

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIAS

MENCION: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

TESIS

**PERFIL HORMONAL Y SU RELACIÓN CON LA
REACTIVACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN VACAS POS
PARTO DE RAZA HOLSTEÍN EN EL VALLE DE
CAJAMARCA**

Para optar el Grado Académico de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presentada por:

CÉSAR RICARDO GUERRA LEÓN

Asesor:

M.V. M. SC. JOSÉ ANTONIO NIÑO RAMOS

CAJAMARCA, PERÚ

2017

COPYRIGHT©. 2017 by
CÉSAR RICARDO GUERRA LEÓN
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
ESCUELA DE POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIAS
MENCION: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

TESIS APROBADA:

**PERFIL HORMONAL Y SU RELACIÓN CON LA
REACTIVACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN VACAS POS
PARTO DE RAZA HOLSTEÍN EN EL VALLE DE
CAJAMARCA**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

Presentada por:

CÉSAR RICARDO GUERRA LEÓN

Comité Científico

Mg. José Niño Ramos
Asesor

Dr. Severino Torrel Pajares
Miembro de Comité Científico

Dr. Corpus Cerna Cabrera
Miembro de Comité Científico

Dr. José Coronado León
Miembro de Comité Científico

CAJAMARCA - PERÚ

2017



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Posgrado

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 11:00 de la mañana del día 27 de junio de dos mil diecisiete, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Comité Científico Evaluador presidido por el **Dr. SEVERINO TORREL PAJARES**, en Representación del Director y como Miembro del Comité Científico, **Mg. JOSÉ NIÑO RAMOS**, en calidad de Asesor, **Dr. CORPUS CERNA CABRERA**, **Dr. JOSÉ CORONADO LEÓN**, como integrantes del Comité Científico. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada **“PERFIL HORMONAL Y SU RELACIÓN CON LA REACTIVACIÓN DEL CICLO ESTRAL EN VACAS POS PARTO DE RAZA HOLSTEÍN EN EL VALLE DE CAJAMARCA”**, presentada por el **Med. Veterinario CÉSAR RICARDO GUERRA LEÓN**, con la finalidad de optar el Grado Académico de **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la facultad de Ciencias Veterinarias, con Mención en **PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Comité Científico, y luego de la deliberación, se acordó... APROBAR... con la calificación de 15 (BUENO)... la mencionada Tesis; en tal virtud, el **Med. Veterinario CÉSAR RICARDO GUERRA LEÓN**, está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la facultad de Ciencias Veterinarias, con Mención en **PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**.

Siendo las 13:00 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Severino Torrel Pajares
Miembro de Comité Científico


.....
Mg. José Niño Ramos
Asesor


.....
Dr. Corpus Cerna Cabrera
Miembro de Comité Científico


.....
Dr. José Coronado León
Miembro de Comité Científico

DEDICATORIA

A mi madre: Luz Violeta León Chigne. A mi hermano: Wilmer Alejandro Montañez León. A mi familia en general.

A todos mis amigos y amigas por su Apoyo moral en todo momento.

A mi asesor M.V. Sc José Niño Ramos
Por su apoyo incondicional para la realización del presente trabajo de investigación.

César Ricardo Guerra León

AGRADECIMIENTO

- A la Escuela de Post Grado de la Universidad Nacional de Cajamarca, por haberme brindado la formación de Magister y a todos los docentes de esta línea por brindarme sus conocimientos y sabios consejos.
- A mi asesor: M. V. M. Sc. José A. Niño Ramos, quien me brindó su apoyo desinteresado en el asesoramiento del presente trabajo de investigación.
- A mis amigos y compañeros de la Maestría.

César Ricardo Guerra León

RESUMEN

Durante los meses de abril a agosto del 2013 se monitorearon 18 vacas de la raza Holstein pertenecientes a la campiña de Cajamarca, que se encontraron en el primer tercio de lactancia y estuvieron sometidas a un sistema de alimentación similar (forraje y concentrado); con el objetivo de relacionar la progesterona (P4) y el 17β estradiol con el restablecimiento de la ciclicidad estral posparto en el primer tercio de lactancia; para tal fin, se tomaron muestras de sangre, al momento del parto, luego a los 30, 60 y 90 días posparto, mediante punción de la vena coccígea. Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos al vacío sin anticoagulante de 3 ml y procesadas, para conservarlas a -10°C . Posteriormente se determinaron los niveles de progesterona y 17β estradiol a través de la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Se consideró que las vacas habían reiniciado la ciclicidad posparto cuando los niveles de progesterona eran cercanos o superiores a 1ng/ml . Los resultados muestran que los niveles de progesterona (ng/ml) fueron: $0,44\pm 0,20$ al parto; $0,427\pm 0,16$ a los 30 días posparto; seguidamente, a los 60 días posparto se registraron los siguientes valores: $0,977\pm 0,26$ (vacas cíclicas) y $0,703\pm 0,32$ (vacas no cíclicas); y finalmente se obtuvieron $1,718\pm 0,395$ de P4, (vacas cíclicas) a los 90 días posparto. Los niveles de 17β estradiol (pg/ml) fueron de: $25,25\pm 4,73$ al momento del parto; $8,811\pm 0,71$ a los 30 días posparto, seguidamente a los 60 días posparto los niveles de estradiol fueron de: $10,260\pm 0,412$ para las vacas que reinician ciclicidad y $9,988\pm 0,40$ para las que no reinician ciclicidad; y finalmente se registran valores de: $11,988\pm 0,50$ (vacas cíclicas) a los 90 días posparto. Se concluye que el perfil hormonal está relacionado de manera directa con el reinicio de la actividad cíclica posparto en vacas de raza Holsteín en el Valle de Cajamarca.

Palabras clave: Progesterona, 17β estradiol, Ciclicidad estral.

SUMMARY

During the months from April to August of 2013 were monitored 18 cows of Holstein cows belonging to the countryside of Cajamarca, who met in the first third of lactation and were subjected to a similar power system (forage and concentrate); in order to relate the progesterone (P4) and 17 β estradiol with the restoration of estrous cyclicity postpartum in the first third of lactation; for this purpose, blood samples, taken at the time of delivery, then at 30, 60 and 90 days post-partum, through coccygeal vein puncture. Blood samples were collected in tubes without anticoagulant 3 ml vacuum and processed, to keep them at -10°C. Subsequently determined the levels of progesterone and 17 β -estradiol through Radioimmunoassay (RIA) technique. It was felt that cows had restarted the cyclicity postpartum when progesterone levels were close to or greater than 1ng/ml. The results show that the levels of progesterone (ng/ml) were: 0,44 \pm 0,20 to childbirth; 0,427 \pm 0, 30 days post-partum; then 60 days postpartum occurred following values: 0,977 \pm 0, 26 (cyclical cows) and 0,703 \pm 0, 32 (cows not cyclical); and finally were 1,718 \pm 0, P4, (cyclic cows) to 90 days postpartum. The levels of estradiol-17 β (pg/ml) were: 25,25 \pm 4, 73 at the time of delivery; 8,811 \pm 0,71 to 30 days post-partum, then at 60 days post-partum estradiol levels were: 10,260 \pm 0,412 for the cows that restart cyclicity and 9, 988 \pm 0,40 for which no restart cyclicity; and finally register values of: 11,988 \pm 0,50 (cyclical cows) at 90 days postpartum. It is concluded that the hormonal profile is linked directly with the resumption of cyclical activity postpartum cows of Holstein in the Cajamarca Valley race.

Key words : Progesterone, estradiol 17 β , estrous cyclicity

CONTENIDO

<u>ITEM</u>		<u>PÁGINA</u>
DEDICATORIA		I
AGRADECIMIENTO		II
RESUMEN		III
SUMMARY		IV
INDICE DE TABLAS		VI
INDICE DE FIGURAS		VII
CAPÍTULO I	INTRODUCCIÓN	01
CAPÍTULO II	MARCO TEÓRICO	03
CAPÍTULO III	DISEÑO Y CONTRASTACIÓN DE HIPO	26
CAPITULO IV	RESULTADOS	33
CAPITULO V	DISCUSIÓN	39
CAPITULO VI	CONCLUSIONES	46
CAPITULO VIII	LISTA DE REFERENCIAS	47

ÍNDICE DE TABLAS

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
Tabla 1.	Niveles de progesterona desde el inicio del parto de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto.	33
Tabla 2:	Niveles de 17 β estradiol desde el inicio parto, de 30 a 60 y de 60 a 90 días posparto.	36

ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
Figura 1:	Caja de bigotes de los niveles de progesterona desde el inicio (parto) de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto	34
Figura 2:	Tendencia de los niveles de progesterona desde el inicio parto, de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto, vacas	35
Figura 3:	Caja de bigotes de los niveles de estradiol, desde el inicio parto, de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto, vacas que	37
Figura 4:	Tendencia de los niveles de estradiol desde el inicio del parto, de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto	38

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La ganadería lechera bovina constituye una de las actividades económicas más importantes en la región Cajamarca, no obstante el desarrollo de esta actividad depende de sobrellevar óptimamente cuatro aspectos básicos como son: el manejo técnico, la alimentación, la sanidad y la genética de los animales del hato. Desde el punto de vista económico se debe tener en consideración que la ganadería proporciona leche fresca y crías para reemplazo y/o venta posterior. La rentabilidad adecuada se consigue cuando el ganadero logra obtener el mayor volumen de leche posible por vaca al día y con adecuados periodos de lactación por campaña, así mismo en el aspecto reproductivo el ganadero debe obtener una cría cada 13 meses por cada vaca de su hato, a través de la aplicación de métodos o protocolos de manejo y alimentación adecuados.

El periodo post parto constituye una etapa crítica en la cual la vaca entra en un anestro fisiológico, ante este hecho se debe conseguir lo antes posible que la vaca retorne a la actividad reproductiva normal y así continuar con el ciclo de producción. El anestro post parto está influenciado por el balance energético negativo, el estado sanitario del útero, sistemas de manejo y los niveles de hormonas que se producen en el ovario. Desde el inicio del post parto hasta la aparición del primer celo se producen una serie de cambios en los niveles hormonales y la dinámica folicular de la vaca en su camino dirigido a retornar nuevamente al ciclo reproductivo.

En la campiña de Cajamarca no se cuenta con información acerca del reinicio de la actividad cíclica posparto; lo que no permite planificar los servicios de inseminación y otras actividades reproductivas; además de no saber con precisión cuanto puede durar el periodo de espera voluntario: Estos aspectos repercuten en el manejo reproductivo del ganado lechero, por lo que se planteó la presente investigación con la finalidad de determinar la relación entre el perfil hormonal y el reinicio de la ciclicidad estral en vacas de raza Holsteín del Valle de Cajamarca.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación que existe entre el perfil hormonal y el retorno a la ciclicidad estral posparto en vacas de raza Holstein de la campiña de Cajamarca.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar y relacionar los niveles de progesterona (P4) que se presentan desde el inicio del periodo posparto con el restablecimiento de la ciclicidad estral.
- Determinar y relacionar los niveles de 17β estradiol que se presentan desde el inicio del periodo posparto hasta el restablecimiento de la ciclicidad estral.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

En el año del 2001 se realizó un estudio en la localidad de Araucanía - Chile dirigido a determinar variables reproductivas durante el periodo posparto en 15 vacas lecheras de raza frisona negra. Entre los objetivos, estuvo el de determinar el periodo comprendido entre el parto y la primera ovulación o reactivación de la función ovárica posparto y el intervalo del parto hasta el primer celo detectado y comparar su relación con la dinámica folicular, al finalizar del estudio se obtuvo un promedio de 45 días desde el parto hasta la primera ovulación; para lo cual tomaron como referencia la presentación de dos niveles consecutivos superiores a 1ng/ml de progesterona, obtenidas por muestras sanguíneas y determinadas por el método de radioinmunoanálisis (Becker *et al.*, 2001).

Durante el 2005 se desarrolló un trabajo de investigación en el Municipio de Tuluá, departamento del Valle – Colombia; consistente en evaluar los niveles de progesterona y la dinámica folicular de 13 vacas de raza Holsteín a través de la obtención de muestras sanguíneas y sometidas posteriormente al método de Radio Inmuno Análisis (RIA). Con el fin de determinar la reactivación ovárica posparto y la dinámica folicular mediante la utilización de ultrasonografía y determinación de los niveles séricos de progesterona (P4) mediante la utilización de radioinmuno análisis. Al finalizar el estudio se determinó: un incremento de los niveles de progesterona superior

a 1ng/ml a los 36 días posparto con valores promedio de 1,99 ng/ml; tomando en cuenta los muestreos totales de todo el grupo de estudio (Pinzon y Grajales, 2005).

En la localidad de La libertad, departamento de Meta – Colombia, durante el 2007 se realizó un trabajo de investigación consistente en determinar los niveles de progesterona (P4) y 17β estradiol en el suero sanguíneo de 18 vacas lactantes de la raza Sanmartinero mediante la técnica de radioinmuno análisis (RIA) y su relación con la función ovárica durante el periodo posparto; al finalizar el estudio se determinó un retorno a la actividad ovárica cuando se determinaron niveles de progesterona superiores a 1ng/ml en tres muestreos consecutivos. Los signos de estro estuvieron ausentes antes de la primera ovulación; los niveles de estradiol mostraron una tendencia creciente a través de la lactancia de $26,43\pm 5,6$ pg/ml hasta $43,76\pm 6,5$ pg/ml antes de la primera ovulación y los niveles de progesterona mostraron un valor promedio de 1,15 ng/ml. A partir del día 46 posparto (Baez, 2007).

