mantenimiento, aumentando la pérdida de agua por evaporación, también se aumenta la frecuencia respiratoria, así mismo cambian los niveles hormonales en sangre y se incrementa la temperatura corporal.

Beede y Collier en 1986, citados por Armstrong (1994), sugieren tres esquemas de manejo para contrarrestar los efectos del estrés calórico: primero la modificación física del medio ambiente, segundo, el desarrollo de cruzas

genéticamente resistentes al calor y tercero, el manejo nutricional. Este mismo autor señala que para modificar el medio ambiente se puede incluir el uso de sombras y el enfriamiento corporal, ya que en países con climas cálidos, las sombras y sistemas de enfriamiento se consideran esenciales para la eficiencia de la producción lechera, de la fertilidad y en ocasiones hasta para la sobrevivencia del ganado lechero, por lo tanto toda inversión que se haga para reducir los efectos que tiene el estrés calórico en el ganado lechero debe ser redituable.

2.4.2.1 Descripción del sistema de enfriamiento corporal (Korral Kool)

El Korral Kool (Korral Kool Inc., Meza, AZ, USA) es un sistema de enfriamiento ambiental evaporativo diseñado en 1978 y desde 1981 se han instalado este tipo de sistema en diversos países tales como EUA, México, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes Unidos, con el objetivo de mejorar el confort, de reducir los efectos del estrés calórico y de aumentar la productividad de las vacas lecheras. El material del que está fabricado este sistema es galvanizado y consta de techo, ventiladores, aerosoles y cortinas de plástico con protección contra rayos ultravioleta.

El módulo de control del Korral Kool monitorea las condiciones ambientales, dependiendo de la temperatura y humedad varían los niveles de inyección de agua, que modifican el medio ambiente de la vaca que también

puede utilizar sus mecanismos naturales para la disipación del calor. La sensibilidad del módulo de la detección de las condiciones ambientales puede ser programada.

El sistema Korral Kool es efectivo en áreas con humedad baja, el funcionamiento consiste en la inyección de finas gotas de agua que salen como nebulizaciones para evitar la acumulación de agua en el suelo del corral con sombra donde se encuentra el ganado, algunas pequeñas gotas pueden depositarse en la capa de pelo y causar un aumento de la temperatura en la vaca, sin embargo, el movimiento del aire provocado por los ventiladores propios del mismo sistema puede disminuir la temperatura por evaporación. También el sistema cuenta con cortinas de plástico que se pueden bajar para conservar la temperatura y bloquear las radiaciones solares, y subir cuando el sistema está apagado o cuando la velocidad del viento es mayor de 37 km/h (Armstrong, 1994).

2.5 Efecto de la condición corporal sobre los programas de sincronización de la ovulación

La condición corporal (CC) es una medida subjetiva que estima la cantidad de grasa subcutánea en la vaca y el rango es desde 1 a 5 dependiendo de la cantidad de grasa del animal (Ferguson *et al.*, 1994). Esta condición puede influenciar en el inicio de la ciclicidad estral y en el

comportamiento reproductivo postparto, así como también en las tasas de preñez de los protocolos de TAI, en donde una baja condición corporal <2.5 provoca pérdidas económicas considerables en los establos lecheros (Domecq *et al.*, 1997).

Ambrose *et al.* (1999) encontraron que en las vacas lecheras bajo estrés calórico que fueron receptoras en la transferencia de embriones, existe una asociación positiva entre la condición corporal y las tasas de preñez.

También Moreira *et al.* (2000a) reportaron que las vacas con condición corporal baja, al inicio del protocolo de ovsynch redujeron las tasas de preñez a los 27 días posteriores a la TAI comparado con un grupo control (18.1 % vs 33.8 %, respectivamente) y a los 45 días posteriores a la TAI (11.1 % vs 25.6 %). Además de que las vacas con condición corporal baja, en ese trabajo se relacionó con una menor concentración de progesterona al momento de la primera GnRH. De la misma forma estos autores plantean que la condición corporal al inicio de la sincronización de la ovulación está correlacionada con las tasas de preñez, este efecto aparentemente puede ser respuesta de los niveles de progesterona y la calidad de los cuerpos lúteos.

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en el establo Ampuero localizado en el km 6.5 de la carretera Torreón-Mieleras del municipio de Torreón, Coahuila, situado en la latitud 26° Norte, longitud 103° Oeste y a una altitud de 1,140 m sobre el nivel del mar (Schmidt, 1989), la temperatura promedio es de 23.4 °C y la precipitación pluvial promedio anual es de 230 mm³ (C.N.A., 2003). El establo cuenta con una población total de 2,500 animales, en sistema intensivo, teniendo un promedio de producción diaria de 32.57 litros por vaca, llevándose a cabo 3 ordeñas diarias iniciando la primera a las 08:00 h, la segunda a las 16:00 h y la tercera a las 24:00 h.

3.2 Descripción de los animales

Se utilizaron vacas Holstein-Friesian, con 45 días postparto, de entre dos y cuatro partos, con pesos corporales que oscilaron entre 500–600 kg, con una producción láctea similar y en buen estado de salud. Las vacas fueron alimentadas a libre acceso con una dieta con una proporción de forraje / concentrado de 48.5 / 51.5, respectivamente, el alimento fue ofrecido por la mañana, tarde y noche coincidiendo con el horario de las ordeñas, siendo el

consumo de materia seca de 25.0 kg por vaca por día; conteniendo la ración por cada kg 17.4% de proteína cruda, de energía 1.7 megacalorías, de extracto etéreo 8.85 %, de fibra neutro detergente 27.12 %, de calcio 1.07 % y de fósforo 0.45 %. A todas las vacas del establo se les aplicó rutinariamente rbST, cada 14 días, a partir del día 60 hasta el día 196 postparto.

A todas las vacas se les practicó un examen ginecológico a los 17 ± 2 días postparto mediante palpación rectal, y los animales que presentaron trastornos reproductivos como descarga vaginal o uterina anormal no se incluyeron en el experimento. Para la clasificación de la CC se utilizó el sistema de medidas desarrollado en vacas lecheras de EUA por Ferguson *et al.* (1994) y la escala varía desde 1 para una vaca delgada, a 5 para una vaca obesa.

El diagnóstico de gestación se realizó a los 43 ± 3 días postinseminación por palpación rectal. Las vacas que volvieron a presentar estro fueron inseminadas en todos los grupos y consideradas como vacías al primer servicio.

Las vacas estuvieron en corrales con enfriamiento ambiental artificial (Korral Kool) que se activaba al detectar una temperatura ambiental de 26 °C en su interior y que mediante campanas con ventiladores y aerosoles lograban mantener una temperatura ambiental de hasta 12 °C menos dentro del área con cortinas de plástico con respecto a la temperatura ambiental exterior.

3.3 Diseño del experimento

Este estudio se realizó en un establo comercial, debido a esto el tratamiento control fue diseñado basado en el manejo reproductivo rutinario del establo. El tiempo de espera voluntario del establo fue de 45 días (tiempo que se transcurre entre el parto y la primera IA, que se determina a voluntad).

3.3.1 Invierno

Los programas de sincronización de la ovulación y la inseminación a tiempo fijo se evaluaron en cuatro tratamientos diferentes distribuidos aleatoriamente (22 animales x 4 tratamientos) + (22 vacas control) n = 110. La estación de invierno del 2002, en la cual se llevó a cabo la primera parte del experimento, comprendió los meses de enero, febrero y marzo. En el cuadro 1 se describen los tratamientos que se realizaron.

3.3.2 Verano

Los programas de sincronización de la ovulación y la inseminación a tiempo fijo se evaluaron en cuatro tratamientos diferentes distribuidos aleatoriamente (22 animales x 3 tratamientos + un tratamiento de 21 animales) + (22 vacas control) n = 109. La segunda parte del experimento se realizó en la estación de verano del 2003, que comprendió los meses de junio, julio y agosto.

En el cuadro 2 se describen los tratamientos que se realizaron en la primera parte.

Cuadro 1. Protocolo de tratamientos de la sincronización de estro y de la ovulación, de las vacas Holstein llevados a cabo en el invierno de 2002.

Tratamiento	n	Días postparto							
		30	42	45	52	53	54	55	
T1 control	22	PG	PG	◇					
T2 ovsynch	22	PG		GnRH	PG		GnRH	IA	
T3 heatsynch	22	PG		GnRH + rbST	PG		GnRH	IA	
T4 ovsynch + rbST	22	PG		GnRH	PG	ECP		IA	
T5 heatsynch + rbST	22	PG		GnRH + rbST	PG	ECP		IA	

PG: PGF2 α 25 mg, im; GnRH; 100 μ g, im; ECP: 1 mg, im; rbST: 500 mg, sc; IA: inseminación artificial; ◇: IA al celo.

Cuadro 2. Protocolo de tratamientos de la sincronización de estro y de la ovulación, de las vacas Holstein llevados a cabo en el verano de 2003.

Tratamiento	n	Días postparto							
		30	42	45	52	53	54	55	
T1 control	22	PG	PG	◇					
T2 ovsynch	22	PG		GnRH	PG		GnRH	IA	
T3 heatsynch	21	PG		GnRH + rbST	PG		GnRH	IA	
T4 ovsynch + rbST	22	PG		GnRH	PG	ECP		IA	
T5 heatsynch + rbST	22	PG		GnRH + rbST	PG	ECP		IA	

PG: PGF2 α 25 mg, im; GnRH; 100 μ g, im; ECP: 1 mg, im; rbST: 500 mg, sc; IA: inseminación artificial; ◇: IA al celo.

3.4 Monitoreo del clima y temperatura rectal

La temperatura ambiental y humedad relativa fueron registradas mediante un sensor de medición (Recorder Omega, Meza, Arizona, EUA) que detectó cada hora las condiciones ambientales dentro del corral y de esta manera se obtuvieron los datos para registrar el THI. La temperatura rectal se registró al momento de la IA mediante un termómetro digital.

3.5 Obtención de muestras de sangre para determinación de progesterona

Las muestras sanguíneas se colectaron de la vena coccígea a los 11 y 21 días posteriores a la inseminación artificial, se utilizaron agujas Vacutainer desechables en tubos de ensayo de 7.0 ml con 40.0 μ l de heparina como anticoagulante. Los tubos con las muestras obtenidas se centrifugaron a 3,000 rpm para la separación del plasma que se congeló en tubos Eppendorff a -20 °C. hasta el día de la determinación hormonal. Las muestras de plasma fueron enviadas a la Facultad de Ciencia Animal de la Universidad Estatal de Nuevo México, Las Cruces, Nuevo México, EUA, para la determinación de la progesterona y se utilizó el método de radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida para cuantificar los niveles de esta hormona, mediante un componente de un equipo comercial (Diagnostic Products Corp., Los Angeles, California). La sensibilidad de la prueba fue de 0.1 ng / ml y el coeficiente de variación en el ensayo y entre ensayos fue de 8.0 y 10.0 %, respectivamente.

