



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

**ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS
NATURALES RENOVABLES**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE INSULINA Y GLUCOSA
COMO INDICADORES DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y
PRODUCTIVA, EN VACAS PUERPERALES DE LA HOYA DE LOJA”.**

**Tesis de grado previa a la obtención
del título de Médico Veterinario
Zootecnista**

Autor:

Cristian Eduardo Rosales Sánchez

Director:

Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo. Ph D

LOJA – ECUADOR

2014

“DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE INSULINA Y GLUCOSA COMO INDICADORES DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA, EN VACAS PUERPERALES DE LA HOYA DE LOJA”.

Tesis presentada al Tribunal de Grado como requisito previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

Aprobada:

Dr. Dubal Antonio Jumbo Jimbo

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Segundo Germán Barragán Fierro Mg. Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. Patricia Soledad Ayora Fernández

MIEMBRO DEL TRIBUNAL




Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo Ph.D
DOCENTE UNIVERSITARIO

Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo Ph.D
DIRECTOR DE TESIS
DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CERTIFICO:

Que el presente trabajo de investigación denominado “**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE INSULINA Y GLUCOSA COMO INDICADORES DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA, EN VACAS PUERPERALES DE LA HOYA DE LOJA**”, realizado por el egresado Cristian Eduardo Rosales Sánchez, previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, ha sido conducido y ejecutado dentro del cronograma de trabajo aprobado, desde su inicio hasta su finalización; por lo tanto, se autoriza se continúe con el trámite de graduación, dicho proyecto es viable y pertinente.

Loja, Febrero del 2014


Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo. Ph D
DIRECTOR DE TESIS.

AUTORÍA

Yo, Cristian Eduardo Rosales Sánchez declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Cristian Eduardo Rosales Sánchez

Firma:



Cédula: 190047638-1

Fecha: Febrero de 2014

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, **Cristian Eduardo Rosales Sánchez**, declaro ser autor, de la tesis titulada **“DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE INSULINA Y GLUCOSA COMO INDICADORES DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA Y PRODUCTIVA, EN VACAS PUERPERALES DE LA HOYA DE LOJA”**, como requisito para optar al grado de: Médico Veterinario Zootecnista , autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los diez días del mes de marzo del dos mil catorce, firma el autor.

Firma:.....

Autor: **Cristian Eduardo Rosales Sánchez**

Número de Cédula: **190047638-1**

Dirección: **Provincia de Loja**

Correo electrónico: **cris.barca@hotmail.com**

Teléfono: **2 613-678**

Celular: **0981903580**

Director de Tesis: **Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo Ph.D**

Tribunal de Grado: **Dr. Dubal Jumbo Jimbo**

Dr. Segundo Barragán Fierro Mg. Sc.

Dra. Patricia Ayora Fernández.

AGRADECIMIENTO

Mi profundo y sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables y a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia; a sus autoridades, que día a día forjan el desarrollo de la misma, y por permitir el desarrollar mis estudios de pregrado.

Agradezco al Dr. Rómulo Chávez Valdiviezo. Ph D., Director de Tesis, quién con gran interés aportó sus valiosos conocimientos para el desarrollo de este trabajo investigativo. Al Dr. Pedro Mogrovejo, por su apoyo para el desarrollo de mis pasantías pre-profesionales y finalmente a los propietarios de las fincas, compañeros dentro y fuera de clases, personas desconocidas que me prestaron su ayuda.

Gracias a Dios y a la Virgen María que me han dado acierto para empezar y dirección para progresar hacia cada una de las metas propuestas. Quiero reiterar mis más sinceros agradecimientos a mi familia, parte de mi padre como de mi madre, quienes indistintamente me apoyaron para el cumplimiento de tareas encomendadas. Mi profundo agradecimiento a las autoridades de la Universidad Nacional de Loja que me permitieron desarrollar mis estudios en la prestigiosa Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia; al personal docente que brindaron sus conocimientos para mi formación en el campo profesional.

El Autor

DEDICATORIA

El esfuerzo y dedicación que empeñe en esta investigación la dedico a Dios y a mis padres, Angel y Julia, quienes me apoyaron en cada momento, nunca faltó la importante opinión y consejo para poder desempeñarme en mi trabajo, a mi hermanas, Yandry y Jhoanna, quienes también me apoyaron de una u otra manera para poder fortalecer los conocimientos. Además a todos a quienes ofrecieron su buena voluntad para la realización de esta investigación, propietarios de las fincas, compañeros dentro y fuera de clases, personas desconocidas que me prestaron su ayuda. Gracias a todos por extenderme la mano.