2.2. Base teórica

La Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (GnRH) es producida por neuronas hipotalámicas especializadas y es secretada en forma de pulsos hacia los vasos portales hipofisarios, su secreción regula la liberación de LH y FSH por parte de la hipófisis. En las cercanías del parto el funcionamiento del eje hipotálamo hipofisario está suprimido debido a las elevadas concentraciones de progesterona y estradiol, las cuales inhiben la secreción de GnRH, lo que resulta en una falta de estímulo hacia la hipófisis provocando la depleción de los depósitos de LH en la pituitaria anterior. Al momento del parto, el contenido de LH hipofisario es reducido en un 95 % y se incrementa gradualmente en la primera semana, alcanzando niveles normales hacia el día 30 posparto. Debido a esta causa la respuesta hipofisaria a GnRH es mínima después del parto y se recupera gradualmente 2 a 3 semanas más tarde. Por otra parte, el generador hipotalámico de pulsos de GnRH permanece sensible al efecto inhibitor de los estrógenos secretados por los folículos en desarrollo. Se ha hipotetizado que la secreción disminuida de LH en el post parto temprano se debe a una menor secreción de GnRH y no a un cambio en el número y afinidad de los receptores hipofisarios para esta hormona, ya que ambos no son alterados con el período posparto. En adición a este hecho, el contenido hipotalámico de GnRH es mayor en vacas en anestro posparto que en vacas cíclicas y no cambia hasta el día 30 o 45, lo que demuestra que, durante el período de anestro, sería la liberación y no la síntesis de esta hormona la que se encontraría afectada (Aller *et al.*, 2008).

Este hecho es la principal limitante para la reanudación de la secreción pulsátil de LH y la restauración de la ciclicidad en el posparto temprano. Durante este período, un pulso de LH es secretado cada 3 a 6 horas y la frecuencia se incrementa hasta

alcanzar 1 o 2 pulsos por hora en las cercanías de la primera ovulación. El intervalo entre el parto y el momento en que la secreción pulsátil de LH es suficiente para provocar la maduración del folículo ovulatorio, está influenciado por varios factores, como el estado de las reservas corporales, la ingesta de nutrientes y el amamantamiento. La baja pulsatilidad de LH está asociada a prolongados períodos de anestro en bovinos para carne (Aller *et al.*, 2008).

Luego del parto, hay un pronunciado pico de FSH, probablemente debido a la disminución de los esteroides placentarios y ováricos circulantes. Dicha elevación, que se produce en promedio a los 4 días posteriores al parto, está asociada a la emergencia de una nueva onda folicular. Posteriormente, las concentraciones se mantienen constantes hasta la ovulación, con fluctuaciones similares a las observadas en vacas cíclicas (Aller *et al.*, 2008).

Varios estudios en los que se realizó el seguimiento de la actividad folicular ovárica luego del parto demostraron que la actividad de crecimiento folicular no se ve interrumpida, aún en ausencia de ovulación, por lo que se considera que la secreción de FSH no es un factor limitante para la reanudación de la actividad ovárica en el posparto. Las concentraciones plasmáticas de progesterona son mínimas al parto y se incrementan luego de la primera ovulación o luteinización del folículo dominante. El primer incremento en la concentración de progesterona plasmática luego del parto usualmente persiste por 3 a 9 días y generalmente no es precedido por el comportamiento de celo (Aller *et al.*, 2008).

Las concentraciones plasmáticas de estrógenos disminuyen rápidamente luego del parto. Durante el período anovulatorio, las concentraciones de estradiol se

incrementan por períodos de corta duración, los cuales pueden estar asociados con el crecimiento y maduración de los folículos. (Aller *et al.*, 2008).

2.2.1. Anestro post parto en sistema de crianza al pastoreo

La ganadería lechera en regiones alto andinas, se caracteriza por presentar una baja producción por animal, así como por fluctuaciones entre temporadas, ya que durante la temporada de lluvias los animales se encuentran relativamente bien alimentados, produciendo a su máxima capacidad; pero en la temporada seca la alimentación es pobre, reduciendo notablemente la producción (Kanuya *et al.*, 2006).

La productividad de la ganadería bovina, en términos de carne y leche, es dependiente del desempeño reproductivo, y este a su vez se encuentra íntimamente relacionado con la fertilidad. De esta manera un intervalo entre partos normal incrementa tanto el número de terneros nacidos como la cantidad de leche producida por vaca durante la vida útil, y consecuentemente influencia la tasa de reemplazo (Salisbury *et al.*, 1978).

2.2.2. Fisiología posparto

El anestro post parto es el período después del parto durante el cual las vacas no muestran señales conductuales de estro (Montiel y Ahuja, 2005).

La primera ovulación posparto se presenta cuando existe un folículo dominante y pulsos de LH (Hormona Luteinizante) en al menos una cada hora en fase preovulatoria (Duffy *et al.*, 2000).

Los principales factores que afectan la duración del anestro posparto son el estado nutricional (condición corporal) y la presencia del ternero durante la etapa de lactación (Montiel y Ahuja, 2005).

Algunos otros factores como la raza, edad, número de partos, producción de leche, temporada de parto, presencia del toro, involución uterina, distocias y estado de salud general influyen la duración del anestro (Peters, 1984).

No obstante, (Wettemann *et al.*, 2003) afirma que existen otros factores como una causa probable de anestro, además de la nutrición y presencia del ternero.

En tal sentido se mencionan a continuación tres factores principales como causa de anestro:

a. Balance energético

El balance energético negativo reduce la disponibilidad de glucosa e incrementa la movilización de reservas corporales. El metabolismo basal, la actividad, el crecimiento y la lactancia tienen prioridad sobre los procesos reproductivos, como el reinicio de la ciclicidad y el establecimiento de una nueva preñez (Short *et al.*, 1972).

Un inadecuado consumo de nutrientes en relación con las demandas metabólicas es un factor que contribuye a prolongar el anestro post parto y aunque la naturaleza de estos factores y sus interacciones es compleja y poco conocida, muchos de ellos parecen actuar por vía de mecanismos hormonales (Jolly *et al.*, 1995).

La transición de un balance energético negativo a uno positivo durante la lactancia está asociada al incremento en la frecuencia de pulsos de LH, lo cual sugiere que la secreción pulsátil de LH puede ser inhibida hasta tanto no se alcance el valor más bajo de balance energético y por ende su repercusión en la condición corporal (Canfield y Butler, 1991).

En vacas de leche se ha relacionado el intervalo entre partos y la primera ovulación con el estatus metabólico, encontrando una relación inversamente proporcional entre balance energético y la reanudación de actividad ovárica (Butler, 2003).

Tomando en referencia al balance energético se determina que la primera ovulación ocurre aproximadamente a los 14 días después del máximo balance energético negativo. (Canfield y Butler, 1991).

b. Hormonas metabólicas

En los primeros estudios relacionados con la interacción nutrición-reproducción se establecía que las concentraciones de glucosa en sangre relacionan el estado nutricional con la función reproductiva en el hipotálamo de una manera directa (Short y Adams, 1988).

Vacas con concentración de glucosa reducida disminuyen su cantidad de progesterona en plasma, aunque las concentraciones de glucosa en bovinos permanecen en niveles constantes en comparación con animales monogástricos (Villa-Godoy *et al.*, 1988).

La insulina regula la utilización de glucosa por parte de las células. La insulina estimula la liberación de GnRH de fragmentos hipotalámicos *in vitro*, cuando existe glucosa disponible (Arias *et al.*, 1992).

La insulina también estimula la producción de hormonas esteroides en las células ováricas, las cuales regulan el funcionamiento cíclico reproductivo de vacas post parto (Spicer y Echterkamp, 1995).

Los folículos sintetizan IGF-I (factor de crecimiento insulínico) y este influye en la función ovárica. Específicamente, la proliferación celular ovárica y la esteroidogénesis en las gónadas son estimuladas directamente por IGF-I (Spicer y Chamberlain, 1998).

Los folículos dominantes presentan menor actividad IGFBP que los subordinados (Yuan *et al.*, 1998), esta disminución puede incrementar la disponibilidad de IGF-I para las células foliculares. Adicionalmente, las concentraciones de IGFBP-4 parecen determinar cuál folículo se vuelve dominante durante la selección (Mihm, 1999).

Las concentraciones plasmáticas de estradiol están altamente correlacionadas con los niveles de IGF-I (Butler W, 2003). El IGFBP-3 parece ser importante en el transporte de IGF-I hacia tejidos blanco y se ha encontrado en mayor cantidad en plasma de vacas con un folículo ovulatorio durante las tres primeras semanas posparto (Frajblat, 2000).

La importancia de la insulina y el IGF-I en la regulación del desarrollo folicular posparto demuestra que la capacidad funcional del eje somatotrópico está entrelazada con la actividad ovárica durante el balance energético negativo (Webb *et al.*, 1999).

Desde el descubrimiento de la leptina, ha existido mucho interés acerca de su función como señal de información acerca de las reservas energéticas. La restricción nutricional incrementa la expresión de receptores de leptina en el núcleo hipotalámico (Smith *et al.*, 2002). El consumo de nutrientes influye sobre las cantidades de mRNA para leptina en grasa (Amstalden *et al.*, 2000) y sobre las concentraciones de leptina en plasma.

Las concentraciones de leptina en plasma disminuyen durante el balance energético negativo significativamente después del parto y continúan hasta el periodo próximo al mes después del parto (Ehrhardt *et al.*, 2000).

Dentro del sistema nervioso central, el hipotálamo es el sitio de mayor acción de la leptina con respecto al control de consumo de alimento y gasto de energía. Numerosos estudios han evaluado la localización del receptor de RNA mensajero (mRNA) para leptina dentro del hipotálamo. El hipotálamo convierte las señales de la leptina en respuestas neuronales sobre el consumo de alimento. El neuropéptido Y (NPY) parece ser importante en la regulación del consumo. La leptina inhibe las señales del NPY inhibiendo el consumo de alimento (Jang *et al.*, 2000).

La administración de leptina también estimula la producción de gonadotropinas en la hipófisis por medio de estimulación de GnRH en el hipotálamo (Zieba *et al.*, 2003). En rumiantes sometidos a ayuno prolongado, la administración de leptina recombinante ovina; estimuló la secreción pulsátil de LH (Amstalden *et al.*, 2000).

La leptina tiende a incrementarse durante la primera ovulación, indicando la existencia de mecanismos reguladores adicionales en el hipotálamo, hipófisis y ovarios. Durante la preñez los niveles de leptina son altos y disminuyen rápidamente luego del parto. Esta caída es debida a los costos energéticos de la producción de leche (Block *et al.*, 2001).

Numerosos estudios en los rebaños lecheros han demostrado que un aumento notable de la producción de leche a principios de la lactación

incrementa la incidencia de diversos problemas reproductivos e influyen directamente en el anestro post parto (Mann *et al.*, 1998).

b.1 El entorno endocrinológico en las vacas de alta producción

La mayoría de datos disponibles muestran una relación negativa entre producción de leche y fertilidad. No obstante, el alcance de este efecto ha sido cuestionado, especialmente porque, como sucede con muchos de los índices reproductivos, no se ha demostrado hasta el momento una relación clara con la producción lechera. En la actualidad parece muy claro que las vacas de alta producción pueden mostrar un estado endocrinológico distinto al de las vacas no lactantes, debido a su alto ritmo metabólico. Las vacas que producen más leche desarrollan unos folículos de mayor tamaño, pero con una menor concentración de estradiol circulante, además estas vacas de alta producción tienen un tejido luteal mayor y menores concentraciones séricas de progesterona (Block *et al.*, 2001).

b.2 Fisiología del ciclo estral en el vacuno hembra

El ciclo sexual de la vaca suele ser independiente de la estación del año. El estro o celo se observa cada 21 días en promedio, con un rango de 18 – 24 días en promedio, el día del estro se considera como el día cero dura relativamente poco (18 horas en promedio), la ovulación se da unas 30 horas después del inicio del estro, la fertilización del óvulo se produce en el oviducto, el blastocisto llega al útero alrededor del día 5 y la gestación dura 279-290 días. El intervalo entre partos y la primera ovulación varía enormemente dependiendo de la raza de la vaca, su

nutrición, rendimiento lechero, estación y la presencia de un ternero durante la lactación junto con la vaca (Wiltbank *et al.*, 2002).

c. Amamantamiento

El amamantamiento afecta la actividad del hipotálamo, hipófisis y ovarios, mediante la reducción de liberación de GnRH, la cual conduce a insuficientes pulsos de LH (Williams *et al.*, 1996). Debido a esto los folículos son incapaces de madurar y por lo tanto de ovular, ya que existe una incorrecta síntesis de estrógenos a nivel folicular. Adicionalmente el amamantamiento genera la secreción a nivel hipotalámico de endorfina, en respuesta al estímulo de succión, y los estrógenos producidos en la placenta durante el último tercio de la gestación provocan la inhabilitación de la secreción de LH a través de la inhibición en el hipotálamo (Day, 2003).