3.6 Descripción del material utilizado para los tratamientos

Para la aplicación de los tratamientos se utilizaron jeringas de tres y cinco ml y agujas desechables, al momento de la inseminación se utilizó semen de toros de fertilidad probada. Los análogos comerciales de las hormonas utilizadas fueron: de la PGF2 α , Celocil, Schering-Plough, Friesoythe, Alemania; de la GnRH, Fertagyl, Intervet, Milán, Italia; del ECP, ECP, Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, MI, EUA; de la rbST, Boostin-s, Schering-Plough, Friesoythe, Alemania.

3.7 Variables evaluadas

Las variables evaluadas en este estudio fueron: las tasas de preñez a la primera, segunda, tercera inseminación y acumulativa (número de vacas diagnosticadas preñadas sobre número de vacas inseminadas), número de lactancia, producción de leche (a los 120 días postparto), THI, temperatura corporal al momento de la IA, CC (al momento del inicio del tratamiento), días abiertos hasta los 180 días (días desde el parto hasta completar 180 días postparto), porcentaje de vacas repetidoras (vacas no gestantes con más de tres inseminaciones) y los niveles de progesterona plasmática postinseminación para vacas gestantes y vacías, en la misma estación, entre estaciones y considerando sólo el efecto de los tratamientos.

3.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SYSTAT, versión 10. Para todos los animales las tasas de preñez a primera, segunda y tercera inseminación y acumulativa se determinaron por comparaciones de medias usando el método de χ^2 , al igual que el número de lactancia con relación a la tasa de preñez y el porcentaje de vacas repetidoras. Las tasas de preñez a la primera IA y acumulativa también se analizaron por medio de regresión logística con tratamiento, estación, condición corporal y producción de leche como variables independientes, con el programa estadístico de SAS (1996). La producción de leche y los datos de temperatura ambiental, humedad relativa y THI fueron evaluados usando ANOVA. Las temperaturas rectales al momento de la inseminación fueron examinadas con un análisis de varianza de dos vías, en la misma estación y entre estaciones (invierno y verano). Los niveles de progesterona se analizaron con la prueba de t de Student, comparándose las vacas gestantes y las vacías en la misma estación y entre estaciones.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Tasas de preñez

En invierno las tasas de preñez obtenidas con heatsynch a la primera IA fueron más elevadas ($P < 0.01$) que las del tratamiento control y el heatsynch + rbST, en la segunda IA con ovsynch fueron más altas ($P < 0.05$) y diferentes al ovsynch + rbST y al heatsynch + rbST. Sin embargo, en la tasas de preñez a la tercera IA y acumulativa, no se encontró diferencia para ninguno de los tratamientos (cuadro 3).

En verano las tasas de preñez (cuadro 4) no fueron diferentes en la primera IA, pero en la segunda IA el ovsynch + rbST fue diferente al tratamiento control ($P < 0.05$) y en la tercera inseminación el ovsynch tuvo diferencia con el tratamiento control ($P < 0.01$) y también con el ovsynch + rbST ($P < 0.05$). Las tasas de preñez acumulativa más elevadas se alcanzaron con ovsynch y ovsynch + rbST durante el verano ($P < 0.01$) con respecto al control.

Cuadro 3. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) en invierno.

T	IA			Acumulativa
	Primera	Segunda	Tercera	
T1	22.73 ^a (5/22)	29.41 (5/17)	41.67 (5/12)	68.18 (15/22)
T2	27.27 (6/22)	43.75 ^a (7/16)	44.44 (4/9)	77.27 (17/22)
T3	59.09 ^b (13/22)	22.22 (2/9)	14.28 (1/7)	72.72 (16/22)
T4	27.27 (6/22)	12.50 ^b (2/16)	28.57 (4/14)	54.54 (12/22)
T5	18.18 ^a (4/22)	16.16 ^b (3/18)	40.00 (6/15)	59.09 (13/22)
	P<0.01	P<0.05	NS	NS

T: Tratamiento; literales distintas en la misma columna difieren estadísticamente; NS: No hay diferencia significativa.

Cuadro 4. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) en verano.

T	IA			Acumulativa
	Primera	Segunda	Tercera	
T1	18.18 (4/22)	0.00 ^a (0/18)	0.00 ^a (0/18)	18.18 ^a (4/22)
T2	40.90 (9/22)	7.69 (1/13)	33.33 ^{b**} (4/12)	63.63 ^b (14/22)
T3	33.33 (7/21)	7.14 (1/14)	7.69 (1/13)	42.85 (9/21)
T4	22.72 (5/22)	23.52 ^b (4/17)	23.07 ^{b*} (3/13)	54.54 ^b (12/22)
T5	22.72 (5/22)	11.76 (2/17)	13.33 (2/15)	40.90 (9/22)
	NS	P<0.05	*P<0.05 **P<0.01	P<0.01

T: Tratamiento; literales distintas en la misma columna difieren estadísticamente; NS: No hay diferencia significativa.

El hecho de que las tasas de preñez a la primera IA en invierno, fueron más altas con heatsynch, coincide con lo que plantean Pursley *et al.* (1997b) y Barros *et al.* (2000) quienes señalan que los protocolos de sincronización de la ovulación con benzoato de estradiol pueden aumentar las tasas de preñez.

Las tasas de preñez a la primera IA con heatsynch sólo fueron más elevadas en invierno y no en verano, posiblemente debido a que el estrés calórico tiene efectos nocivos en el sistema endocrino y sobre la mortalidad embrionaria, como lo mencionan Alnimer *et al.* (2002).

Los resultados con ovsynch en invierno contrastan con el reporte de Pursley *et al.* (1995) quienes encontraron un aumento en las tasas de preñez a la primera IA en comparación con el grupo control, lo cual en este estudio no sucedió, aunque concuerda en que con ovsynch sí se elevaron las tasas de preñez en las inseminaciones subsecuentes.

En verano con ovsynch se obtuvieron las tasas de preñez más altas a la primera IA, pero no se encontraron diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos, ni al control, y estos resultados concuerdan con los que reportan Pursley *et al.* (1997b) quienes encontraron 38.9 % vs 37.8 % para el grupo control vs el grupo tratado. En cuanto a los resultados en las inseminaciones siguientes, se encontraron diferencias ($P < 0.01$) en las tasas de

preñez en la tercera IA y en la acumulativa con ovsynch con y sin rbST vs el control.

En el cuadro 5 se observa la comparación de las tasas de preñez sin considerar la estación, en la primera inseminación se encontraron diferencias entre heatsynch y ovsynch + rbST, el heatsynch + rbST y el control ($P < 0.01$).

Cuadro 5. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo (T1) y a tiempo fijo (T2, T3, T4, T5) sin considerar el efecto de la estación.

T	IA			Acumulativa
	Primera	Segunda	Tercera	
T1	20.45 ^a (9/44)	14.29 (5/35)	16.66 (5/30)	43.18 ^{a**} (19/44)
T2	34.09 (15/44)	27.59 (8/29)	38.10 ^a (8/21)	70.45 ^{b**} (31/44)
T3	46.51 ^b (20/43)	13.04 (3/23)	10.00 ^b (2/20)	58.13 (25/43)
T4	25.00 ^a (11/44)	18.18 (6/33)	25.93 (7/27)	54.54 (24/44)
T5	20.45 ^a (9/44)	14.28 (5/35)	26.66 (8/30)	50.00 ^{a*} (22/44)
	P<0.01	NS	P<0.05	*P<0.05 **P<0.01

T: Tratamiento; literales distintas en la misma columna difieren estadísticamente; NS: No hay diferencia significativa.

Cole y Hansen (1993) mencionan que el uso de la rbST en las vacas lecheras bajo estrés calórico incrementa la severidad de la respuesta a esta condición ambiental, probablemente como un reflejo del aumento de la producción de calor asociado con la mayor producción de leche o a la incapacidad de disiparlo por el efecto directo de la rbST. La aplicación de rbST

en el día 45 postparto tuvo efecto adverso sobre las tasas de preñez, ya que en los tratamientos en los que se les aplicó rbST fueron más bajas, posiblemente asociado a un balance energético negativo que tienen todas las vacas lecheras en el postparto como lo reportan Kirby *et al.* (1997) y que está relacionado con la infertilidad de las vacas lecheras durante este periodo, lo cual a su vez está aunado al aumento de la producción de leche (Butler y Smith, 1989) y esto, además del estrés calórico, provoca mayor movilización de grasa corporal, lo cual altera aún más el desbalance de energía (Tarazon-Herrera *et al.*, 1999).

Los resultados de este estudio contrastan con los obtenidos por Moreira *et al.* (2002) y Thatcher *et al.* (2002) quienes reportaron un incremento en las tasas de preñez en vacas a primer servicio sometidas a TAI en combinación rbST, sin embargo, los resultados de este trabajo coinciden con los encontrados por Mendoza en 2000, citado por Hernández y Díaz (2003) quienes encontraron que el tratamiento de rbST en vacas de primer servicio no favoreció los porcentajes de concepción.

Probablemente, el efecto de la rbST en la fertilidad se da durante los primeros días postinseminación, en los cuales el embrión es más susceptible a cualquier alteración en el ambiente del oviducto y uterino (Hernández y Díaz, 2003). Estos mismos autores también reportan que con la aplicación de la rbST en vacas repetidoras el día de la TAI se pueden incrementar las tasas de preñez, ya que normalmente estas vacas se encuentran más alejadas del

balance energético negativo, del pico de producción láctea o de cualquier problema relacionado con el postparto temprano. Es por eso que se puede pensar que la rbST, aplicada en vacas de primer servicio cuando ya han dejado de perder peso corporal, probablemente aumenta las tasas de preñez.

En este estudio las tasas de preñez fueron más altas en invierno que en el verano como se aprecia en el cuadro 6; sin embargo, las diferencias de las tasas de preñez en los tratamientos entre estaciones no fueron significativas a la primera IA, pero sí se observaron diferencias a la segunda y tercera inseminación ($P < 0.05$) y en la acumulativa ($P < 0.01$).

Cuadro 6. Tasas de preñez (%) de vacas sincronizadas e inseminadas por detección de celo en cada estación, sin considerar el efecto de los tratamientos.

Estación	IA			Acumulativa
	Primera	Segunda	Tercera	
Invierno	30.91 (34/110)	25.00 ^a (19/76)	35.09 ^a (20/57)	66.36 ^a (73/110)
Verano	27.52 (30/109)	10.13 ^b (8/79)	14.08 ^b (10/71)	44.03 ^b (48/109)
	NS	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.01$

Literales distintas en la misma columna difieren estadísticamente; NS: No hay diferencia significativa.