Cristian Eduardo

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Pág.
APROBACIÓN.....	ii
CERTIFICACIÓN.....	iii
AUTORÍA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
INDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 METABOLISMO POSPARTO	3
2.1.1 Movilización NEFA´s	4
2.1.2 Incremento en la proteólisis muscular.....	5
2.1.3 Disminución Glucosa Periférica.....	5
2.1.4 Variación en concentración de leptinas.....	6

2.1.5 Disminución en Insulina-IGF-I.....	6
2.1.6 Variación en niveles de Estrógenos, progesterona y Gonadotropinas.....	8
2.2 BALANCE ENERGETICO NEGATIVO.....	10
2.3. EFECTO DEL BALANCE ENERGETICO NEGATIVO EN DINAMICA FOLICULAR.....	13
3. MATERIALES Y METODOS.....	17
3.1 MATERIALES.....	17
3.1.1 Materiales de Campo.....	17
3.1.2 Materiales y Equipos de Laboratorio.....	17
3.1.3 Materiales de Oficina.....	18
3.2 METODOS.....	18
3.2.1 Ubicación.....	18
3.2.2 Área de Estudio.....	19
3.2.3 Variables de Estudio.....	19
3.2.4 Tamaño de la muestra.....	19
3.2.5 Recopilación de la información.....	19
3.2.5.1 Toma de muestras.....	19
3.2.5.2 Análisis de Laboratorio.....	19
4. RESULTADOS.....	25
4.1 Concentraciones de Glucosa e Insulina según Condición Corporal.....	29

4.2	Concentraciones de Glucosa e Insulina según Número de Partos.....	30
4.3	Concentraciones de Glucosa e Insulina en relación a la edad (años).....	32
4.4	Relación de la Condición corporal (C.C), Producción láctea (Lit/día), Glucosa (mg/dl) e Insulina (uUI/ml).....	34
4.4.1	Glucosa.....	35
4.4.2	Insulina.....	35
4.4.3	Condición Corporal.....	35
4.4.4	Producción Lechera.....	35
4.4.4.1	Glucosa.....	35
4.4.4.2	Insulina.....	36
4.5	Relación de Glucosa e Insulina según sexo de la cría.....	38
4.6	Relación de Glucosa e Insulina en relación a la Presentación de celo PP.....	39
4.7	Relación de Glucosa e Insulina en relación al parto-concepción.....	42
5.	DISCUSIÓN.....	44
6.	CONCLUSIONES.....	48
7.	RECOMENDACIONES.....	50
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
9.	ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pag.
Cuadro 1. Insulina según Condición Corporal (C.C) en los días posparto.....	29
Cuadro 2. Glucosa vs Condición Corporal (C.C) en los días posparto.....	29
Cuadro 3. Insulina (uUI/ml) en los 15, 30 y 45 días PP en relación con el número de partos	30
Cuadro 4. Glucosa (mg/dl) en los 15, 30 y 45 días PP en relación con el número de partos.....	31
Cuadro 5. Insulina (uUI/ml) presentes a los 15, 30 y 45 días PP en relación con la edad (años)	32
Cuadro 6 Glucosa a los 15, 30 y 45 días PP en relación con la edad (años).....	33
Cuadro 7. Medias de Glucosa, Insulina, Condición Corporal y Producción láctea en los días de muestreo PP	34
Cuadro 8. Medias de Insulina en los 15, 30 y 45 días PP en relación a la producción láctea	36
Cuadro 9. Medias de Glucosa en los 15, 30 y 45 días PP en relación a la producción láctea	37
Cuadro 10. Medias finales de Glucosa e Insulina al final del muestreo según el sexo de la cría.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
Figura 1. Concentración media de Insulina (uUI/ml) en relación con el sexo de la cría.....	38
Figura 2. Concentración media de Glucosa (mg/dl) en relación con el sexo de la cría.....	39
Figura 3. Concentración media de Insulina (uUI/ml) acuerdo a la presentación de celo PP.....	40
Figura 4. Niveles medios de Glucosa (mg/dl) de acuerdo a la presentación de celo PP.....	41
Figura 5. Concentración media de Insulina de acuerdo al parto-concepción.....	42
Figura 6. Concentraciones plasmáticas de Glucosa (mg/dl) de acuerdo al parto-concepción.....	43