En el parto, las concentraciones de LH en la hipófisis anterior se agotan debido al efecto inhibitorio de los estrógenos placentarios. El efecto inhibitorio del estradiol acaba con el parto, y al cabo de 2-3 semanas las reservas de LH son similares a las de vacas cíclicas. El amamantamiento del ternero prolonga la demora en la aparición de la secreción pulsátil de LH, en vacas que pierden su ternero al nacimiento comúnmente muestran estró más temprano (Wettemann, 1994)

La inhibición de la secreción de LH debida al amamantamiento puede estar influenciada por la secreción del opioide hipotalámico β -endorfina, en respuesta al estímulo de succión. La administración de antagonistas de

opioides incrementa la secreción pulsátil de LH en vacas lactantes después del parto (Williams *et al.*, 1996).

El efecto del amamantamiento es de mayor magnitud en vacas primíparas y en vacas con baja condición corporal (Short *et al.*, 1990), las vacas desarrollan un vínculo con su cría, y el efecto del ternero propio es mayor que el de un ternero ajeno (Stevenson *et al.*, 1997).

2.2.3. Otros factores

a. Estrés calórico

Con respecto al patrón de secreción de LH en vacas bajo estrés de calor se han reportado disminuciones en la amplitud (Gilad *et al.*, 1993) y la frecuencia de los pulsos de esta hormona. La disminución de los niveles de LH durante el pico preovulatorio ha sido controversial y se ha relacionado con los niveles preovulatorios de estradiol (Wise *et al.*, 1988).

La poca información que existe disponible acerca del efecto del estrés calórico sobre las concentraciones sanguíneas de FSH e inhibina sugieren que la FSH se incrementa y que esto puede ser debido a la disminución en la producción de inhibina. El estrés calórico no presenta efectos sobre la producción de progesterona pero sí es capaz de retrasar la luteolisis. Estas diferencias probablemente se deban a otros factores no controlados como el tipo de estrés calórico (agudo o crónico) y las diferencias en el consumo de materia seca (Wilson *et al.*, 1998)

Los mecanismos mediante los cuales el estrés calórico afecta las concentraciones de hormonas reproductivas son desconocidos. Se ha sugerido como causa el incremento en la secreción de corticosteroides

porque estos pueden inhibir la secreción de GnRH y por lo tanto de LH, en este mismo estudio se encontró que la secreción de gonadotropinas fue inhibida en mayor grado en vacas con bajas concentraciones plasmáticas de estradiol, sugiriendo que las altas concentraciones de estradiol pueden neutralizar el efecto del estrés calórico (Gilad *et al.*, 1993).

b. Involución Uterina

La involución uterina no está relacionada con la duración del anestro post parto (Kiracofe G, 1980), sin embargo, la involución es una barrera física en el posparto temprano tanto para el transporte del espermatozoide como para la implantación. Muy pocas vacas pueden presentar anestro tan temprano como para que la involución uterina interfiera con la concepción, a menos que condiciones patológicas y deficiencias alimenticias prolonguen la involución normal del útero más allá del puerperio (Short *et al.*, 1990).

La involución uterina se completa dentro de las 4 a 6 semanas posparto y ocurre más rápidamente en el cuerno no grávido de la preñez anterior (Spicer *et al.*, 1986).

c. Edad (Número de partos)

Debido a que las vacas de primer parto continúan en crecimiento, la frecuencia de los pulsos de LH en el post parto es menor, debido a esto el anestro post parto se prolonga de 1 a 4 semanas más que en vacas multíparas (Yavas y Walton, 2000).

d. Raza

En vacas de lechería especializada, los folículos medianos (5-10 mm) son detectables a partir del día 5 posparto. El primer folículo dominante que se desarrolla logra la ovulación entre los días 15 a 27 post parto en la mayoría de vacas de leche (Beam y Butler, 1997).

En vacas de carne lactantes, los folículos medianos se encuentran desde los días 5-7 posparto, y su número y tamaño se incrementa a medida que transcurre el tiempo después del parto. Los folículos dominantes son detectables en los días 10-21 posparto, sin embargo, la mayoría de estos folículos no llegan a ovular, debido a que sufren atresia antes de obtener el tamaño óptimo de ovulación, posiblemente debido a la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario al efecto de retroalimentación negativa del 17β estradiol producido por el ovario que retrasa el restablecimiento de los pulsos de LH (Yavas y Walton, 2000).

e. Factores sociales

La presencia del macho, así como las interacciones entre hembras, la presencia de otras hembras en celo y el encadenamiento de conductas sexuales en grupos de hembras, afectan la duración del intervalo posparto. Existen diferencias en la actividad sexual de novillas, debidas a la jerarquía de los machos con los que se encuentran, así como la conformación de grupos de actividad sexual (Góngora y Hernández, 2006).

f. Dinámica folicular durante el posparto

Aunque la función de las gonadotropinas y otros reguladores endocrinos de la actividad folicular durante el posparto temprano no están claros, la ultrasonografía hace posible comparar los cambios en el desarrollo folicular ovárico con variables endocrinas y metabólicas para encontrar el origen endocrino del anestro prolongado. El crecimiento folicular, y la habilidad de los folículos para producir cantidades considerables de estradiol dependen de un adecuado aporte de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH. La FSH controla el crecimiento y maduración folicular, mientras que la LH está asociada con el mantenimiento de los folículos dominantes y la producción de estradiol necesaria para la inducción del estro, el pico preovulatorio de LH y en si misma la ovulación (Fortune, 1994).

La síntesis de estradiol por las células de la granulosa dependen del suministro con tinuo de substrato aromatizable (predominantemente androstenediona) de las células de la teca interna adyacentes gobernadas por LH. La reanudación del crecimiento folicular luego del parto se debe al incremento de la secreción de FSH a los 3-4 días posparto en vacas bien alimentadas (Lamming *et al.*, 1981).

La habilidad de los folículos para desarrollarse y ser dominantes depende de la secreción pulsátil de LH, que a su vez refleja la secreción de GnRH hipotalámico (Jolly *et al.*, 1995).

La falla de los mecanismos que controlan la maduración folicular incluye la inhibición de la liberación pulsátil de mayor frecuencia de LH

necesaria para estimular la mayor secreción de estradiol, o la inhibición central de liberación de GnRH en respuesta al estradiol (Jolly *et al.*, 1995).

Los patrones de crecimiento y desarrollo folicular son inconsistentes luego del parto. Algunas vacas presentan ovarios relativamente inactivos (sin crecimiento folicular mayor a 10 mm), mientras otras muestran folículos de diámetro mayor a 10 mm dentro de los 10 a 15 días después del parto (Lucy *et al.*, 1992).

La inactividad ovárica puede deberse a insuficiente secreción de LH asociada con un inadecuado consumo de energía. Este tipo de anestro es común en vacas primíparas en las cuales el balance energético negativo es más evidente (Lucy *et al.*, 1992).

El desarrollo de ondas foliculares ocurre temprano en el posparto tanto en ganado de carne como de leche. Posteriormente al parto existe un incremento dramático en la FSH que es seguido por la emergencia de la primera onda folicular en donde se da el proceso de crecimiento folicular para una primera ovulación que generalmente se produce 2-7 días posparto (Wiltbank *et al.*, 2002).

Sin embargo, la ovulación de el folículo dominante solamente ocurre cuando este es expuesto a una adecuada frecuencia de pulsos de LH (aproximadamente 1 pulso/h), que permita el incremento en el tamaño del folículo y la producción de estradiol, la cual eventualmente puede conllevar a un pico de LH y una ovulación (Roche *et al.*, 1992).

Se ha determinado que el folículo dominante de la primera onda folicular ovula en el 42% de vacas Holstein de alta producción, en el periodo posparto (Beam y Butler, 1997) y solamente en el 11% de vacas de carne lactantes (Murphy *et al.*, 1990).

2.3. Ciclos estrales de corta duración

Los ciclos de corta duración ocurren normalmente en la primera ovulación espontánea posparto en la mayoría de vacas (Day *et al.*, 1990); La liberación prematura de PGF2 α por el útero como resultado de los efectos de los bajos niveles de progesterona (Zollers *et al.*, 1993) y estradiol (Mann y Lamming 2000) antes de la ovulación en los receptores de oxitocina y progesterona endometriales parecen ser la causa de la temprana regresión del cuerpo lúteo. La progesterona producida durante la fase luteal corta puede ser necesaria para el establecimiento de una función luteal normal en el ovario para el siguiente ciclo estral posparto (Short *et al.*, 1990).

Se estima que hasta el 30% de vacas de un rebaño presentaran celo silencioso dependiendo del nivel de nutrición que esta presentaron el momento del parto, el largo del anestro posparto es crítico debido a que un mayor número de ciclos estrales previos al inicio de la reproducción o manifestaciones de celo están directamente relacionados con mayores tasas de fertilidad (Hopkins, 1986).

2.4. Comportamiento de los niveles de Progesterona durante el post parto

Existe una clasificación de la actividad ovárica posparto de acuerdo al modelo de los niveles de secreción de progesterona así se tiene:

a. Normal alta (Tipo 1-a)

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 50 posparto, dándose una actividad luteal normal, la cual es producida luego de un calor

manifiesto y la respectiva ovulación. En más del 90% de los casos el servicio que recibe la hembra en el primer calor manifiesto es efectivo, se produce la concepción y se tiene la capacidad de mantener la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

b. Normal media (Tipo 1-b)

El primer incremento de progesterona se presenta antes del día 50 posparto, pudiendo obedecer a un incremento transitorio de progesterona (ITP4) o a un “calor silencioso”, aparentemente sin ovulación, no conducente a una actividad luteal normal. Las hembras reciben uno o dos servicios antes de lograr una concepción efectiva (entre el día 50 a 100 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

c. Normal baja (Tipo 1-c)

El primer incremento de progesterona se presenta hacia el día 50 posparto, pudiendo obedecer a un ITP4 o a un “calor silencioso”, aparentemente sin ovulación, no conducente a una actividad luteal normal. Las hembras reciben dos, tres o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 100 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

d. Media (Tipo 2)

El primer incremento de progesterona se presenta hacia el día 100 posparto, pudiendo obedecer a un ITP4 o a un “calor silencioso”, aparentemente sin ovulación, no conducente a una actividad luteal normal. Las hembras reciben dos, tres o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 150 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

e. Cesación de la ciclicidad (Tipo 3)

Los primeros incrementos de progesterona se presentan generalmente hacia el día 50 posparto, pudiendo obedecer a un ITP4, a un “calor silencioso”, aparentemente sin ovulación, no conducente a una actividad luteal normal o a una actividad luteal normal, la cual es producida luego de un calor manifiesto y la respectiva ovulación. Hay interrupción de la actividad ovárica por un periodo indeterminado. Las hembras al reiniciar la ciclicidad pueden recibir dos o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 100 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

f. Anovulación prolongada (Tipo 4)

Puede presentar esporádicamente o no presentar ITP4 o un “calor silencioso”, aparentemente sin ovulación, no conducente a una actividad luteal normal, la cual es seguida por una interrupción de la actividad ovárica hasta después del día 150 posparto, cuando se presenta el reinicio de la ciclicidad. Las hembras pueden recibir dos o más servicios antes de lograr una concepción efectiva (después del día 150 posparto) con capacidad para el mantenimiento de la preñez (Opsomer *et al.*, 1998).

2.5. Niveles suprabasales de progesterona

En estudios controlados se ha observado como las hembras que se denominan repetidoras de servicio o de calor presentan una asincronía hormonal durante el estro caracterizada por niveles de progesterona que significativamente exceden los niveles normales, a estos niveles se les ha denominado niveles suprabasales de progesterona, es decir que se produce un exceso de hormona (Duchens *et al.*, 1995).

Ello ha estado relacionado con un retardo en el pico de LH y la presencia de un folículo de mayor tamaño y de vida media más larga, lo que pudiera estar alterando la estricta secuencia de cambios en el crecimiento y desarrollo del folículo preovulatorio y causando efectos detrimentales sobre el oocito que resultan en una disminución de la fertilidad. De otra parte, ha sido demostrado que un incremento de los niveles de progesterona en la fase luteal temprana, de alguna manera controlan o determinan el tiempo en que se produce la luteólisis, alterando la duración del ciclo estral (Mann *et al.*, 1998). Por el contrario, cuando se presenta un retardo en el incremento de los niveles de progesterona puede darse como resultado una más tardía luteólisis y un ciclo estral de mayor duración (Bage *et al.*, 1997).

2.6 Anestro posparto en vacas lecheras

El anestro posparto es la ausencia de comportamiento estral en un período de tiempo esperado; es un evento fisiológico normal que tiene un promedio de tiempo, bajo condiciones pastoriles o extensivas de 45 a 60 días. Actualmente el anestro posparto se clasifica según la dinámica folicular y luteal, en:

Tipo I: emerge una onda folicular pero no existe desviación de los folículos; esta condición ocurre en menos del 10% de las vacas de un rodeo y es causada básicamente por una extrema subnutrición (Peter, 1984).

Tipo II: desviación y crecimiento de los folículos, con o sin folículo dominante (FD), seguido de atresia o regresión. En este caso o existe una baja pulsatilidad de LH o el folículo produce pocas concentraciones de E2 (Peter, 1984).

Tipo III: crecimiento y establecimiento de un FD pero éste no ovula, persistiendo en el ovario. Puede ser causado por que el hipotálamo esta insensible al feedback positivo del estradiol o por una respuesta alterada del folículo a las gonadotrofinas (Peter, 1984).