Las tasas de preñez fueron más bajas en verano, debido posiblemente a que en esa estación el estrés calórico tuvo efecto sobre la eficiencia reproductiva de las vacas (Wolfenson *et al.*, 2000) ya que esta condición afecta

directamente el sistema endocrino y compromete la supervivencia del embrión (Alnimer *et al.* 2002).

4.2 Número de lactancia y producción de leche

El número de lactancia (2.80 ± 0.78 en invierno y 2.86 ± 0.78 en invierno; NS) no tuvo efecto sobre las tasas de preñez a la primera IA sin considerar los tratamientos ni la estación, ya que no se encontraron diferencias estadísticas en las vacas de segunda, tercera y cuarta lactancia (cuadro 7).

Cuadro 7. Tasa de preñez (%) en la primera IA por número de lactancia sin considerar los tratamientos ni la estación.

Número de lactancia	Tasas de preñez a la primera IA
2	28.16
3	32.58
4	25.32
	NS

NS: No hay diferencia significativa

En cuanto a la producción de leche a los 120 días postparto, se encontró diferencia ($P < 0.001$) entre invierno y verano ($5,307 \pm 91.40$ vs $4,833.88 \pm 91.82$). Al realizar la evaluación sin considerar la estación, como se muestra en el cuadro 8, se encontró que el T3 tuvo mayor producción comparado con el T5 ($P < 0.05$), sin embargo, esto no afectó a las tasas de preñez, ya que fueron más

elevadas en el tratamiento en que se tuvieron las mayores producciones de leche.

Cuadro 8. Medias de mínimos cuadrados \pm EEM de la producción de leche (kg) a los 120 días postparto con relación a las tasas de preñez en la primera IA sin considerar la estación en los protocolos de sincronización de estro y de TAI.

T	Primera IA	Producción de leche en kg a 120 días \pm EEM
1	20.45 ^a (9/44)	4989 \pm 147.60
2	34.09 (15/44)	5142 \pm 147.60
3	46.51 ^b (20/43)	5332 \pm 149.31 ^a
4	25.00 ^a (11/44)	5093 \pm 147.60
5	20.45 ^a (9/44)	4806 \pm 147.60 ^b
	P<0.01	P<0.05

T: Tratamiento; IA: inseminación artificial; literales distintas en la misma columna difieren estadísticamente.

Los resultados en este estudio coinciden con el reporte de Momcilovic *et al.* (1998) quienes encontraron que el número de lactancia no afectó negativamente, ya que no hubo diferencias en las tasas de preñez para las vacas de primera, segunda o tercera lactancia.

La producción de leche a los 120 días postparto fue diferente solamente entre el T3 y el T5, pero no se afectaron las tasas de preñez a la primera IA, lo que está en contraste con lo que reportan Macmillan *et al.* (1996), quienes

afirman que la alta producción de leche disminuye la fertilidad, lo cual en este estudio no ocurrió ya que las vacas del T3 fueron las que mayor producción de leche y mayor desempeño en las tasas de preñez tuvieron en comparación con las vacas del T5 y esto coincide con el estudio de Tenhagen *et al.* (2001) que reportan que no hubo influencia de la producción de leche sobre la fertilidad utilizando el protocolo de sincronización ovsynch.

4.3 Temperatura ambiente, humedad relativa, THI y temperatura rectal

Con respecto a la temperatura ambiente, a la humedad relativa y al THI dentro del corral con enfriamiento se encontraron diferencias ($P < 0.01$) entre invierno y verano aún cuando las vacas estuvieron expuestas a temperaturas menos elevadas. La temperatura rectal al momento de la IA también fue diferente ($P < 0.01$) entre estación como se observa en el cuadro 9.

Cuadro 9. Medias de mínimos cuadrados (\pm EEM) de la temperatura ambiente, humedad relativa, del THI dentro del corral con enfriamiento y temperatura rectal en la IA.

Estación	Temperatura ambiente (°C)	Humedad relativa (%)	THI (unidades)	Temperatura rectal (°C)
Invierno	20.10 (\pm 0.43) ^a	31.97 (\pm 0.59) ^a	64.38 (\pm 0.48) ^a	38.63 (\pm 0.02) ^a
Verano	25.63 (\pm 0.12) ^b	53.19 (\pm 0.62) ^b	72.92 (\pm 0.13) ^b	38.87 (\pm 0.04) ^b

Literales distintas en la misma columna difieren $P < 0.01$

Las diferencias en la temperatura ambiente, en la humedad relativa, en el THI y en la temperatura rectal, permiten inferir que el sistema de enfriamiento evaporativo ambiental mitiga el estrés calórico en el verano pero no es suficiente para eliminarlo totalmente, ya que cuando el THI excede de 72 unidades afecta negativamente la productividad en las vacas lecheras, lo que coincide con Armstrong (1994) quien plantea que los efectos del estrés calórico de las vacas lecheras pueden ser disminuidos con el uso de métodos de enfriamiento artificial y el grado de efectividad varía dependiendo del tipo de sistema utilizado, clima y producción de las vacas, por lo que debe hacerse un análisis de costo-beneficio de un sistema en particular para cada tipo de establo. Flamenbaum *et al.* (1995) reportan un incremento en las vacas altas productoras de hasta 1.9 kg de leche por día con el uso del Korral Kool, así el beneficio del sistema de enfriamiento ambiental sobre la producción láctea se reflejó en este estudio por encima del obtenido en la fertilidad ya que las variables climáticas, de temperatura rectal y las tasas de preñez a la segunda, tercera IA y acumulativa fueron diferentes en invierno y en verano.

4.4 Condición corporal

En las CC no se encontraron diferencias entre tratamientos (T1, 2.79 ± 0.03 ; T2, 2.78 ± 0.04 ; T3, 2.74 ± 0.03 ; T4, 2.72 ± 0.02 y T5 2.71 ± 0.02) ni entre estaciones (invierno 2.73 ± 0.22 vs verano 2.77 ± 0.22) y con respecto a las tasas de preñez se encontró que la condición corporal a la primera IA tuvo una

tendencia a ser diferente ($P=0.09$) para las vacas con condición corporal igual o mayor a 3 (CC B) en comparación con aquellas que tenían condición corporal menor a 3 (CC A) y en las tasas de preñez a 180 días postparto no se encontraron diferencias (figura 1).

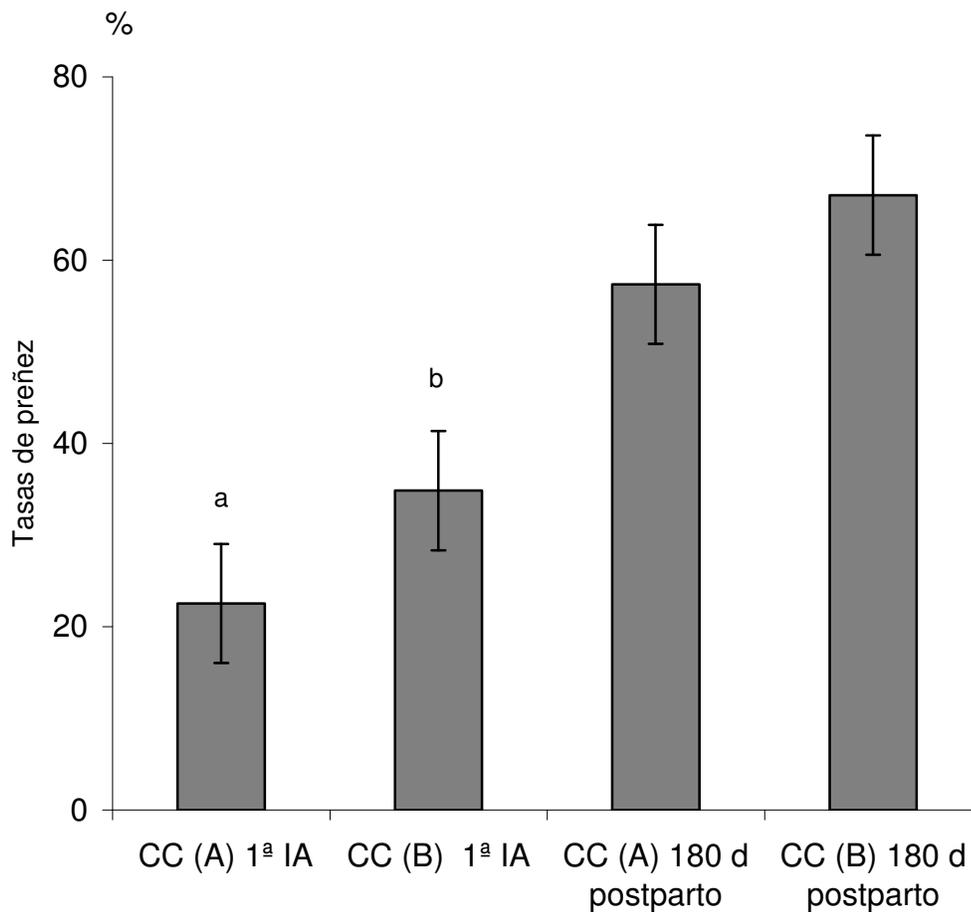


Figura 1. Tasas de preñez por CC a la primera IA y a los 180 días postparto en vacas con CC menor a 3 vs vacas con CC igual o mayor a 3 en los protocolos de TAI (A= CC <3; B= CC 3 ó >3; Literales distintas indican tendencia estadística $P=0.09$).

Momcilovic *et al.* (1998) reportaron que la condición corporal no tuvo efecto significativo en las tasas de preñez cuando se utilizó sincronización de estro vs sincronización de la ovulación. Sin embargo, en este estudio las tasas de preñez más elevadas se obtuvieron en las vacas con CC igual ó mayor a 3 al inicio de la sincronización de la ovulación, sin considerar el tratamiento, además de que se encontró una relación positiva ($P < 0.05$) entre la CC y las tasas de preñez a la primera IA, lo que coincide con lo que reportan Burke *et al.* (1996) y Moreira *et al.* (2000a).

4.5 Días abiertos

En la figura 2 se muestra que los días abiertos en invierno fueron diferentes ($P < 0.01$) con heatsynch en comparación con heatsynch + rbST y con ovsynch solo y con rbST ($P < 0.05$); sin embargo, no hubo diferencia con el tratamiento control. En el verano no se encontraron diferencias para ninguno de los tratamientos. En la figura 3 se observa que al comparar los mismos tratamientos, pero en diferente estación, no hubo diferencias estadísticas.

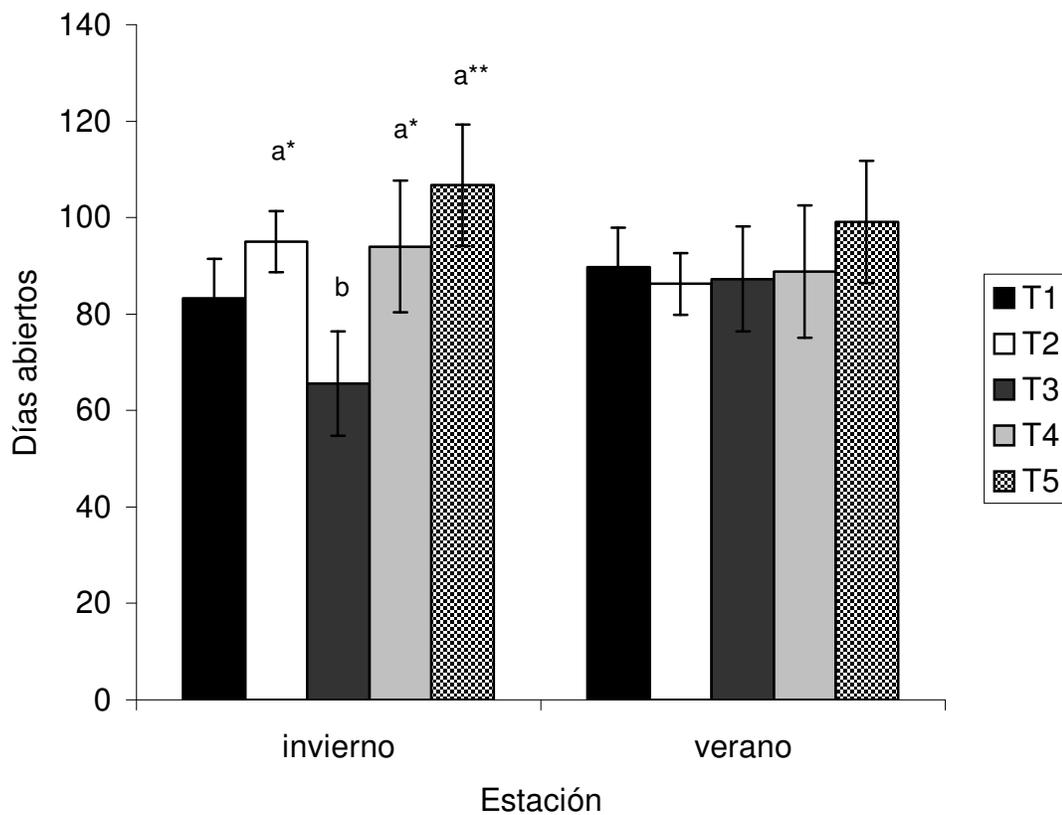


Figura 2. Días abiertos entre tratamientos en cada estación en que se llevaron a cabo los protocolos de TAI (Literales distintas difieren estadísticamente, * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$)

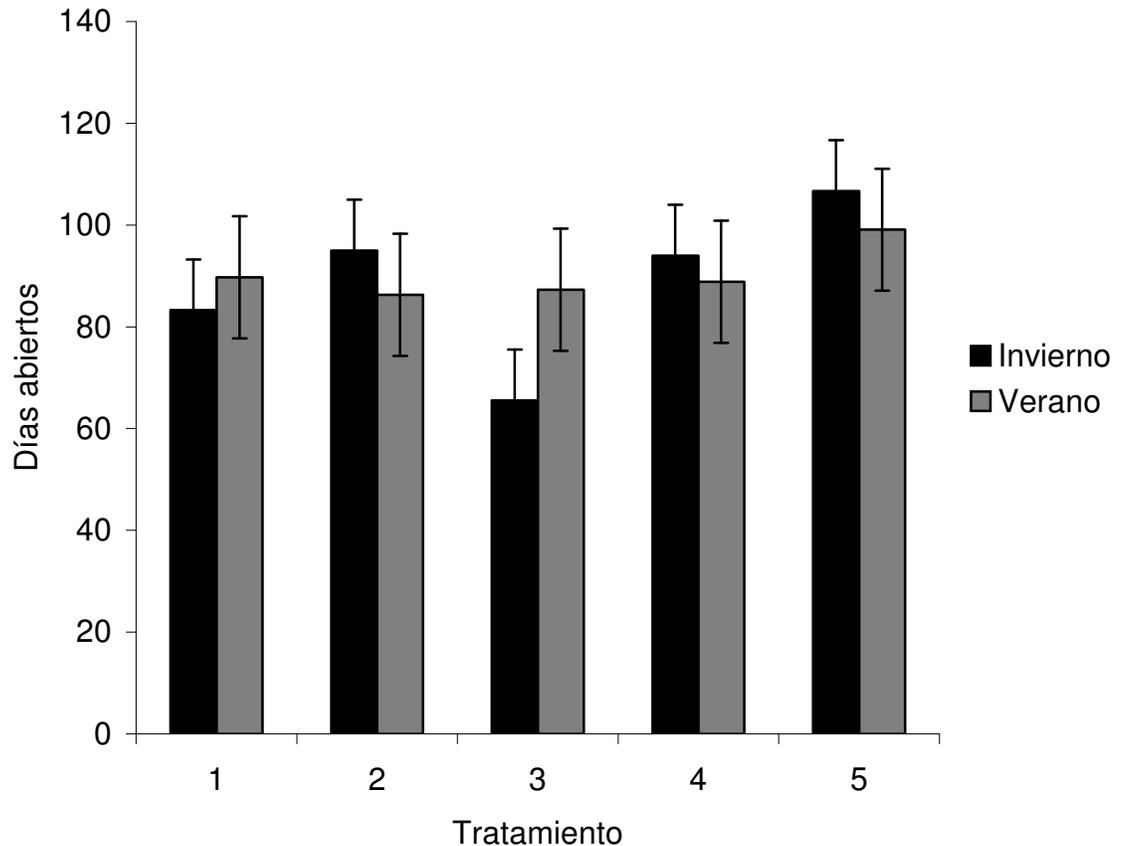


Figura 3. Días abiertos en los protocolos de TAI comparando el mismo tratamiento en diferente estación (Literales distintas difieren estadísticamente).

Con heatsynch los días abiertos en invierno fueron menores que cuando se utilizó heatsynch + rbST y también en comparación al ovsynch con y sin rbST y aunque fueron menores que con el control no hubo diferencias estadísticas, lo que también reportaron Fernandes *et al.* (2001) quienes sustituyeron la última inyección de GnRH por benzoato de estradiol, encontrando tasas de preñez similares al primer servicio con el ovsynch y el heatsynch (47.7 % vs 43.3 %) en vacas de la raza Limousine, al igual que en

vacas cíclicas de la raza Nelore; sin embargo, al utilizar los mismos protocolos en vacas de esta misma raza en fase de anestro no se obtuvieron buenos resultados para ninguno de los dos tratamientos, posiblemente por falta de una sincronía de la fase lútea o entre el momento de la IA y la ovulación. En este estudio los resultados encontrados con ovsynch en los días abiertos, contrastan con los de Pursley *et al.* (1995) ya que no hubo diferencia con el control en invierno ni en verano.

4.6 Porcentaje de vacas repetidoras

Con respecto al porcentaje de vacas repetidoras en cada una de las estaciones, no se encontraron diferencias significativas para ningún tratamiento en el invierno. En el verano no se encontraron diferencias, sin embargo, se observaron tendencias estadísticas ($P=0.06$) entre el T1 y T2, tal y como se puede ver en la figura 4.

En la figura 5, se muestra que al comparar el porcentaje de vacas repetidoras entre tratamientos pero en diferente estación, se encontró que el porcentaje de vacas repetidoras en el T1 en invierno fue menor que en el verano ($P<0.05$) mientras que los otros tratamientos fueron similares.

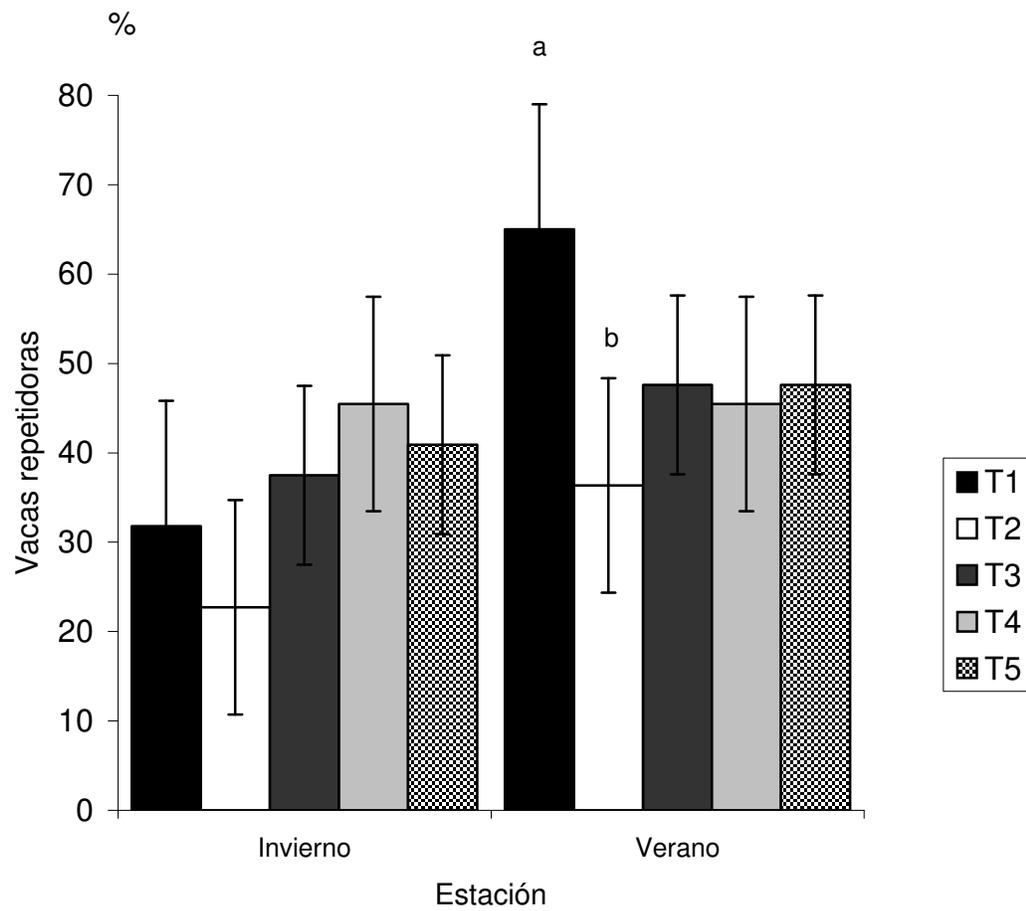


Figura 4. Porcentaje de vacas repetidoras entre tratamientos en cada estación en que se llevaron a cabo los protocolos de TAI (Literales distintas indican tendencia estadística $P=0.06$).