El anestro posparto está influenciado directamente por varios factores entre los cuales se encuentran la condición corporal en el primer tercio de lactancia, el balance energético negativo, la edad, el tipo de manejo y la producción lechera, esta última es muy importante ya que existe una relación directamente proporcional entre la producción láctea y el intervalo parto y primer celo posparto, mientras la producción láctea es mayor el intervalo entre el parto y el primer celo posparto aumenta al igual que la presencia de celos silenciosos (Morales y Cavestani, 2012).

2.7 Mecanismos del parto en vacas lecheras

El parto es el proceso fisiológico por el cual el feto viable es expulsado junto con los fluidos y las membranas fetales fuera del útero materno. Debido a que la gestación depende de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, la luteólisis es un paso fundamental e indispensable para el desencadenamiento del parto. El estrés fetal produce la liberación de ACTH y por ende la activación del eje hipotálamo – hipófisis adrenal fetal esto estaría provocado a nivel del núcleo paraventricular y de aquí la importancia del sistema nervioso central. El cortisol fetal induce cambios enzimáticos en las carúnculas de la placenta y aumenta la producción de estrógenos a partir de la pregnolonona. La concentración de corticosteroides fetales va de 5ng/ml 3 semanas antes del parto a 25ng/ml 4 días previos al parto y la ACTH fetal se incrementa marcadamente 2 días antes del parto y los corticosteroides fetales llegan a 70 ng/ml, hay un incremento marcado de androstenidiona, testosterona, sulfato de estrógenos en los últimos 20 días de la gestación, la progesterona declina 2 a 3 semanas

preparto, para caer debajo de 1ng/ml al término de la gestación y/o después del parto. Los estrógenos estimulan la liberación de prostaglandina 2 α por el endometrio y ambos se encargan de provocar la lisis del cuerpo lúteo (Bartolome y Taurus, 2009).

2.11 Radioinmunoanálisis y su importancia en reproducción animal

El radioinmunoanálisis (RIA) es quizás el más importante medio en las mediciones biológicas de los últimos 40 años y un invaluable instrumento para la utilización pacífica de los radioisótopos. El éxito de esta técnica se puede atribuir a su alta sensibilidad, especificidad y facilidad ya que puede ser usado para medir sustancias que antes no se podían detectar, tales como las hormonas y péptidos sanguíneos siendo aplicable a una amplia variedad de compuestos (Ramírez, 2008).

Todas las técnicas involucran la combinación de dos elementos, uno es el aglutinante (binder) y el otro es el ligando (o sustancia medida). El término que mejor abarca todo el campo del radioinmunoanálisis es “binding assay” o ensayos de aglutinación; esto significa cualquier procedimiento en el cual la cuantificación de una sustancia, depende de la progresiva saturación de un aglutinante específico para ella, y la subsecuente determinación de su distribución de sus fases unidas (bound) y libres (free). Este principio general incluye diferentes aglutinantes y diferentes métodos para determinar la distribución entre fases unidas y libres. La más corriente subdivisión de los ensayos de aglutinación están basados en la naturaleza del aglutinante empleado en los inmunoensayos, éste es un anticuerpo; en otros tipos de ensayos de aglutinación, el aglutinante puede ser una proteína de competencia, de origen natural, o células receptoras de origen natural. La reacción antígeno-anticuerpo en los inmunoensayos se puede revelar por la incorporación de un marcador en la molécula del ligando, el cual

en el caso de RIA es un isótopo radiactivo. La separación de las fases unidas y libres, consiste en la separación del antígeno marcado que se ha unido al anticuerpo de aquella que permanece libre. Los métodos para producir dicha separación pueden ser por precipitación química del complejo hormona-anticuerpo, adsorción de la hormona libre con carbón activado, inmunológico mediante la utilización de un segundo anticuerpo preparado contra el primer anticuerpo y separación en fase sólida usando anticuerpos fijados en las paredes de los tubos o pozos de plástico donde se realiza la reacción. Como la distribución de las fases se sigue por la incorporación de un trazador o marcador, éste no tiene que ser necesariamente un radioisótopo, él puede ser cualquier sustancia que sea factible medirla en muy pequeñas cantidades, tales como un compuesto fluorescente, fluoroinmunoanálisis (FIA) o una enzima, enzimoimmunoanálisis (EIA o ELISA). Cuando el elemento marcado es el aglutinante en vez del ligando se denominan ensayos inmunométricos (Ramírez, 2008).

La técnica se basa en la competencia entre una hormona marcada con una no marcada, a través de un limitado número de sitios de unión en la molécula de una sustancia denominada “anticuerpo”, de esta manera se produce una reacción entre los niveles de anticuerpos con similares niveles de la hormona previamente marcada; variando solamente las cantidades de la hormona. Una vez pasado un tiempo prudente de incubación para el ensayo se separan las partes unidas y libres y se realiza el contaje del nivel de radiactividad residual en un equipo especialmente diseñado, de tal manera que a mayor radiactividad residual mayor la concentración de la hormona la cual posteriormente se cuantifica a través de una aplicación probabilística con desviación de la curva estandar (Ramírez, 2008).

CAPÍTULO III

DISEÑO Y LA CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis

En vacas de raza Holsteín el restablecimiento de la ciclicidad estral posparto está determinado directamente por la influencia de adecuados niveles de progesterona (P4) y 17β estradiol.

3.2. Ubicación geográfica

El presente estudio se realizó en 9 hatos lecheros y/o predios ubicados dentro de la campiña de Cajamarca, que cuentan con las siguientes características agrometeorológicas*:

◆ Altitud	:	2 680 m.s.n.m.
◆ Latitud Sur	:	8° 02´
◆ Longitud Oeste	:	72° 20´
◆ Temperatura Promedio Anual	:	16.8°C.
◆ Temperatura Máxima Promedio	:	21° C
◆ Temperatura Mínima Promedio	:	08° C.
◆ Precipitación Promedio Anual	:	660 - 720 mm.
◆ Humedad Relativa Media Anual	:	73 %.
◆ Radiación Global	:	435 Long./día.
◆ Insolación Promedio Anual	:	6.0 horas de sol.

* Fuente: SENAMHI 2013 – Cajamarca.

3.3. Materiales

3.3.1. Material biológico

Para el presente estudio se tomó una muestra de 18 vacas de raza Holsteín posparto que se encontraban el primer tercio de lactancia con respecto a toda su campaña productiva, pertenecientes a 9 diferentes predios de la campiña de Cajamarca, se decidió muestrear vacas de diferentes predios para obtener un perfil hormonal con mayor homogeneidad a nivel de un ámbito territorial referido a la campiña de Cajamarca como tal (*anexo 10*).

3.3.2. Criterios de inclusión

Se evaluaron vacas de raza Holstein sometidas a un sistema de manejo y alimentación mixta (forraje y concentrado) similares. La evaluación dio inicio en momentos (horas) próximas a la conclusión del parto con la primera toma de muestras de sangre, para lo cual previamente se identificaron y seleccionaron vacas que se encontraban dentro del primer tercio de lactancia, con un número de partos comprendido entre 3 y 5, incluido el parto actual para el presente estudio, con pesos, registros productivos y antecedentes reproductivos equivalentes y con una condición corporal al parto comprendida entre 3.0 a 3.5 (escala americana: 1 - 5) después del parto (*anexo10*).

3.3.3. Criterios de exclusión

Se excluyó de este estudio aquellas vacas que no estuvieron sometidas a un manejo similar y a una dotación de alimentación mixta (forraje y concentrado), de raza diferente a la Holstein, o en el segundo tercio de lactancia, o que tuvieron menos de tres y más de cinco partos incluido el parto actual para el presente estudio, con pesos, registros productivos y antecedentes reproductivos muy

diferentes, o con condiciones corporales por debajo de 3.0 y superiores a 3.5 (escala americana: 1-5) después del parto.

3.3.4. Material de campo

- Botas
- Mameluco
- Sogas
- Bolígrafos
- Cuaderno de apuntes

3.3.5. Material de laboratorio

- Tubos de vidrio al vacío para recolección de muestra de sangre
- Agujas hipodérmicas
- Centrífuga
- Guantes quirúrgicos descartables
- Congeladora
- Kuler para transporte de muestras

3.3.6. Material complementario

- Kit para medición de progesterona
- Kit para medición de estrógenos
- Cámara fotográfica

3.4. Metodología

3.4.1. Descripción metodológica

La evaluación se inició con la toma de muestras de sangre de un total de 18 vacas mediante punción de la vena coccígea en cuatro etapas para cada una: al parto (horas próximas al concluir el parto), 30, 60 y 90 días post parto. Las muestras de sangre fueron procesadas para obtener los sueros sanguíneos respectivos y someterlos posteriormente a la prueba de radioinmuno análisis (RIA) para determinar los niveles de progesterona (P4) y 17β estradiol desde el

parto hasta los 90 días post parto. La prueba de radioinmuno análisis en fase solida se realizó en el laboratorio clínico LIZZDAN ubicado en la ciudad de Trujillo. (*Ver anexos 1 y 2*).

3.4.2. Tipo de investigación

El presente estudio ha tenido como objetivo determinar los niveles hormonales de progesterona (P4) y 17 β estradiol y relacionarlos con el reinicio de la ciclicidad estral; por lo tanto es un estudio experimental de nivel correlacional.

3.4.3. Muestreos sanguíneos y obtención de sueros

Se tomaron muestras de sangre al parto (horas próximas a la conclusión del parto) de la vaca y luego a los 30, 60 y 90 días post parto mediante punción de la vena coccígea, en tubos de vacío sin anticoagulante de 5 ml. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2,500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero el cual fue mantenido posteriormente a -12°C hasta la cuantificación de los niveles de progesterona y 17 β estradiol por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida Las muestras de suero fueron enviadas al laboratorio clínico “Lizdan” ubicado en la ciudad de Trujillo (*anexos 11, 12, 13 y 14*), para que se realice las pruebas de radionimunoanálisis respectivas, los resultados fueron remitidos posteriormente al encargado del presente estudio de investigación. (*anexos 1 y 2*).

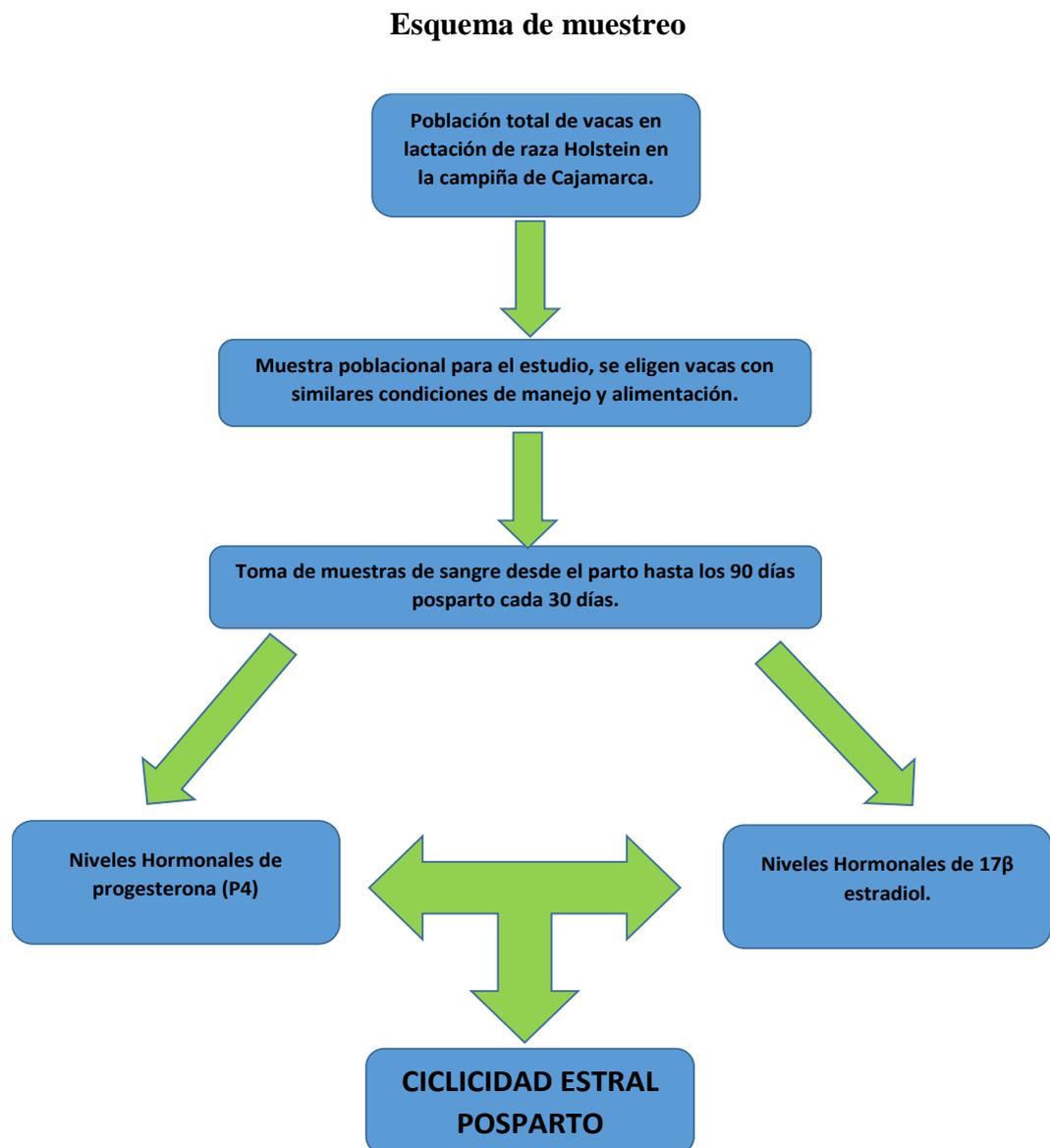
3.4.4. Prueba de Radio inmunoanálisis

Las pruebas fueron realizadas en el laboratorio de diagnóstico clínico “Lizdan” ubicado en la ciudad de Trujillo; el método para realizar las pruebas tuvo secuencias de preparación de muestra, precipitación previa para el recuento

de antígeno, combinación con reactivos y cuantificación de resultados relacionados a la ciclicidad estral (*anexos 11, 12, 13 y 14*).