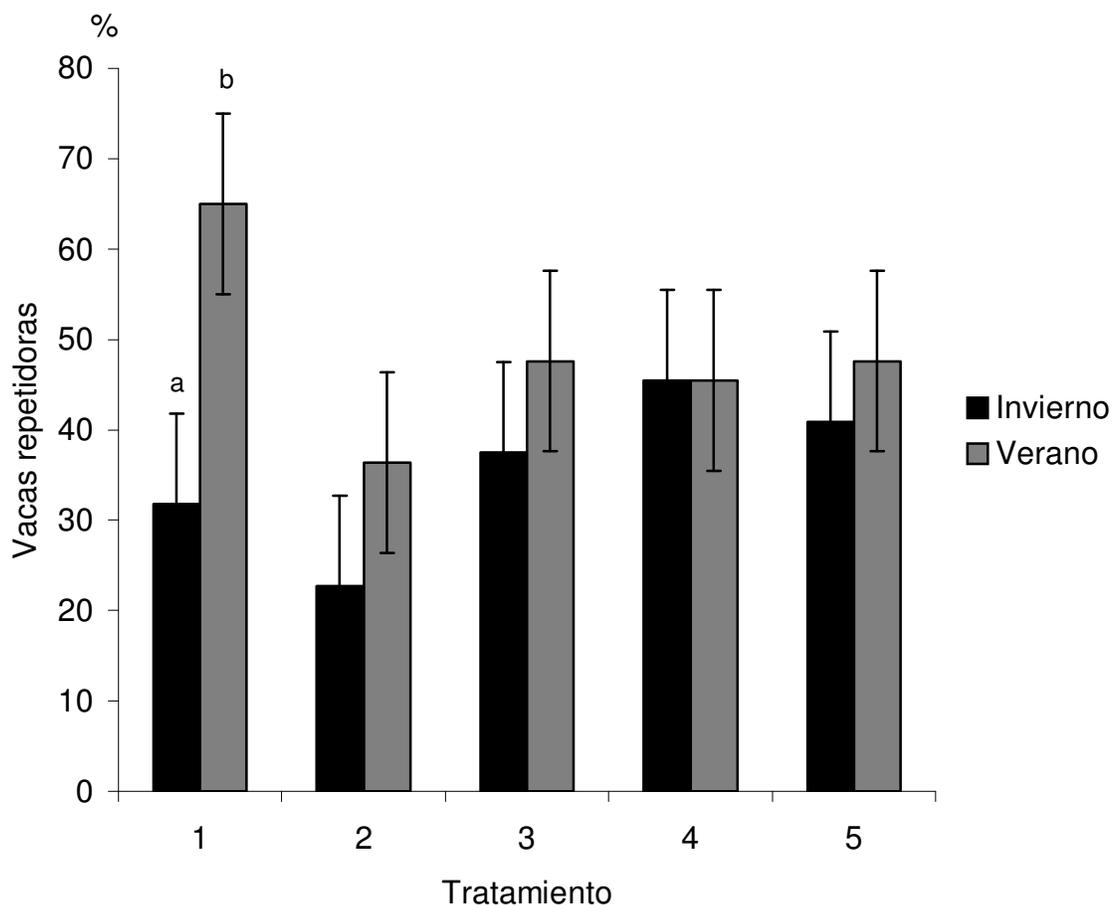


Figura 5. Porcentaje de vacas repetidoras en los protocolos de TAI comparando el mismo tratamiento en diferente estación (Literales distintas difieren estadísticamente $P < 0.05$).

En la figura 6 se muestran los resultados obtenidos al comparar los tratamientos sin considerar la estación. A pesar de que no se encontraron diferencias sí se observaron tendencias estadísticas ($P = 0.06$) entre el T1 vs el T2, ya que este último fue el que tuvo menor porcentaje de vacas repetidoras, seguido del T3 mientras que el T1 y los tratamientos a los que se les aplicó

rbST (T4 y T5) fueron los que presentaron mayor porcentaje de vacas repetidoras sin llegar a ser estadísticamente diferentes.

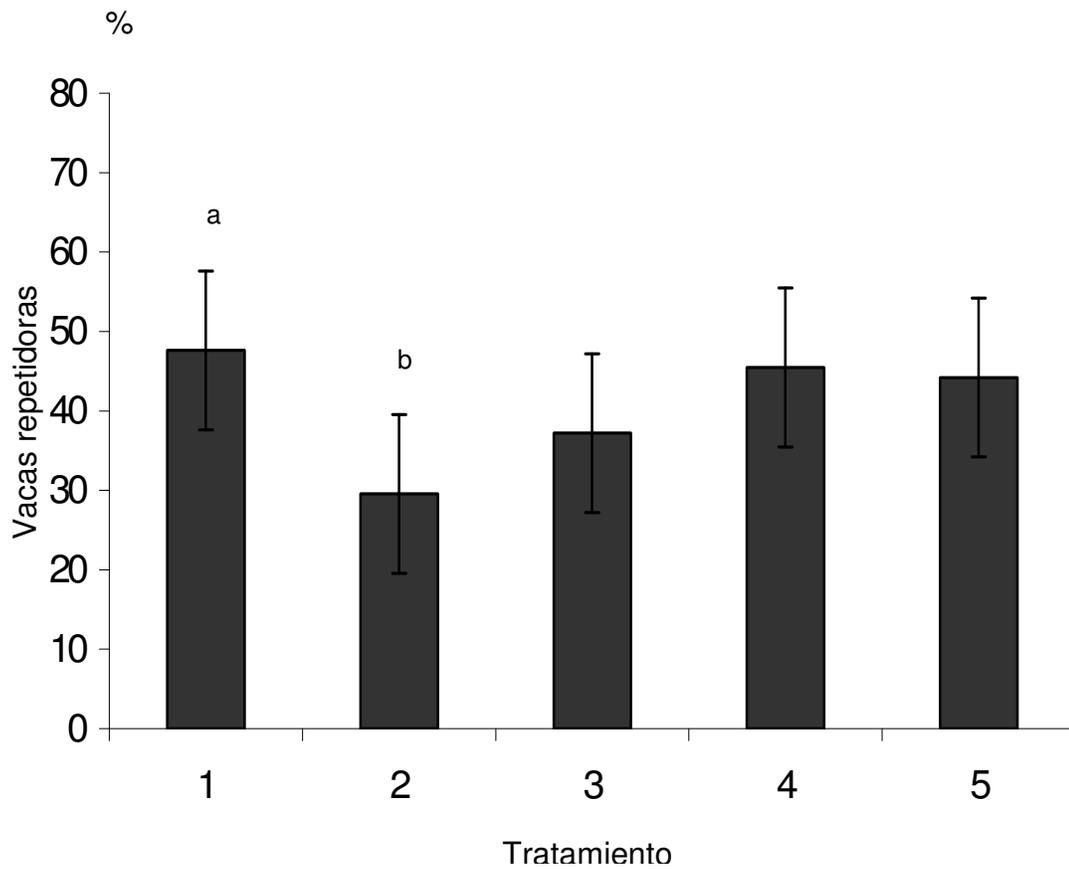


Figura 6. Porcentaje de vacas repetidoras por tratamiento sin considerar el efecto de la estación (Literales distintas indican tendencia estadística $P=0.08$).

En la figura 7 se muestran los resultados obtenidos del efecto de la estación sin considerar el efecto de los tratamientos en el porcentaje de vacas repetidoras, donde se puede observar que se encontró diferencia ($P < 0.05$) en invierno vs verano.

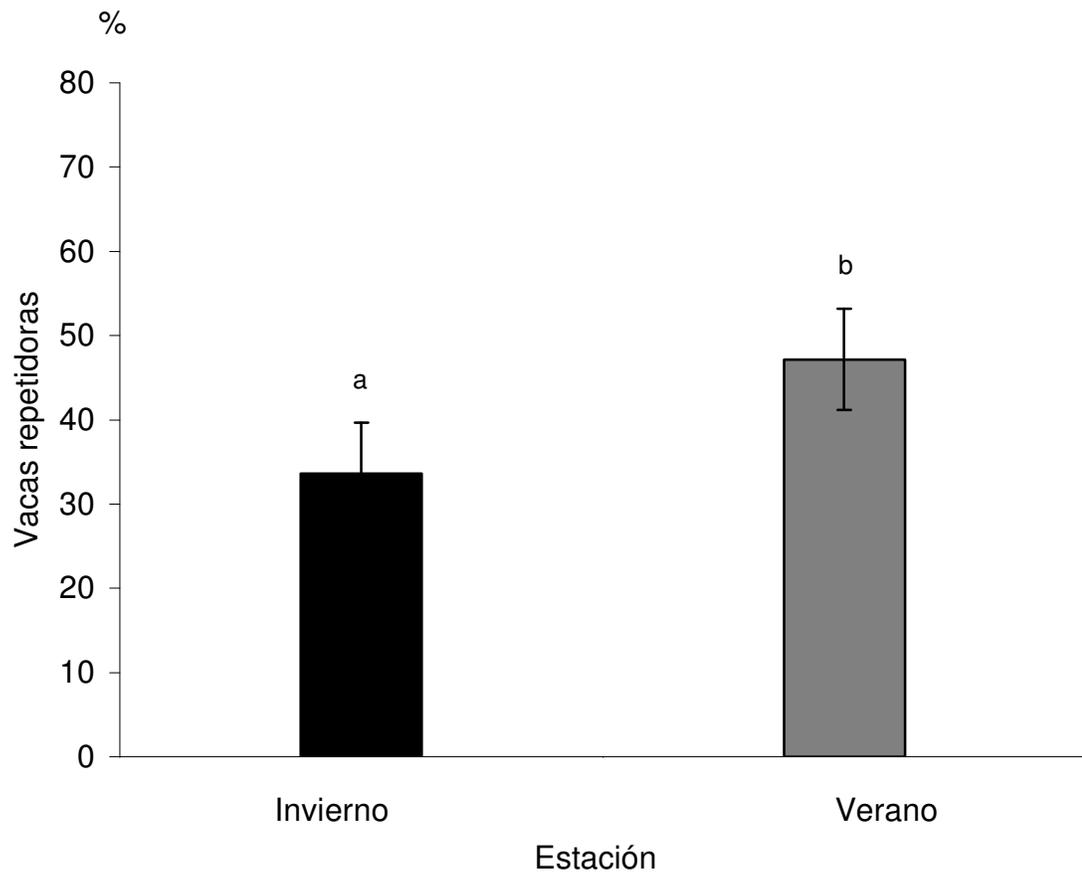


Figura 7. Porcentaje de vacas repetidoras por estación sin considerar el efecto de los tratamientos (Literales distintas difieren estadísticamente $P < 0.05$).

En este estudio no se encontraron diferencias en el porcentaje de vacas repetidoras en invierno, que tuvo un valor promedio del THI de 64.38 unidades y posiblemente por eso, no se mostraron tan marcadamente los efectos negativos de la rbST, que sí se observaron en el caso de las vacas tratadas con rbST en el verano y que de acuerdo con Cole y Hansen (1993) se pueden exacerbar por efecto de las temperaturas ambientales altas.

Al realizar el análisis en el verano se pudo observar un efecto negativo del estrés calórico al estar las vacas sometidas a un THI promedio de 72.92, sobre todo en el T1 ya que tuvo una mayor proporción de vacas repetidoras en comparación con las vacas del T2 (65.0 % vs 36.3 %, respectivamente), pero con los otros tratamientos no se encontraron diferencias. Al comparar las vacas repetidoras en el mismo tratamiento pero en diferente estación sólo se encontró diferencia en el T1, lo que confirma el efecto del estrés calórico mencionado anteriormente; sin embargo, no afectó a los otros tratamientos, aunque al T4 y T5 se les aplicó rbST estando bajo este mismo estrés en el verano. Cordoba y Fricke (2001) tampoco encontraron diferencias al comparar el protocolo ovsynch con un programa de sincronización en base prostaglandinas, de la misma forma se compararon los tratamientos sin considerar la estación coincidiendo con este reporte, sin embargo, se encontraron tendencias estadísticas ($P=0.08$) solamente entre el T1 vs el T2.

En este trabajo se pudo observar el efecto negativo de la estación de verano sobre el porcentaje de vacas repetidoras, contrario a lo que obtuvieron de la Sota *et al.* (1998) quienes mencionan que el protocolo de sincronización de la ovulación aumentó el rendimiento reproductivo en vacas bajo estrés calórico; aunque es conocido que el estrés calórico afecta negativamente el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras (Rensis y Scaramuzzi, 2003; West, 2003). Armstrong (1994) reporta que las vacas con producción lechera alta y las multíparas son las más susceptibles a estos efectos.

4.7 Concentración de progesterona plasmática posterior a la IA

Las concentraciones plasmáticas de progesterona en invierno se pueden observar en la figura 8. Al comparar los valores de las vacas gestantes vs las de las vacías, en el día 11 posterior a la IA, no se encontró diferencia (1.38 vs 1.59 ng/ml) y en el día 21 posterior a la IA tampoco mostraron diferencia (1.71 vs 1.25 ng/ml).

En el verano (figura 9) no se encontró diferencia en los niveles de progesterona plasmática en el día 11 posterior a la IA de las vacas gestantes y de las vacías (1.79 vs 1.46 ng/ml), pero sí se encontró diferencia ($P < 0.05$) en el día 21 (2.13 vs 1.21 ng/ml).

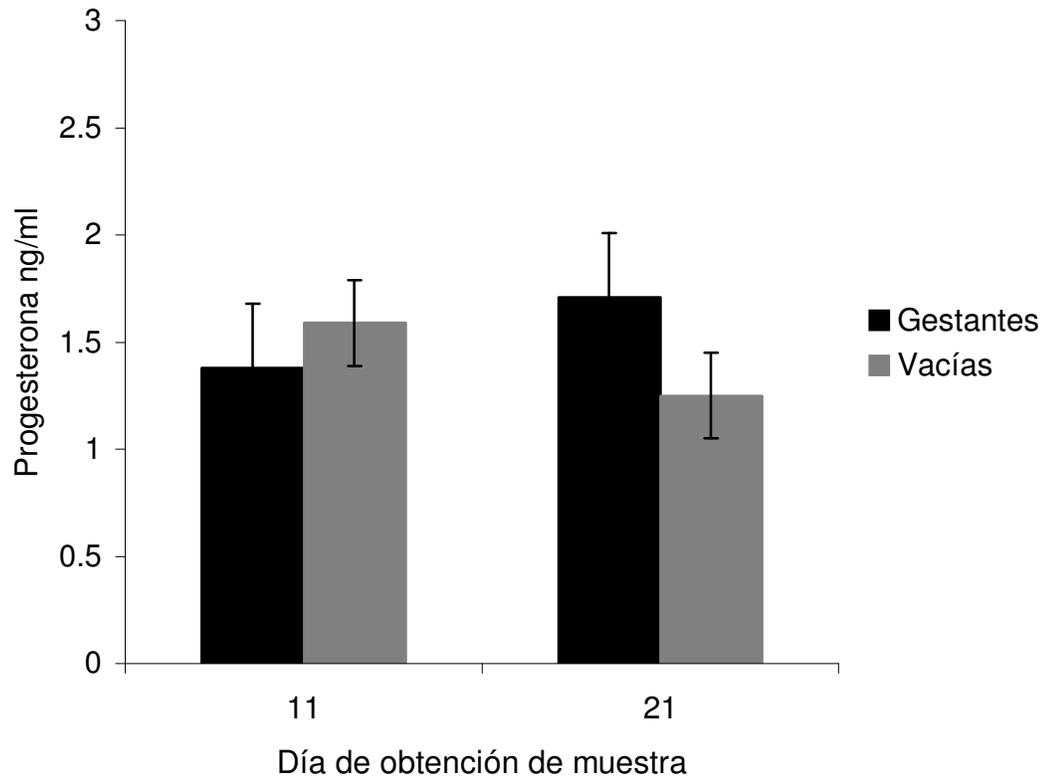


Figura 8. Concentraciones plasmáticas de progesterona en el día 11 y 21 posterior a la IA de vacas gestantes vs vacas vacías en el invierno (Literales distintas difieren estadísticamente).

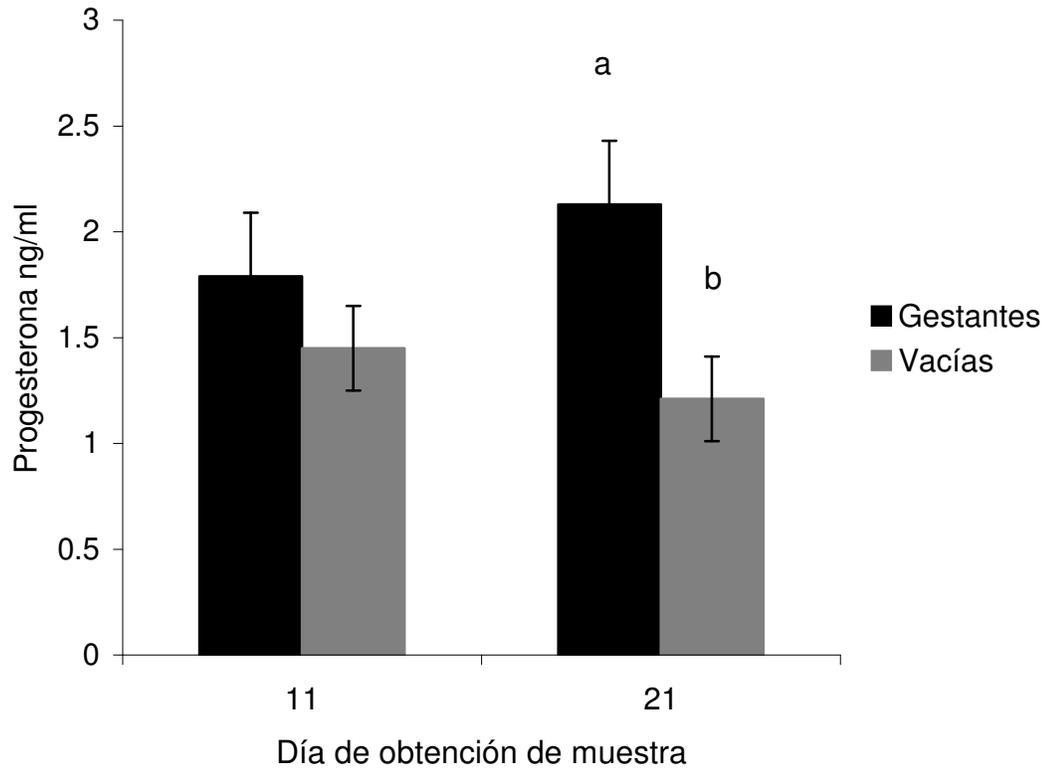


Figura 9. Concentraciones plasmáticas de progesterona en el día 11 y 21 posterior a la IA de vacas gestantes vs vacas vacías en el verano (Literales distintas difieren estadísticamente $P < 0.05$).

En la figura 10 se muestran los niveles plasmáticos de progesterona sin considerar la estación en el día 11 posterior a la IA, no encontrándose diferencia (gestantes 1.42 vs vacías 1.66 ng/ml), sin embargo, al día 21 sí se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre las vacas gestantes y las vacías (1.82 vs 1.23 ng/ml).

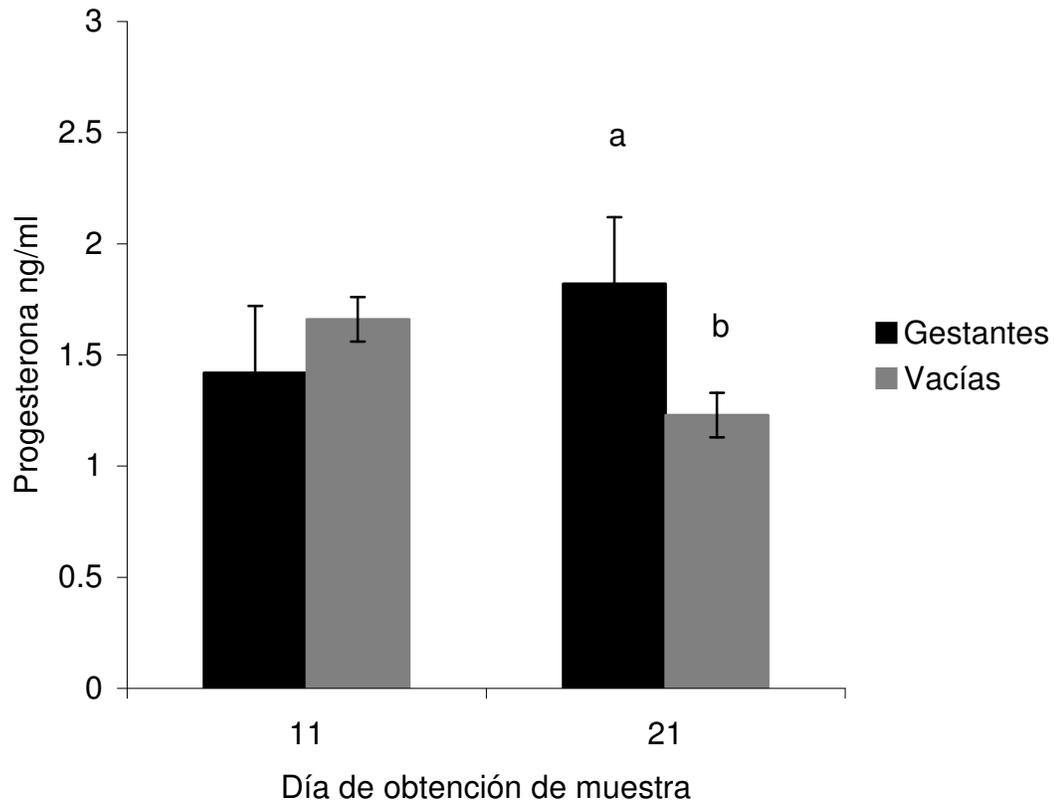


Figura 10. Concentraciones plasmáticas de progesterona en el día 11 y 21 posterior a la IA para vacas gestantes vs vacas vacías sin considerar la estación (Literales distintas difieren estadísticamente $P < 0.05$).