3.4.5. Esquema de muestreo

Para el presente trabajo de investigación se tomaron en cuenta algunos factores tales como: sistema de crianza y alimentación, niveles hormonales y valores referenciales de ciclicidad, en tal sentido se planteó el siguiente esquema de muestreo.



3.4.6. Diseño procedimental.

N° vaca	TOMA DE MUESTRA A LOS X DÍAS POST PARTO																																						
	7			14			21			28			35			42			49			56			63			70			77			84			90		
	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC	Pg	Es	CC			
1																																							
2																																							
3																																							
4																																							
5																																							
6																																							
7																																							
8																																							
9																																							
10																																							
11																																							
12																																							
13																																							
14																																							
15																																							
16																																							
17																																							
18																																							

Donde:

- Pg: Progesterona
- Es: Estrogenos
- CC: Condición corporal

3.5. Análisis estadístico

El presente estudio analiza los cambios que se producen en los niveles de la progesterona (P4) y estradiol (17β) desde el parto hasta el día 90 post parto y lo relaciona con la condición corporal en el mismo periodo de estudio. Por lo que primeramente se determinó la normalidad y homogeneidad de varianzas de las variables en estudio, mediante las pruebas de ShapiroWilk y Levene. Según los resultados se utilizaron la prueba de Kruskall- Wallis y la expresión de los mismos a través de figuras de caja de bigotes y gráficos para determinar la relación entre variables; por ser variables cuantitativas se realizó pruebas de regresión (ajustando el modelo mediante una regresión cuadrática) (*anexos 2, 3, 4, 5,6, 7 y 8*).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Se consideró como reinicio de la ciclicidad estral; cuando los niveles de progesterona estuvieron cercanos o superiores a 1ng/ml como promedio general en un mismo periodo; teniendo en cuenta esto podemos notar según la tabla 01 que el reinicio de la ciclicidad estral se da en el periodo comprendido entre los 30 a 60 días posparto, durante este periodo el 66.54% (11/18) de las vacas presentaron niveles cercanos a 1ng/ml. Por otro lado el 38.8% (7/18) de las vacas presentaron un reinicio a la ciclicidad estral con niveles superiores a 1mg/ml, en el periodo comprendido entre los 60 a 90 días posparto.

Tabla 1: Niveles de Progesterona desde el Inicio (Parto), de 30 a 60 días y de 60 a 90 días pos parto.

Periodo de Estudio			Progesterona (ng/ml)	Intervalo de confianza al 95%	
Fases	Número Total de Vacas	Condición		Mínimo	Máximo
Al Parto	18	No ciclicidad	0,44±0,20	0,340	0,536
Desde el parto a 30 días	18	No ciclicidad	0,427±0,16	0,349	0,505
30 a 60 días	11	Ciclicidad	0,977±0,26	0,790	1,164
	7	No ciclicidad	0,703±0,32	0,437	0,968
60 a 90 días	18	Ciclicidad	1,718±0,3957	1,514	1,921

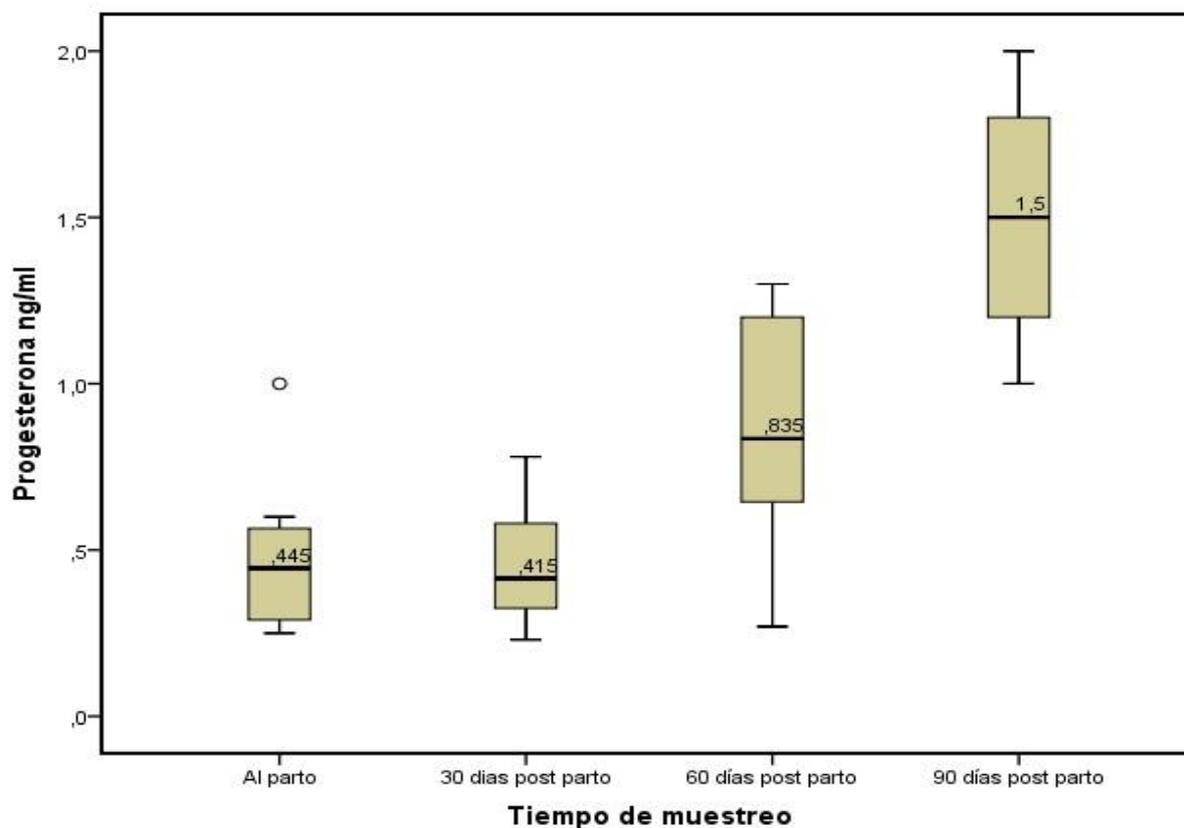


Figura 1: Caja de bigotes de Niveles de Progesterona desde el Inicio (Parto), de 30 a 60 días y de 60 a 90 días postparto.

La tendencia o la relación que existió entre el tiempo de muestreo con los niveles de progesterona de las 18 vacas fue directamente proporcional ($r: 0,848$), con una tendencia cuadrática (figura 2), demostrando que desde el parto cuyo nivel promedio de progesterona fue de 0,454 ($P < 0,01$), hasta los 30 días el decremento no fue significativo ($\beta_1: 0,004$; $P > 0,05$), a partir de los 30 días existió un incremento de los niveles de progesterona no muy elevado pero significativo ($\beta_2: -0,0002$; $P < 0,01$).

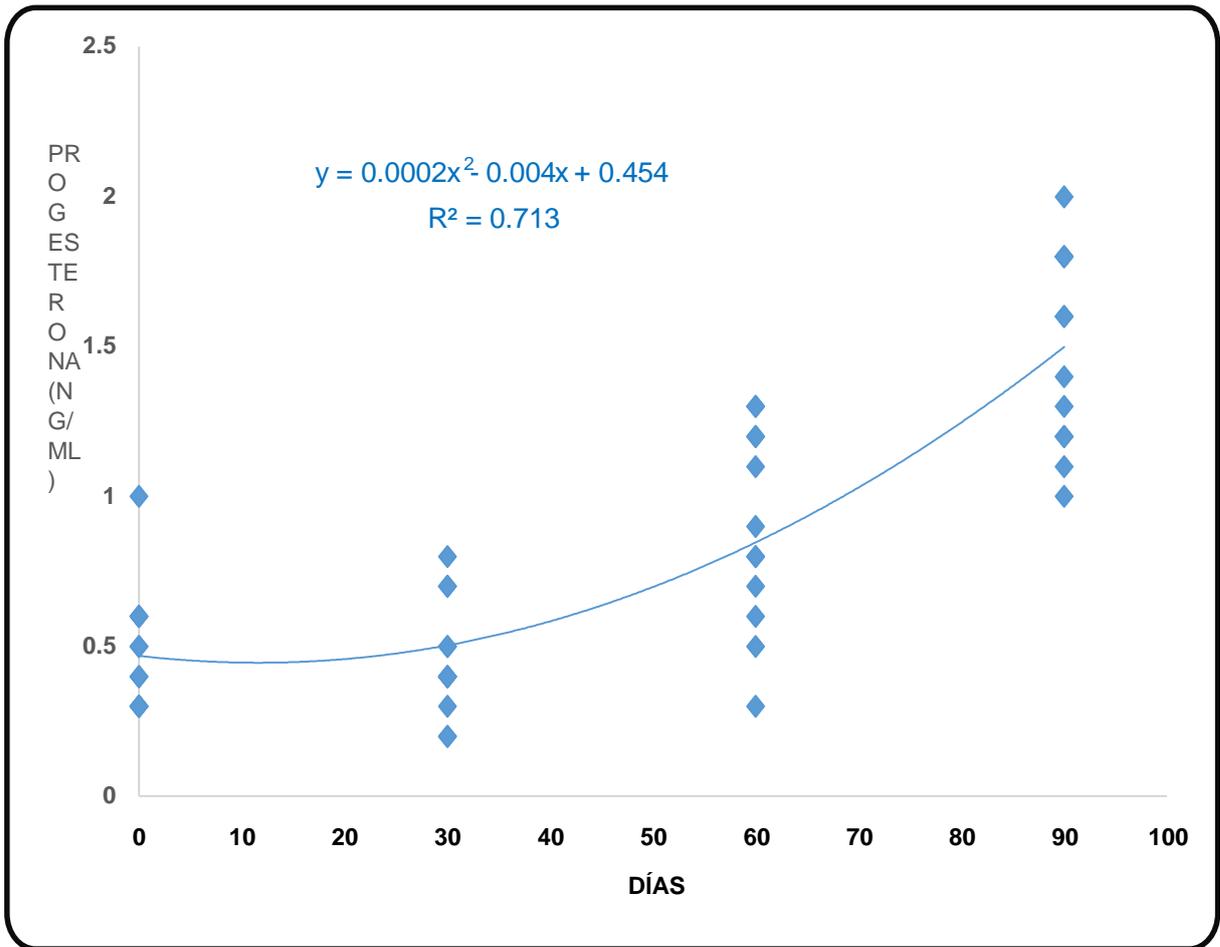


Figura 2: Tendencia de los Niveles de Progesterona desde el Inicio (Parto), de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto.

A lo largo del periodo del estudio se puede notar una tendencia creciente ($r: 0,848$) de los niveles de progesterona (P4) lo cual indica que los niveles de P4 al culminar el parto son minimos (menores a 0,5 ng/ml) y se van increnetando a medida que se acercan al día 60 posparto alcanzando valores sulteriores a 1 ng/ml.

Los niveles de 17β estradiol presentan valores elevados próximos a la culminación del parto, disminuyendo gradualmente hasta los 30 días posparto (Tabla 2), seguidamente en los periodos de 30 a 60 y de 60 a 90 días posparto se incrementan gradualmente por encima de 10 pg/ml, lo que sería un indicativo del reinicio de la ciclicidad estral.

Tabla 2: Niveles de 17β estradiol desde el Inicio (Parto), de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto.