En este estudio se observó que los niveles de progesterona en el día 11 postinseminación no tuvieron diferencias en ninguna estación, ya que como afirman Trout *et al.* (1998) las vacas sincronizadas estuvieron en fase lútea en ese día, por lo que los niveles de progesterona deberían ser altos, tanto para vacas gestantes como para vacías. En cuanto a los niveles de progesterona en el día 21 posterior a la IA en invierno, no se encontró diferencia entre las vacas gestantes y las vacías, debido posiblemente a que los niveles de progesterona plasmática tienen limitaciones para ser considerados como indicadores del

estado de preñez a los 21 días, también a causa de ciclos estrales irregulares y a pérdidas embrionarias, como lo reportan Chebel *et al.* (2003). También Opsomer *et al.* (1998) reportan que las anomalías ováricas en las vacas lecheras son más comunes en el postparto temprano, como puede ser la prolongación de la fase lútea.

En verano, sí hubo diferencia ($P < 0.05$) en los niveles de progesterona plasmática de las vacas gestantes vs vacías en el día 21 posterior a la IA, coincidiendo con lo reportado por Alnimer *et al.* (2002) quienes mencionan que los niveles de progesterona en las vacas gestantes mostraron una tendencia a ser más altos que las de las vacías, así mismo que algunas diferencias en las respuestas de las hormonas esteroidales ováricas frente al estrés calórico, pueden surgir no sólo del tejido ovárico, sino por la irrigación sanguínea de esa glándula, por secreción de las glándulas adrenales y de otros órganos, así como por su grado de hemodilución o hemoconcentración.

En esta investigación, con la sincronización de la ovulación sin rbST, se tuvo un desempeño reproductivo, en general, superior al de sincronización de estro, lo que coincide con Pursley *et al.* (1995) y Barros *et al.* (2000), pero no con Tallam *et al.* (2001), quienes no encontraron diferencias entre las tasas de preñez. Por otro lado, con los tratamientos con ECP sin considerar la estación, las tasas de preñez acumulativa no fueron más elevadas que con ovsynch, sin embargo, mostraron ser más altas que los tratamientos control, lo cual está en

concordancia con lo reportado por Stevenson *et al.* (2004) quienes señalan que con heatsynch las vacas presentaron más estros y ligeramente menos ovulación.

Con relación al tiempo de espera voluntario del establo, posiblemente debería ampliarse, por lo menos 15 días más, ya que cuando se inició la sincronización de la ovulación (día 45 posparto), las vacas están perdiendo peso corporal, lo que es fisiológico hasta después del día 60, que es cuando se ha alcanzado el pico de producción de leche y por lo tanto se puede empezar a revertir ese balance energético negativo. Si los protocolos de sincronización de la ovulación se aplicaran cuando las vacas ya están ganando peso, es de suponerse que se obtendrían tasas de preñez más elevadas. Se debe tomar en cuenta que la aplicación rutinaria de rbST a todas las vacas del establo, provoca que los animales tengan mayor producción de leche y por lo tanto se prolonga la recuperación de la condición corporal, lo posiblemente haya sido más grave en el T4 y el T5 a los que se les aplicó desde el día 45 postparto.

El Korral Kool se utilizó para disminuir los efectos del estrés calórico, implicando un elevado costo de inversión y de funcionamiento, pero el beneficio se refleja más sobre la producción de leche, esta a su vez, puede tener un efecto negativo todavía mayor sobre la fertilidad de las vacas.

En los meses de temperaturas ambientales altas, las tasas de preñez fueron más elevadas con los protocolos de sincronización de la ovulación, por lo que podría pensarse que es recomendable, al menos durante esos meses, que se aplicara en vez del protocolo rutinario de sincronización de estro.

V CONCLUSIONES

Los resultados permiten concluir que con ovsynch se lograron tasas de preñez más altas durante el verano, que con los protocolos de sincronización de la ovulación, sin rbST en el día del inicio del tratamiento, las vacas tuvieron un desempeño reproductivo superior y que aún cuando las vacas estuvieron en corrales provistos de un sistema de enfriamiento ambiental, las tasas de preñez acumulativa de invierno fueron más elevadas que las de verano.

LITERATURA CITADA

- Ahmad, N., F. N. Schrick, R. L. Butcher, E. K. Inskeep. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol Reprod* 52 (5):1129-1135.
- Alnimer, M., G. De Rosa, F. Grasso, F. Napolitano, A. Bordi. 2002. Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 71 (3-4):157-168.
- Ambrose, J. D., M. Drost, R. L. Monson, J. J. Rutledge, J. J. Leibfried-Rutledge, M. J. Thatcher, T. Kassa, M. Binelli, P. J. Hansen, P. J. Chenoweth, W. W. Thatcher. 1999. Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increase pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 82:2369-2376.
- Andrade, L. P., S. M. Rhind, I. A. Wright, S. R. McMillen, P. J. Goddard, T. A. Bramley. 1996. Effects of bovine somatotrophin (bST) on ovarian function in post-partum beef cows. *Reprod Fertil Dev* 8 (6):951-960.
- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *Symposium: Nutrition and Heat Stress* 77 (7):2044-2050.
- Badinga, L., R. J. Collier, W. W. Thatcher, C. J. Wilcox. 1985 Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. *J Dairy Sci.* 68:78-85
- Badinga, L., W. W. Thatcher, T. Diaz, M. Drost, D. Wolfenson. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology.* 39:797-810.
- Barros, C. M., M. B. Moreira, R. A. Figueiredo, A. B. Teixeira, L. A. Trinca. 2000. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂α and estradiol benzoate. *Theriogenology* 53 (5):1121-1134.

- Bartolome, J., J. Hernandez, A. Landaeta, A. Kelleman, P. Sheerin, C. A. Risco, L. F. Archbal. 2002. The effect of interval from day of administration of bovine somatotropin (bST) to synchronization of ovulation and timed-insemination on conception rate of dairy cows with and without ovarian cysts. *Theriogenology* 57 (4):1293-1301.
- Bauman, D. E. 1992. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. *J Dairy Sci* 75 (12):3432-3451.
- Bonney, R. C., S. T. Qizilbash, S. Franks. 1987. Endometrial phospholipase A2 enzymes and their regulation by steroid hormones. *J Steroid Biochem* 27 (4-6):1057-1064.
- Boshier, D. P., H. Holloway, N. M. Millener. 1981. Triacylglycerols in the rat uterine epithelium during the oestrous cycle and early pregnancy. *J Reprod Fertil* 62 (2):441-446.
- Burke, J. M., R. L. Sal Sota, C. A. de la Risco, C. R. Staples, E. J. Schmitt, W. W. Thatcher. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 79 (8):1385-1393.
- Butler, W. R., R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72:767-783.
- Cavestany, D., A. B. el-Wishy, R. H. Foote. 1985. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *J Dairy Sci* 68 (6):1471-1478.
- Cavestany, D., A. Meikle, H. Kindahl, E. Van Lier, F. Moreira, W. W. Thatcher, M. Forsberg. 2003. Use of medroxyprogesterone acetate (MAP) in lactating Holstein cows within an ovsynch protocol: follicular growth and hormonal patterns. *Theriogenology* 59 (8):1787-1798.
- Chandrashekar, V., D. Zaczek, A. Bartke. 2004. The consequences of altered somatotrophic system on reproduction. *Biology of Reproduction* 71:17-27.

- Chebel, C. R., J. E. P. Santos, R. L. A. Cerri, K. N. Galvao, S. O. Juchem, Thatcher W. W. 2003. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating cows. *Theriogenology* 60:1389-1399.
- C. N. A. Comisión Nacional del Agua. 2003. Datos estadísticos de la región hidrológica N° 36. Torreón, Coahuila, México
- Colazo, M. G., J. P. Kastelic, R. J. Mapletoft. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed time AI programs in beef heifers. *Theriogenology* 60:855-865.
- Cole, J. A., P. J. Hansen. 1993. Effects of administration of recombinant bovine somatotropin on the responses of lactating and nonlactating cows to heat stress. *J Am Vet Med Assoc* 203 (1):113-117.
- Cole, W. J., P. J. Eppard, B. G. Boysen, K. S. Madsen, R. H. Sorbet, M. A. Miller, R. L. Hintz, T. C. White, W. E. Ribelin, B. G. Hammond. 1992. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. 2. Health and reproduction. *J Dairy Sci* 75 (1):111-123.
- Cordoba, M. C., P. M. Fricke. 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J Dairy Sci* 84 (12):2700-2708.
- de la Sota, R. L., J. M. Burke, C. A. Risco, F. Moreira, M. A. DeLorenzo, W. W. Thatcher. 1998. Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. *Theriogenology* 49 (4):761-770.
- Dobson, H., R. F. Smith. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim Reprod Sci* 60-61:743-752.
- D'Occhio, M. J., G. Fordyce, T. R. Whyte, W. J. Aspden, T. E. Trigg. 2000. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Anim Reprod Sci* 60-61:433-442.

- Domecq, J. J., A. L. Skidmore, J. W. Lloyd, J. B. Kaneene. 1997. Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80:113-120.
- Eggleston, D. L., C. Wilken, E. A. Van Kirk, R. G. Slaughter, T. H. Ji, W. J. Murdoch. 1990. Progesterone induces expression of endometrial messenger RNA encoding for cyclooxygenase (sheep). *Prostaglandins* 39 (6):675-683.
- Elmore, R. G. 1989. Putting prostaglandin F2alpha to work in your bovine practice. *veterinary medicine:1093-1096.*
- Etherton, T. D., D. E. Bauman. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol Rev* 78 (3):745-761.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2695-2703.
- Fernandes, P., A. B. Teixeira, A. J. Crocci, C. M. Barros. 2001. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology* 55 (7):1521-1532.
- Fernández, D. L. J. 2003. Análisis del comportamiento reproductivo en vacas lecheras de la Comarca Lagunera. *Memorias del II Simposio Nacional de Infertilidad en la Vaca Lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera (6-8 de Noviembre de 2003):19-23.*
- Flamenbaum, I., D. Wolfenson, K. P. L., M. Maman, A. Berman. 1995. Interactions between body condition at calving and cooling of dairy cows during lactation in summer. *J. Dairy Sci.* 78:2221-2229.
- Geary, T. W., E. R. Whittier, D. G. Downing, R. W. LeFever, M. D. Silcox, T. M. Holland, N. Niswender, G. D. Niswender. 1998. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-B^R or the ovsynch protocol. *J. Anim. Sci.* 76:1523-1527.