Periodo de Estudio			Estradiol (pg/ml)	Intervalo de confianza al 95%	
Fases	Número Total de Vacas	Condición		Mínimo	Máximo
Al Parto	18	No ciclicidad	25,25±4,73	22,90	27,60
Desde el parto a 30 días	18	No ciclicidad	8,811±0,71	8,458	9,164
30 a 60 días	11	Ciclicidad	10,260±0,412	9,966	10,554
	07	No ciclicidad	9,988±0,40	9,164	9,652
60 a 90 días	17	Ciclicidad	11,988±0,50	11,732	12,245

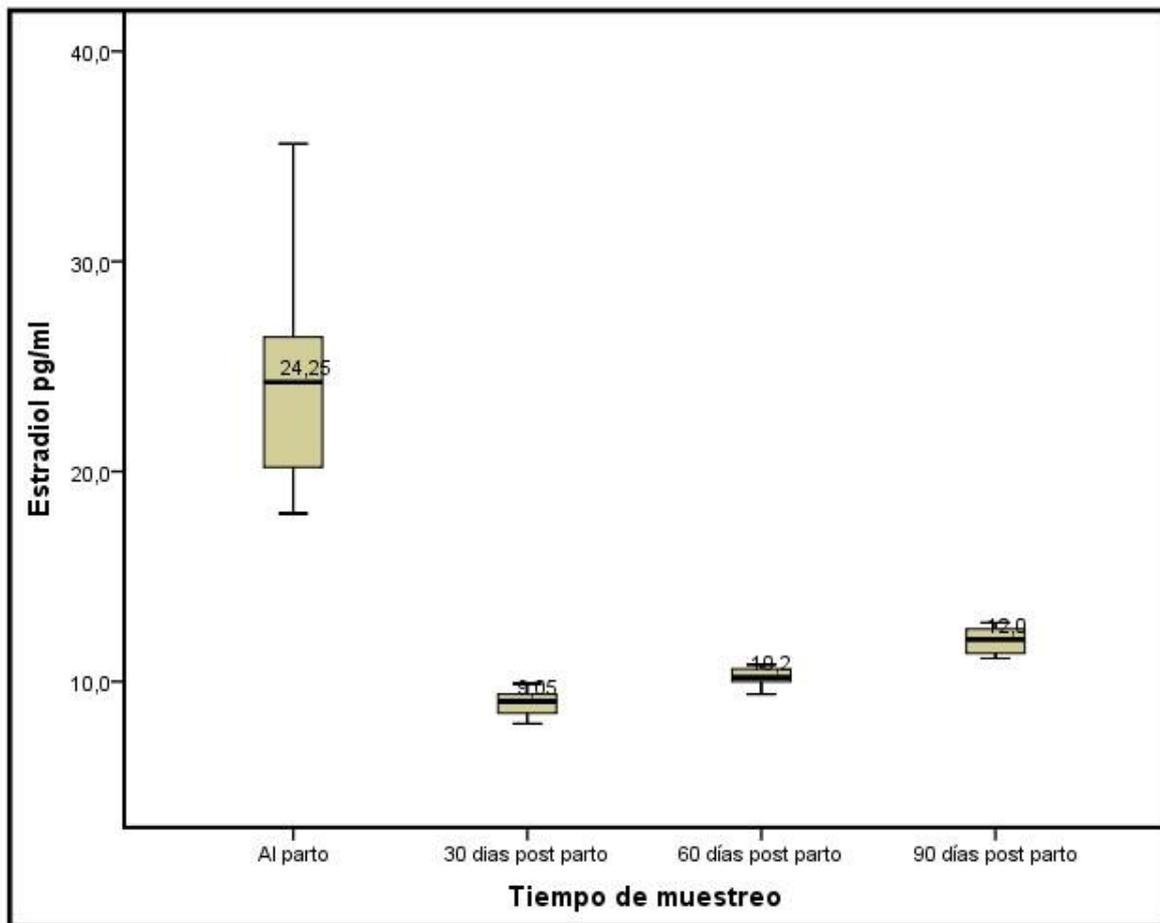


Figura 3: Caja de bigotes de Niveles de 17β estradiol desde el Inicio (Parto), de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto.

Existe una tendencia decreciente de los niveles de estradiol hasta el día 30 posparto, mostrando un incremento paulatino de los niveles hormonales en estudio hasta el día 90 posparto, el reinicio de la ciclicidad estral se puede notar a partir del periodo comprendido entre los 30 a 60 días posparto. Los valores de 17β estradiol estuvieron comprendidos entre 9,05 y 10,2 pg/ml de suero sanguíneo.

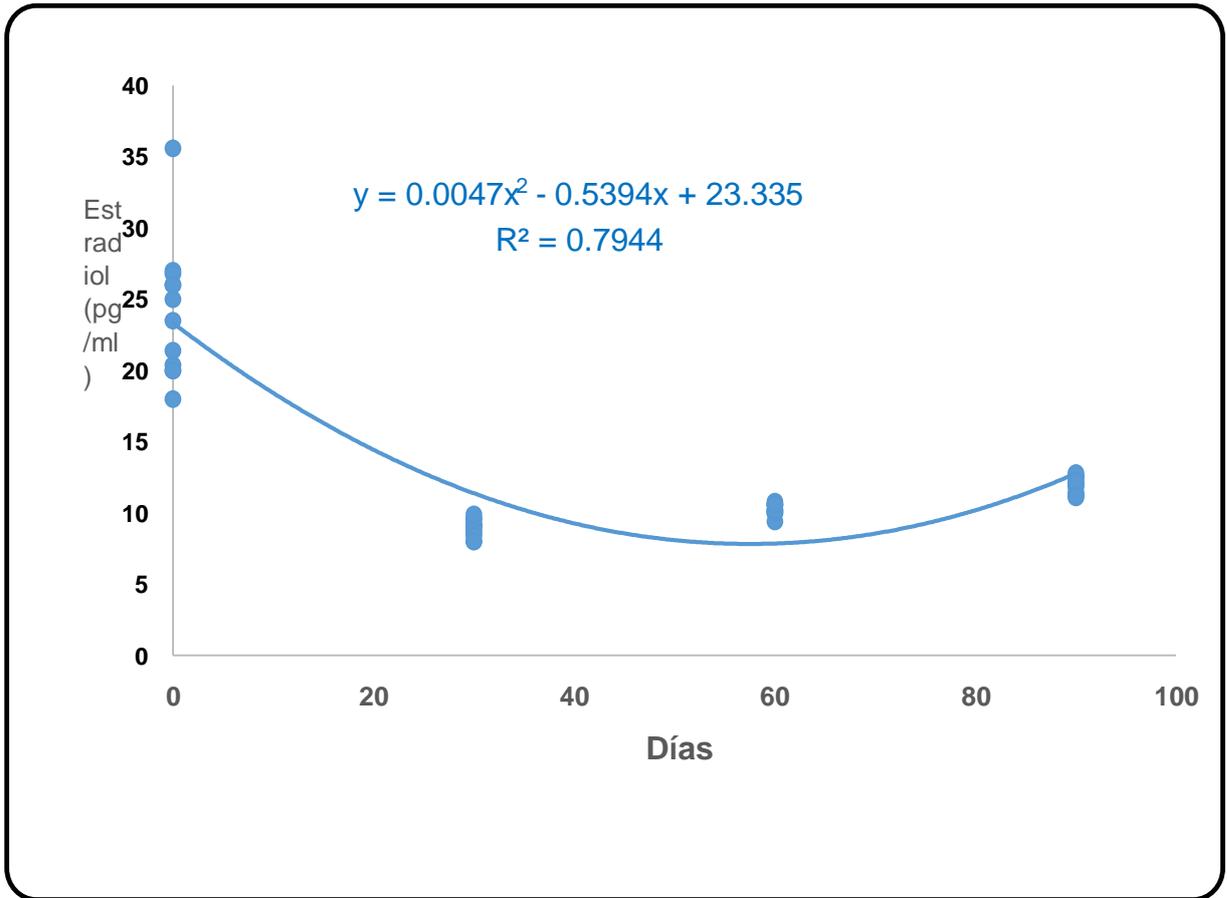


Figura 4: Tendencia de los niveles de 17β estradiol desde el inicio (Parto) de 30 a 60 días y de 60 a 90 días posparto.

La tendencia del 17β estradiol es decreciente tomando como punto de inicio el parto hasta el día 30 posparto ($R^2: 0,79$), incrementándose paulatinamente hasta el final del periodo del estudio, lo cual indica que el 17β estradiol comienza a tomar valores cada vez más altos a medida que se avanza en el periodo del posparto durante el primer tercio de la lactancia.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos, se presenta la siguiente discusión:

1. Niveles de progesterona (P4) posparto

Se consideró el reinicio de la ciclicidad estral en el periodo posparto cuando se encontraron niveles de progesterona cercanos o superiores a 1 ng/ml en un mismo periodo de estudio y para toda la población muestral (18 vacas); en tal sentido se puede notar que se encontraron niveles muy bajos de progesterona desde el parto hasta los 30 días posparto; lo cual coincide con lo que manifiestan Bartolome y Taurus (2009), acerca de que la luteólisis es fundamental para el desencadenamiento del parto por lo cual los niveles de progesterona bajan a niveles mínimos, muy por debajo de 1 ng/ml y se mantiene así hasta los 35 días posparto conforme se va avanzando en el primer tercio de la lactación.

La reactivación de la ciclicidad estral posparto, para el presente estudio se da en el periodo de los 30 a 60 días posparto, momento en el cual 11 vacas presentan niveles de progesterona de $0,977 \pm 0,26$ ng/ml; seguidamente entre los 60 a 90 días posparto la totalidad del grupo de estudio (18 vacas) presentan niveles promedio de progesterona de $1,718 \pm 0,3957$ ng/ml; estos resultados guardan relación con lo que informa Baez (2010), que determinó en su trabajo de investigación, un retorno a la ciclicidad estral posparto relacionada con niveles de progesterona superiores a 1ng/ml obtenidos en tres muestreos consecutivos a partir del día 72 posparto; aún más el mismo Baez

(2010), calculó un nivel promedio de 1,15ng/ml de progesterona para todo su grupo de estudio y hacia el momento de la presentación del celo.

De manera similar Pinzon y Grajales (2005), manifestaron que el reinicio de la ciclicidad estral posparto se dio con incrementos de progesterona superiores a 1 ng/ml, los cuales se manifestaron a partir del día 36 posparto y cuyo valor promedio alcanzó 1,99 ng/ml.

Por otro lado Becker *et al.*, (2001) menciona en su trabajo de investigación, que la reactivación ovárica se dio a los 45 días posparto; dicha reactivación fue relacionada con niveles de progesterona superiores a 1 ng/ml a través de muestreos sanguíneos.

De acuerdo a la figura 1 y 2 del presente estudio se puede notar que los valores de progesterona se van incrementando conforme se va avanzando en el primer tercio del periodo posparto; debido a que la actividad cíclica ovárica va retornando a la normalidad paulatinamente; este resultado es similar a lo que indica Baez (2010), ya que el menciona de acuerdo a sus resultados que los niveles de progesterona se van incrementando de manera continua aproximadamente hasta el día 72.

Al respecto Opsomer *et al.*, (1998) menciona que existe un tipo de reactivación ovárica determinado por la concentración de los niveles de progesterona, denominado “**Actividad normal tipo 1**” la cual se caracteriza por un reinicio de la ciclicidad estral antes del día 80 posparto, caracterizado por incrementos sucesivos de progesterona y con la consecuente presentación de ciclos estrales cortos.

De la totalidad del grupo de estudio (18 vacas) 11 vacas retornaron a la ciclicidad estral en el periodo comprendido entre los 30 a 60 días posparto lo cual representa el 61%, mientras que el 39% retorno a la ciclicidad estral a partir de los 60 días posparto. Como se puede notar hay una gran variabilidad en cuanto al tiempo de retorno a la ciclicidad estral, esto puede deberse a que existen muchos factores que determinan el periodo parto- retorno a la ciclicidad posparto e influencias directamente el periodo de duración para el restablecimiento de la ciclicidad estral.

Lo anteriormente dicho está respaldado por lo que menciona Lucy *et al.*, (1992), acerca de que el anestro posparto (falta de ciclicidad) están influenciados directamente por factores tales como la nutrición, la salud, la raza, producción de leche, presencia del macho, factores climatológicos y la edad.

Hopkins (1986), menciona que los factores de manejo externo influyen tan profundamente sobre la reproducción, que aproximadamente el 80% de un hato lechero presentará celo silencioso dentro del primer tercio de la lactancia relacionado a una inadecuada o incluso ausente dinámica hormonal.

Durante el periodo de estudio se pudo notar una tendencia creciente ($r: 0,848$) de los niveles de progesterona lo que indica una recuperación paulatina de la funcionalidad ovárica con ciclos estrales regulares; este comportamiento también fue descrito por Baez (2010), ya que menciona un incremento paulatino de los niveles de progesterona con forme se va avanzando en el primer tercio del periodo posparto hasta el día 120 posparto.

En forma general se puede notar que las vacas van retornando a la actividad sexual reproductiva conforme se va avanzando en el periodo posparto sin embargo esto también puede estar influenciado no sólo por las concentraciones adecuadas de progesterona si no también por la presencia de otras hembras en el mismo grupo, lo que concuerda con lo que menciona Becker *et al.*, (2001) indicando que aún en presencia de celos evidentes naturales y un funcionamiento ovárico aparentemente normal se necesita de un grupo sexualmente activo en el hato para desencadenar la secreción de niveles adecuados de progesterona y consecuentemente la presentación de ciclicidad estral con o sin presencia de celo evidente.

2. Niveles de 17 β estradiol posparto

Los niveles de 17 β estradiol son de 25,25 \pm 4,73 pg/ml al momento del parto (primera toma de muestra) y corresponde a los valores más altos en todo el periodo del presente estudio, al respecto Bartolome (2009), menciona que se produce un incremento de los niveles de estradiol hacia los últimos 20 días de la gestación ya que estimula las contracciones uterinas y estimula la producción de prostaglandina 2 α para el desencadenamiento del parto.

Báez (2010), menciona que los niveles de estrógenos son elevados desde aproximadamente 20 días previos al parto y se mantienen así hasta los 4 días posteriores al parto, sin embargo la reactivación ovárica con la producción de un ciclo ovulatorio según su estudio se presentó a partir del día 72 posparto.

En el periodo comprendido entre el parto y los 30 días posteriores, los niveles de 17β estradiol fueron de $8,81\pm 0,71$ pg/ml; seguidamente entre los 30 y 60 días posparto los niveles de 17β estradiol fueron de $10,260\pm 0,412$ pg/ml. Day (2003), hace referencia al funcionamiento hormonal de la vaca en el periodo posparto indicando que los niveles de estradiol se van recuperando conforme se avanza en el primer tercio de la lactancia, más aún menciona que los promedios de estradiol necesarios para el restablecimiento de la ciclicidad estral superan los 8 pg/ml.

Bález (2010), encontró niveles medios de $26,43\pm 5.6$ pg/ml de 17β estradiol en momentos cercanos a la primera ovulación y con ciclos estrales de duración corta; Bález (2010) difiere con los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, posiblemente porque los muestreos que él realizó fueron más frecuentes (4 veces por semana) y la duración del periodo de su estudio fue más extensa; hasta el día 120 posparto. Bajo las condiciones antes mencionadas es posible que Bález (2010), haya coincidido en la toma de muestra con el punto más álgido del ciclo estral cercano a una ovulación.

En un estudio mencionado por Lanning *et al.*, (1981), se determinó que el ciclo estral con presentación de la ovulación en vacas lecheras, se produce con niveles adecuados de 17β estradiol y que a su vez desencadena todos los signos externos de un celo con altas posibilidades de fecundación.

Durante los 60 a 90 días posparto se presentaron niveles promedio de $11,988 \pm 0,50$ pg/ml de 17β estradiol, lo cual indica un retorno a la ciclicidad con reactivación de la función ovárica.

En general se puede notar que los valores de 17β estradiol disminuyen a partir del parto hasta los 30 días posparto, momento en el cual se estabilizan y comienzan a incrementarse hasta los 90 días posparto; es necesario recalcar que el 66% de las vacas presentan aparente ciclicidad en el periodo comprendido entre los 30 a 60 días posparto; sin embargo Báez (2010) menciona que los valores obtenidos a través de muestreos sanguíneos no necesariamente indican a ciencia cierta el comportamiento de los ovarios, si no que a partir de las variaciones entre muestreos observadas como perfiles del 17β estradiol, se sugiere una dinámica referida al crecimiento y atresia folicular que afecta directamente a los valores y variaciones de las concentraciones de la hormona.

En relación a los resultados encontrados se considera que se produce un retorno a la ciclicidad estral posparto conforme se van incrementando los niveles de 17β estradiol a lo largo del periodo de estudio; lo cual podría indicar una recuperación progresiva de la actividad ovárica que implica maduración y desarrollo folicular con la consiguiente ovulación. Esta afirmación guarda relación con lo que menciona Pinzón y Grajales (2005), acerca de que el restablecimiento de la ciclicidad estral posparto guarda relación con la recuperación de la función ovárica expresado a través de la dinámica folicular la misma que guarda relación con ciclos pausados de 17β estradiol.

Báez (2010), reporta niveles elevados de 17β estradiol con un valor máximo de hasta $43,76\pm 6,5$ pg/ml; como en el caso anterior nuevamente esto puede deberse a que él realizó muestreos con mayor frecuencia de hasta 4 tomas de sangre por semana por vaca y hasta el día 120 posparto, con el posible incremento de la posibilidad de coincidir con el punto más alto de secreción de estradiol en un momento determinado del ciclo estral.

Después del parto se puede notar un fuerte descenso de los niveles de 17β estradiol, hasta el día 30 posparto ($r: 0,88$), a partir de este momento los niveles de estrógenos se van incrementando hasta el día 90 posparto, esta variación hormonal a nivel de valores numéricos es similar a lo que reporta Báez (2010), que menciona que a lo largo del periodo de la lactancia (120 días posparto) el 17β estradiol presenta variaciones en mayor o menor grado, pero que a partir del día 72 los niveles se estabilizan y presentan valores cada vez más elevados, lo cual se expresa a través de una tendencia lineal creciente ($r: 0,66$) lo cual indicaría posiblemente una recuperación paulatina de los niveles de estradiol en forma global teniendo en cuenta a todo el grupo de estudio.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, se presentan las siguientes conclusiones:

1. Se pudo apreciar que el retorno a la ciclicidad estral posparto se dio cuando se encontraron niveles de progesterona (P4) cercanos o superiores a 1 ng/ml de suero sanguíneo en un mismo periodo de estudio.
2. Se pudo apreciar que, el reinicio de la ciclicidad estral posparto se da en la medida que se estabilizan los niveles del 17β estradiol y se incrementan progresivamente los niveles de progesterona (P4).
3. El 66.6% de las vacas estudiadas mostró un retorno a la ciclicidad estral posparto, de estas el 91% presento niveles hormonales adecuados entre los 30 y 60 días posparto.
4. Los niveles del 17β estradiol presentaron alta variabilidad; pero con tendencia creciente tomando en cuenta el periodo total del estudio.

CAPÍTULO VII

LISTA DE REFERENCIAS

Aller, J. Callejas, S. y Alberio, R. (2008). *Dinámica folicular posparto y comportamiento del amamantamiento en razas Angus y Criolla Argentina*. Vol. 57:477-488.

Amstalden, M. Garcia, M.R. Williams, S.W. Stanko, R.L. Nizielski, S.E. y Morrison, S.D. (2000). *Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to shortterm fasting in prepubertal heifers: Relationships to circulating insulin and insulin-like growth factor I*. Biol. Reprod. Vol. 63:127–133.

Arias, P. Rodríguez, M. Szwarcfarb, B. Sinay, I.R. y Moguilevsky, J.A. (1992). *Effect of insulin on LHRH release by perifused hypothalamic fragments*. Neuroendocrinology Vol. 56: 415–418.

Báez, G.M. Grajales, H.A. y Pérez, J.E. (2010). *Caracterización del ciclo estral mediante perfiles de esteroides (progesterona, 17 β -estradiol) en la raza Costeño con cuernos (Bos taurus) en el trópico colombiano*. Tesis inédita. Universidad de Colombia, Colombia.

Baez, G.M. (2010) *Relaciones Hormornales y Dinámica Folicular Durante el Periodo Posparto en Vacas Sanmartinero*. Tesis inédita. Universidad Colombia, Colombia.

Bage, R. Gustafsson, H. Forsberg, B. Larsson, B. y Rodríguez, H. (1997) *Suprabasal progesterone levels in repeat breeder heifers during the pro and oestrous period*. Theriogenology. Tesis inedita. Universidad de Arizona, USA.

Bartolome, J. y Taurus, B. (2009). *Endocrinología y fisiología de la gestación y el parto en el bovino*: Reproducción y manejo ganadero. 3ra edición: Acribia.

Beam, S.W. Butler, W.R. (1997). *Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat*. Biol. Reprod. Tesis inédita. Universidad de Oklahoma, USA.

Becker, S. Inostrosa, V. Peña, S. Gonzales, R. y Serrano, R. (2001). *El inicio de la función ovárica en vacas lecheras primíparas y multíparas: reproducción ganadera. 2da edición. Americana.*

Block, S.S., Butler, W.R., Ehrhardt, R.A., Bell, A.W., Van Amburgh, M.E. y Boisclair Y.R. (2001). *Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance*. J Endocrinol. 2da edición. Mc Hill.

Butler, W.R. (2003). *Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows*. Livestock Production Science. Mc Hill.

Canfield, R.W. y Butler, W.R. (1991). *Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows*. J. Anim. Sci. Tesis inédita. Universidad de Santiago de Compostela.

Day, M.L., Dyer, R.M., Wilson, G.W. y Pope. W.F. (1990). *Influence of estradiol on duration of anestrus and incidence of short estrous cycles in postpartum cows*. Domest. Anim. Endocrinol. Tesis inedita. **Universidad de Columbia, OH.**

Day, M.L. (2003). *Hormonal induction of estrous cycles in anestrus bos taurus beef cows. Animal Reproduction Science 2004 82-83: 487-494 De Rensis F, Scaramuzzi RJ Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow. A Review Theriogenology*. Tesis inedita. Universidad de Columbia, OH.

Duchens, M., Forsberg, M., Gustafsson, H., Edqvist, L.E., y Rodríguez-Martínez, H. (1995). *Reproductive performance of heifers induced to oestrous asynchrony by suprabasal plasma progesterone levels*. Anim. Reprod. Sci. Tesis inedita. Universidad Nacional de Colombia.

Duffy, P., Crowe, M.A., Boland, M.P. y Roche, J.F. (2000) Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. *J. Reprod. Fertil.* Tesis inedita. Universidad Nacional de Colombia.

Ehrhardt, R.A., Slepatis, R.M., Siegal-Willott, J., Van Amburgh, J.E., Bell, A.W. y Boisclair., Y.R. (2000) *Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep.* *J. Endocrinology.* Tesis inedita. Universidad del Estado de Oklahoma.

Fortune, J.E. (1994). *Ovarian follicular growth and development in mammals. 2da edición.* Biology Reproduction. Editorial: Universidad de Antioquia.

Frajblat, M. (2000). *Metabolic state and follicular development the postpartum lactating dairy cow.* PhD dissertation. Tesis inedita. Universidad de Cornell.

Galina, C.S. y Maquivar, M. (2005). *Sistemas de separación de terneros de vacas lactantes y su efecto en la producción de un celo fértil. Congreso internacional de reproducción bovina.* Revista de Intervet Bogotá. 28(2), pp. 123 – 204.

Gilad, E., Meidan, R., Berman, A., Graber, Y. y Wolfenson, D. (1993) *Effect of heat stress on tonic and GnRHinduced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows.* *J Reproductivity Fertil.* Tesis inédita. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Grigera, J. y Bargo, F. (2005) *Evolución del estado corporal en vacas lecheras.* Tesis inédita Universidad Nacional del Litoral.

Hopkins, S.M. (1986) *Bovine anestrus IN D.A Morrow.* Ed. CurrentTeraphy in Theriogenology. 3ra edición. Editorial SAERTRLER.

Jang, M., Mistry, A., Swick, A.G. y Romsos, D.R. (2000) *Leptin rapidly inhibits hypothalamic neuropeptide Y secretion and stimulates corticotropin-releasing hormone*

secretion in adrenalectomized mice. J. Nutr. Tesis inédita. Universidad Del Estado de Michigan.

Jolly, P.D., McDougall, S., Fitzpatrick, L.A., Macmillan, K.L. y Entwistle, K.W. (1995) *Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows.* J. Reprod. Fert. Tesis inédita. University of North Queensland.

Kanuya, N.L., Matiko, M.K., Nkya, R., Bittegeko, S.B.P., Mgasa, M.N. y Reksen, O. (2006) *Seasonal changes in nutritional status and reproductive performance of Zebu cows kept under a traditional agro-pastoral system in Tanzania Trop.* Tesis inédita. Universidad de Sokoine.

Lamming, G.E., Wathes, D.C y Peters, A.R. (1981). *Endocrine patterns in the postpartum cow.* J. Reprod. Fert. Bovine reproductivity. 2da edición. Blakwell Publishing.

Lucy, M.C., Savio, J.D., Badinga, L., De La Sota, R.L. y Thatcher, W.W. (1992) *Factors That Affect Ovarian Follicular Dynamics in Cattle.* J. Anim. Sci. Tesis inédita. Universidad de Florida.

Mann, G.E., Lamming, G.E. y Payne, J.H. (1998) *Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of the luteolytic signal in cows.* J. Reprod. Fert. Tesis inédita. Universidad de Nottingham, Reino Unido.

Mann, G.E. y Lamming, G.E. (2000) *The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow.* Anim Reprod Sci. Tesis inédita. Universidad de Nottingham, Reino Unido.

Mihm, M. (1999) *Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cows.* Reproducción Animal. Tesis inédita. Universidad College Dublin, Irlanda.

Montiel, F. y Ahuja, C. (2005) *Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrous in cattle*. Animal Reproduction Science. Tesis inédita. Universidad Estatal de Veracruz, México.

Morales, J.T. y Cavestani, D. (2012) *Anestro post parto en vacas lecheras y su tratamiento hormonal*. Tesis inédita. Universidad De La República, Uruguay.

Murphy, M.G., Boland, M.P. y Roche, J.F. (1990) *Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows*. Tesis inédita. Universidad College Dublin, Irlanda.

Opsomer, G., Coryn, M., Deluyker, H. y Kruif, A. (1998) *An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving, based on progesterone profiles*. Reprod. Tesis inédita. Universidad de Ghent, Bélgica.

Peters, A.R. (1984) *Reproductive activity of the cow in the post-partum period. I. Factors affecting the length of the post-partum acyclic period*. Disponible en: [www://.1016/0007-1935\(84\)90112-X](http://www://.1016/0007-1935(84)90112-X). Consultado el 24-03-2017.

Pinzon, C. y Grajales, H. (2005) *Niveles de Progesterona y Dinámica Folicular en el Posparto de Vacas Holsteín en Condiciones Del Trópico Bajo Colombiano*. Tesis inédita. Universidad Nacional de Colombia.

Ramírez, L. (2008) *El uso de radioinmunoanálisis (RIA) para la mejora de la eficiencia reproductiva*. Tesis inédita. Universidad de Los Andes.

Roche, J.F., Crowe, M.A. y Boland, M.P., (1992) *Postpartum anestrus in dairy and beef cows*. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S1751731114000251>. Consultado el 13-01-2017.

Sanz, M. (2010) *Dinámica Folicular en vacas post parto con diferentes manejos nutricionales*. Tesis inédita. Universidad de Zaragoza - España.