- Gong, J. G., T. Bramley, R. Webb. 1991. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biol Reprod* 45 (6):941-949.
- Ham, E. A., V. J. Cirillo, M. E. Zanetti, F. A. Kuehl, Jr. 1975. Estrogen-directed synthesis of specific prostaglandins in uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72 (4):1420-1424.
- Hernández, C. J., B. Díaz. 2003. La somatotropina bovina como una herramienta para incrementar la fertilidad en la vaca lechera. *Memorias del II Simposio Nacional de Infertilidad en la Vaca Lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera*:123-130.
- Ingraham, R. H., D. D. Gillette, W. D. Wagner. 1974. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in subtropical climate. *J Dairy Sci* 57:476-481.
- Izadyar, F., E. Zeinstra, B. Colenbrander, H. M. Vanderstichele, M. M. Bevers. 1996. In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of bovine activin A does not affect the number of embryos. *Anim Reprod Sci* 45 (1-2):37-45.
- Izadyar, F., E. Zeinstra, M. M. Bevers. 1998. Follicle-stimulating hormone and growth hormone act differently on nuclear maturation while both enhance developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 51 (3):339-345.
- Kastelic, J. P., R. J. Mapletoft. 1998. Ovarian follicular responses in dairy cows treated with GnRH and cloprostenol. *Can Vet J* 39 (2):107-109.
- Kirby, C. J., S. J. Wilson, M. C. Lucy. 1997. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F2 alpha. *J Dairy Sci* 80 (2):286-294.
- Lewis, P. E., J. E. Warren, Jr. 1977. Effect of indomethacin on luteal function in ewes and heifers. *J Anim Sci* 45 (4):763-767.

- Lozano, D. R., P. E. González. 2003. Efecto del estrés calórico sobre la reproducción de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción en México. Memorias del II Simposio Nacional de Infertilidad en la Vaca Lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera: 25-48.
- Lucy, M. C., J. S. Stevenson, E. P. Call. 1986. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F2 alpha, gonadotropin-releasing hormone, and timed insemination. *J Dairy Sci* 69 (8):2186-2194.
- Lucy, M. C., W. W. Thatcher, R. J. Collier, F. A. Simmen, Y. Ko, J. D. Savio, L. Badinga. 1995. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. *Domest Anim Endocrinol* 12 (1):73-82.
- Macmillan, K. L., I. J. Lean, C. T. Westwood. 1996. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Aust. Vet. J.* 73:141-147.
- Macmillan, K. L., B. V. Segwagwe, C. S. Pino. 2003. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Anim Reprod Sci* 78 (3-4):327-344.
- McCracken, J. A., E. E. Custer, J. C. Lamsa. 1999. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *Physiol Rev* 79 (2):263-323.
- McMahon, C. D., R. P. Radcliff, K. J. Lookingland, H. A. Tucker. 2001. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol* 20 (2):65-87.
- Mee, M. O., J. S. Stevenson, B. M. Alexander, R. G. Sasser. 1993. Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol-17 beta, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows. *J Anim Sci* 71 (1):185-198.
- Mellado, M. 1995. Respuesta fisiológica, producción de leche, eficiencia reproductiva y salud del ganado lechero expuesto a temperaturas ambientes elevadas. *Vet. Méx* 26 (4):389-399.

- Momcilovic, D., L. F. Archbald, A. Walters, T. Tran, D. Kelbert, C. Risco, W. W. Thatcher. 1998. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and/or prostaglandin F2a (PGF2a) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology* 50 (7):1131-1139.
- Morales-Roura, J. S., L. Zarco, J. Hernandez-Ceron, G. Rodriguez. 2001. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology* 55 (9):1831-1841.
- Moreira, F., C. A. Risco, M. F. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, M. DeLorenzo, W. W. Thatcher. 2000a. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* 53 (6):1305-1319.
- Moreira, F., C. A. Risco, M. F. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, W. W. Thatcher. 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J Dairy Sci* 83 (6):1237-1247.
- Moreira, F., L. Badinga, C. Burnley, W. W. Thatcher. 2002. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 57 (4):1371-1387.
- O'Donnell, L., K. M. Robertson, M. E. Jones, E. R. Simpson. 2001. Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev* 22 (3):289-318.
- Opsomer, G., M. Coryn, H. Deluyker, A. de Kruif. 1998. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Domest Anim* 33:193-204
- Paisley, L. G., W. D. Mickelsen, P. B. Anderson. 1986. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections. A review. *Theriogenology* 25: 353-381.

- Pancarci, S. M., E. R. Jordan, C. A. Risco, M. J. Schouten, F. L. Lopes, F. Moreira, W. W. Thatcher. 2002. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 85 (1):122-131.
- Pankowski, J. W., D. M. Galton, H. N. Erb, C. L. Guard, Y. T. Grohn. 1995. Use of prostaglandin F2 alpha as a postpartum reproductive management tool for lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 78 (7):1477-1488.
- Peters, M. W., J. R. Pursley. 2003. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology* 60:1197-1204.
- Pursley, J. R., M. O. Mee, M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
- Pursley, J. R., M. R. Kosorok, M. C. Wiltbank. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 80 (2):301-306.
- Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J. S. Ottobre, H. A. Garverick, L. L. Anderson. 1997b. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci* 80 (2):295-300.
- Rensis, F. D., R. J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology* 60 (6):1139-1151.
- Revah, I., R. Lomas, L. Zarco, C. Galina. 1989. Evaluación del tratamiento rutinario con prostaglandina F2 Alfa en el día 30 o 40 posparto sobre la actividad ovárica y la eficiencia reproductiva de vacas Holstein. *Vet. Méx.* 20:135-143.
- Roche, J. F., D. Mackey, M. D. Diskin. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim Rep Sci.* 60:703-712.
- Rosenfeld, C. S., J. S. Wagner, R. M. Roberts, D. B. Lubahn. 2001. Intraovarian actions of oestrogen. *Reproduction* 122:215-226.

- Ruíz, H. A. 2004. Programa de sincronización de estro en los bovinos. Primera de tres partes: Generalidades fisiológicas. *Hoard's Dairyman* en español 1:35-37.
- SAS/STAT. 1996. User's guide. Version 6.12. SAS Institute., Inc., Cary, NC.
- Sauerwein, H., B. H. Breier, B. W. Gallaher, C. Gotz, G. Kufner, T. Montag, M. Vickers, E. Schallenberger. 2000. Growth hormone treatment of breeding bulls used for artificial insemination improves fertilization rates. *Domest Anim Endocrinol* 18 (1):145-158.
- Schmidt, R. H. 1989. The arid zones of México: Climatic extremes and conceptualizations of the Sonoran desert. *J. Arid. Env.* 16:241-256.
- Schwanzel-Fukuda, M., D. Bick, D. W. Pfaff. 1989. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome. *Brain Res Mol Brain Res* 6 (4):311-326.
- Sheldon, I. M., A. N. Rycroft, H. Dobson. 2004. Effect of intrauterine administration of oestradiol on postpartum uterine bacterial infection in cattle. *Anim Reprod Sci* 81:13-23.
- Spicer, L. J., S. E. Echternkamp. 1995. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol* 12 (3):223-245.
- Stevenson, J. S., Y. Kobayashi, M. P. Shipka, K. C. Rauchholz. 1996. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F2 alpha. *J Dairy Sci* 79 (3):402-410.
- Stevenson, J. S., S. M. Tiffany, M. C. Lucy. 2004. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci* 87 (10):3298-3305.
- SYSTAT .10. 2000. User's guide: stadistics. Version 10. Point Richmond, CA p 1258-1270.

- Tallam, S. K., T. L. Kerbler, K. E. Leslie, K. Bateman, W. H. Johnson, J. S. Walton. 2001. Reproductive performance of postpartum dairy cows under a highly intervenient breeding program involving timed insemination and combinations of GnRH, prostaglandin F2alpha and human chorionic gonadotropin. *Theriogenology* 56 (1):91-104.
- Tarazon-Herrera, M., J. T. Huber, J. Santos, H. Mena, L. Nusso, C. Nussio. 1999. Effects of bovine somatotropin and evaporative cooling plus shade on lactation performance of cows during summer heat stress. *J Dairy Sci* 82 (11):2352-2357.
- Tenhagen, B.-A., M. Drillich, W. Heuwieser. 2000. Synchronization of lactating dairy cows with prostaglandin F2alfa: insemination on observed oestrus versus timed artificial insemination. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 47:577-584.
- Tenhagen, B.-A., M. Drillich, W. Heuwieser. 2001. Analysis of cow factors influencing conception rates after two timed breeding protocols. *Theriogenology*. 56:831-838.
- Thatcher, W. W., F. Moreira, S. M. Pancarci, J. A. Bartolome, J. E. Santos. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domest Anim Endocrinol* 23 (1-2):243-254.
- Trout, J. P., L. R. McDowell, P. J. Hansen. 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J Dairy Sci*. 81:1244-1250.
- Vane, J. R., R. M. Botting. 1995. A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2). *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 23:41-48.
- Wenzel, J. G. W., J. C. Wright, R. L. Carson. 1993. Use of prostaglandin products by dairy cattle owners, beef cattle owners, and veterinarians. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:1732-1736.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci* 86 (6):2131-2144.

- Wilson, S. J., C. J. Kirby, A. T. Koenigsfeld, D. H. Keisler, M. C. Lucy. 1998. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *J Dairy Sci* 81 (8):2132-2138.
- Wolfe, M. W., M. S. Roberson, T. T. Stumpf, R. J. Kittok, J. E. Kinder. 1992. Circulating concentrations and pattern of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in circulation are changed by the circulating concentration of 17β -estradiol in the bovine male and female. *J Anim Sci* 70:248-253.
- Wolfenson, D., Z. Roth, R. Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 60-61:535-547.
- Wray, S. 2001. Development of luteinizing hormone releasing hormone neurones. *J Neuroendocrinol* 13 (1):3-11.
- Zaied, A. A., H. A. Garverick, C. J. Bierschwal, R. G. Elmore, R. S. Youngquist, A. J. Sharp. 1980. Effect of ovarian activity and endogenous reproductive hormones on GnRH-induced ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J Anim Sci* 50 (3):508-513.