Salisbury, G.W., Van Dermark, N.L. y Lodge, J.R. (1978) *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*. Disponible en: <http://trove.nla.gov.au/version/46695873>. Consultado el 20-01-2017.

Short, R.E., Bellows, R.A., Moody, E.L. y Howland, B.E. (1972) *Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction*. Tesis inédita. Universidad de Georgia, USA.

Short, R.E., Bellow, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G. y Custer, E.E. (1990) *Physiological mechanisms controlling anestrus and fertility in postpartum beef cattle*. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2180877>. Consultado el 13-04-2017.

Short, R.E. y Adams, D.C. (1988) *Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction*. Disponible en: <https://doi.org/10.4141/cjas88-003>. Consultado el 12-04-2017.

Spicer, I.J., Leung, K., Convey, E.M., Gunther, J., Short, R.E. y Tucker, H.A. (1986) *Anovulation in postpartum suckled beef cows. I. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution, and hormones in serum and follicular fluid*. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00323-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00323-X). Consultado el 14 - 03 - 17.

Spicer, L.J. y Chamberlain, C.S. (1998) *Influence of cortisol and insulin and insulin like growth factor I (IGF-I) induced steroid production and on IGF-I receptors in cultured bovine granulosa cells and thecal cells*, *Reproducción Animal*, 13(4), pp. 36 – 57. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/11/>. Consultado el: 12-04-17.

Spicer, L.J. y Echternkamp, S.E. (1995) *The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals*. Tesis inédita. Universidad del Estado de Oklahoma, USA.

Stevenson, J.S., Lamb, G.C., Hoffmann, D.P. y Minton, J.E. (1997) *Interrelationships of lactating and postpartum anovulation in suckled and milked cows*. Tesis inédita. Universidad de Zaragoza, España.

Villa Godoy, A., Hughes, T.L., Emery, R.S., Chapin, L.T. y Fogwell, R.L. (1988) *Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows*. Tesis inédita. Universidad del Estado de Michigan, USA.

Webb, R., Garnsworthy, P.C., Gong, J.G., Robinson, R.S. y Wathes, D.C. (1999) *Consequences for reproductive function of metabolic adaption to load*. Tesis inédita. Universidad Autonoma de Barcelona, España.

Wettemann, R.P., Lents, C.A., Cicciooli, N.H., White, F.J. y Rubio, I. (2003) *Nutritional and suckling-mediated anovulation in beef cows*. Tesis inédita. Universidad de Oklahoma, USA.

Wettemann, R.P. (1994) *Precalving nutrition/birth weight interaction and rebreeding efficiency*. Tesis inédita. Universidad de Oklahoma, USA.

Williams, G.L., Gazal, O.S., Guzman Vega, G.A. y Stanko, R.L. (1996) *Mechanisms regulation suckling-mediated anovulation in the cow*. Tesis inédita. Universidad del Estado de Texas, USA.

Wilson, S.J., Marion, R.S., Spain, J.N., Spiers, D.E., Keisler, D.H. y Lucy, M.C. (1998) *Effect of controlled heat stress on ovarian function in dairy cattle*: Tesis inédita. Universidad de Missouri, USA.

Wiltbank, M.C., Gumen, A. y Sartori, R. (2002) *Physiological classification of anovulatory conditions in cattle*. Tesis inédita. Universidad de Wisconsin, USA.

Wise, M.E., Armstrong, D.V., Huber, J.T., Hunter, R. y Wiersma, F. (1988) *Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress*. Tesis inédita. Universidad de Arizona, USA.

Yavas, Y., Walton, J.S., (2000) *Postpartum aciclicity in suckled beef cows: a review*. Tesis inédita. Universidad de Guelph, Canada.

Yuan, W., Bao, B., Garverick, H.A., Youngquist, R.S. y Lucy, M.C. (1998) *Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF binding protein-2 in dominant and subordinate follicles*. Tesis inédita.. Universidad de Missouri, USA.

Zollers, W.G., Garverick, H.A., Smith, M.F., Moffatt, R.J., Salfen, B.E. y Youngquist, R.S. (1993) *Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of post partum cows expected to have a short or normal o estrous cycle*. Tesis inédita. Universidad de Missouri, USA.

ANEXOS

Anexo 1: Imágenes de la toma de muestras en campo.





Anexo 2: Prueba de Normalidad de Varianzas de progesterona

Shapiro-Wilk			
Tiempo de muestreo	Estadístico	gl	Sig.
Al parto	0,856	12	0,04
30 días post parto	0,923	12	0,31
60 días post parto	0,937	12	0,46
90 días post parto	0,937	12	0,46

Anexo 3: Prueba de homogeneidad de varianzas de progesterona en vacas en celo

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,855	3	44	0,016

Anexo 4: Prueba de Kruskal .Wallis de 12 vacas de retorno en celo registrando los niveles de progesterona

Tiempo de muestreo	N	Rango promedio
Al parto	12	14,63
30 días post parto	12	13,79
60 días post parto	12	28,46
90 días post parto	12	41,13
Total	48	

Estadísticos de contraste ^{a,b}

	Progesterona ng/ml
Chi-cuadrado	30,917
gl	3
Sig. asintót.	0,000

Anexo 5: Regresión cuadrática entre el tiempo de muestreo y niveles de progesterona.

Resumen del modelo

R	R ²	R ² corregida	Error típico de la estimación
0,848	0,719	0,706	0,270

La variable independiente es Tiempo de muestreo.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	8,405	2	4,203	57,525	0,000
Residual	3,288	45	,073		
Total	11,693	47			

La variable independiente es Tiempo de muestreo.

Coefficientes

	Coefficients no estandarizados		Coefficients estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Días de control	-0,004	0,004	-0,267	-0,967	0,339
Días de control ** 2 (Constante)	0,0002 0,454	0,000 0,076	1,101	3,978 5,965	0,000 0,000

Anexo 6: Prueba de Normalidad de Varianzas del estradiol.

Tiempo de muestreo	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Al parto	0,897	12	0,145
30 días post parto	0,953	12	0,686
60 días post parto	0,899	12	0,156
90 días post parto	0,930	12	0,379

Anexo 7: Prueba de homogeneidad de varianzas de estradiol.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
13,758	3	44	0,000

Anexo 8: Prueba de Kruskal .Wallis de estradiol.

Tiempo de muestreo	N	Rango promedio
Al parto	12	42,50
30 días post parto	12	6,75
60 días post parto	12	18,25
90 días post parto	12	30,50
Total	48	

Estadísticos de contraste^{a,b}

	Estradiol pg/ml
Chi-cuadrado	43,781
gl	3
Sig. asintót.	0,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Tiempo de muestreo

Anexo 9: Regresión cuadrática entre el tiempo de muestreo y niveles de estradiol.

Resumen del modelo

R	R ²	R ² corregida	Error típico de la estimación
0,891	0,794	0,785	3,034

La variable independiente es días de control.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	1600,187	2	800,093	86,927	0,000
Residual	414,188	45	9,204		
Total	2014,375	47			

La variable independiente es Días de control.

Coefficientes

	Coefficients no estandarizados		Coefficients estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
días de control	-0,539	0,046	-2,793	-11,805	0,000
días de control ** 2 (Constante)	0,005	0,000	2,279	9,634	0,000
	23,335	0,854		27,336	0,000

Anexo 10: Distribución de la población de estudio (18 vacas de raza Holsteín).

N°	PREDIO	N° VACAS	NOMBRE VACA	N° MUESTRA
1	El Rincón	2	Rosita	1
			Magali	2
2	El Bosque	2	Lucero	3
			La pinta	4
3	Los sauces	3	Hermosa	5
			Toña	6
			Fina	7
4	Santa Bárbara	2	Lupe	8
			Hermosa	9
5	La esperanza	2	Blanca	10
			Dorita	11
6	Tres Marías	3	78	12
			Paty	13
			S-073	14
7	El Rincón	1	Mary	15
8	Santa María	2	Noble	16
			Negra	17
9	La conga	1	Vaquita	18

Anexo 11: Resultados de laboratorio de radioinmunoanálisis (RIA) de 18 vacas de Raza Holsteín al parto.



CONFIANZA Y SEGURIDAD PARA SU SALUD
 Av. Túpac Amaru N° 736 - ☎ 044-478275
 949096024 - 949592628

SOLICITANTE: César R. Guerra León

MEDICO : Blgo. Clark Richard Rodríguez Dávila.

FECHA : 28-05-13

ANALISIS SOLICITADOS: Progesterona / Estrógenos

Muestra : Suero Sanguíneo de Vaca

Raza: Holstein

Técnica : Radio Inmuno Análisis (RIA)

Resultados

N° Muestra	PROGESTERONA (ng/ml)	ESTRADIOL (pg/ml)
1	0.3	18
2	0.6	20
3	0.4	20.4
4	0.3	24
5	0.25	27
6	1	26.8
7	0.57	26
8	0.56	20
9	0.3	27.8
10	0.46	28
11	0.27	35.6
12	0.18	22
13	0.28	26
14	0.37	29
15	0.49	25
16	0.38	21.4
17	0.5	23.5
18	0.68	34


GIOVANNI KELY CORZO JARA
 ESPEC. EN LABORATORIO CLINICO
 N° 151071


Clark Richard Rodríguez Dávila
 Biólogo
 C.B.P. 11487

Anexo 12: Resultados de laboratorio de radioinmunoanálisis (RIA) de 18 vacas de Raza Holsteín a los 30 días post parto.



CONFIANZA Y SEGURIDAD PARA SU SALUD
 Av. Túpac Amaru N° 736 - ☎ 044-478275
 949096024 - 949592628

SOLICITANTE: César R. Guerra León

MEDICO : Blgo. Clark Richard Rodríguez Dávila.

FÉCHA : 25-06-13

ANALISIS SOLICITADOS: Progesterona / Estrógenos

Muestra : Suero Sanguíneo de Vaca

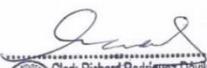
Raza: Holstein

Técnica : Radio Inmuno Análisis (RIA)

Resultados

N° Muestra	PROGESTERONA (ng/ml)	ESTRADIOL (pg/ml)
1	0.67	9.2
2	0.4	9.1
3	0.38	9.6
4	0.35	9.8
5	0.24	8.6
6	0.46	8.8
7	0.36	9.2
8	0.26	9
9	0.38	7.4
10	0.36	8
11	0.49	8
12	0.38	8.6
13	0.69	9.6
14	0.25	9.2
15	0.29	9.9
16	0.78	8.4
17	0.43	8
18	0.54	8.2


 GIOVANNI KELY CORZO JARA
 ESPEC. EN LABORATORIO CLINICO
 N° 154071


 Clark Richard Rodríguez Dávila
 Biólogo
 C.B.P. 11487

Anexo 13: Resultados de laboratorio de radioinmunoanálisis (RIA) de 18 vacas de Raza Holsteín a los 60 días post parto.



CONFIANZA Y SEGURIDAD PARA SU SALUD
 Av. Túpac Amaru N° 736 - ☎ 044-478275
 949096024 - 949592628

SOLICITANTE: César R. Guerra León
 MEDICO : Blgo. Clark Richard Rodríguez Dávila.
 FECHA : 23-07-13
 ANALISIS SOLICITADOS: Progesterona / Estrógenos
 Muestra : Suero Sanguíneo de Vaca Raza: Holstein
 Técnica : Radio Inmuno Análisis (RIA)

Resultados

N° Muestra	PROGESTERONA (ng/ml)	ESTRADIOL (pg/ml)
1	1.3	10.2
2	0.8	10
3	1.2	10.6
4	0.87	10.2
5	0.49	10
6	1.2	9.4
7	0.87	10.6
8	0.6	10
9	1.25	9.4
10	0.79	9.8
11	0.75	10.2
12	0.36	9.6
13	0.69	10.2
14	0.82	10.4
15	0.27	10.6
16	1.1	10.8
17	1.26	10.6
18	0.77	9.9

GIOVANNI KELY CORZO JARA
 ESPEC. EN LABORATORIO CLINICO
 N° 151,071

Clark Richard Rodríguez Dávila
 Biólogo
 C.B.P. 11487

Anexo 13: Resultados de laboratorio de radioinmunoanálisis (RIA) de 18 vacas de Raza Holsteín a los 90 días post parto.



CONFIANZA Y SEGURIDAD PARA SU SALUD
 Av. Túpac Amaru N° 736 - ☎ 044-478275
 949096024 - 949592628

SOLICITANTE: César R. Guerra León

MEDICO : Blgo. Clark Richard Rodríguez Dávila.

FECHA : 21-08-13

ANALISIS SOLICITADOS: Progesterona / Estrógenos

Muestra : Suero Sanguíneo de Vaca

Raza: Holstein

Técnica : Radio Inmuno Análisis (RIA)

Resultados

N° Muestra	PROGESTERONA (ng/ml)	ESTRADIOL (pg/ml)
1	2.0	12
2	1.8	12.4
3	1.6	12.6
4	2.0	12
5	1.4	11.4
6	1.6	12.6
7	1.8	12.8
8	1.0	12
9	2.0	12
10	2.2	12.2
11	1.3	11.3
12	2.2	12.2
13	1.8	11.8
14	2.0	12
15	1.2	12.2
16	1.1	11.1
17	1.2	11.2
18	2.2	12.2


GIOVANNI KELEY CORZO JARA
 ESPEC. EN LABORATORIO CLINICO
 N° 151.071


Clark Richard Rodríguez Dávila
 Biólogo
 C.B.P. 11487