RESUMEN

En ganaderías tipo leche de la Hoya de Loja, los índices de eficiencia productiva y reproductiva son afectados por la inadecuada dirección en sanidad, manejo, alimentación y nutrición, esto como determinante de la expresión de la eficiencia reproductiva. Los desajustes y errores nutricionales se manifestarán en la reproducción y la producción lechera. Las concentraciones de indicadores metabólicos como glucosa e insulina en la eficiencia productiva y reproductiva aún no han sido estudiadas para evaluar y analizar la relación que puede existir entre los animales sometidos bajo condiciones de manejo. Para la determinación de niveles de glucosa e insulina como indicadores de la eficiencia productiva y reproductiva en vacas puerperales en la Hoya de Loja, a 40 hembras bovinas se tomaron muestras de sangre en los días 15, 30 y 45 postparto luego del ordeño de la mañana y en ayunas, éstas se recolectaron en tubos de ensayo estériles y conservadas en una hielera con temperatura aproximada a 4°C hasta su posterior análisis en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario. La toma de datos de presentación de celo postparto, parto concepción, condición corporal y producción láctea, se registraban a diario. La determinación de glucosa se efectuó lo más pronto posible mediante el método sin desproteinización, mientras que para insulina el suero sanguíneo se almacenó en crioviales previamente identificados, éstos se conservaron a -20 °C por 30 días, cumplido este tiempo fueron descongeladas para analizarlas por ELISA (Kit Accubind, Monobind Inc.). Las concentraciones medias generales de glucosa fueron 47,90, 47,09 y 46,43 mg/dl en los 15, 30 y 45 días postparto, respectivamente; mientras que la insulina fue variable con 5,54, 5,05 y 5,28 μ U/ml en los días postparto estudiados, en tanto a la condición corporal y la producción láctea aumentaron al transcurrir el postparto. Las vacas fueron agrupadas según la presentación de celo postparto y parto concepción en tres

periodos, entre los 46 a 90 días posparto los niveles glucémicos fueron de 51,38 mg/dl en vacas con celo posparto y 50,61 mg/dl en vacas con parto-concepción. Mientras tanto, vacas con ambos intervalos en los primeros 45 días y mayores a 90 días posparto la glucemia fue de 46,00 mg/dl para las que exhibieron celo posparto y 47,30 mg/dl para las vacas de parto-concepción en los 45 días posparto y de 45,64 y 45,71 mg/dl para vacas mayores a 90 días. Los niveles insulínicos en vacas del periodo entre 46 a 90 días posparto tuvieron 3,37 y 3,52 μ U/ml para la variable parto celo y parto-concepción, respectivamente. A mayor condición corporal, mayor será la producción lechera. Los altos niveles de glucosa y bajas concentraciones de insulina son característicos del Intervalo parto-concepción (IPCC) entre los 46 a 90 días.

ABSTRACT

In milky ranching from the Loja wide valley, productive and reproductive efficiency rates are affected by inadequate management in health, management, food and nutrition, this as a determinant of the expression of reproductive efficiency. Mismatches and nutritional errors will manifest themselves in the breeding and milk production. The concentrations of indicators metabolic glucose and insulin in the productive and reproductive efficiency have not been studied to assess and analyze the relationship that may exist between the animals subjected under managed conditions. For the determination of glucose and insulin levels as indicators of the productive and reproductive efficiency in postpartum cows, These were collected in test tubes sterile and conserved in a cooler with an approximate temperature at 4° C until further analysis in a veterinary diagnostic laboratory, post-partum estrus presentation data collection, delivery design, body condition and dairy production, were recorded daily. Glucose was made as soon as possible using the method without Deproteinization, While for insulin, blood serum was stored at previously identified cryovials, These were kept at - 20 ° C for 30 days, fulfilled this time were thawed for analysis by ELISA (Kit Accubind, Monobind Inc.). General average glucose concentrations were 47,90, 47,09 y 46,43 mg/dl in 15, 30 and 45 days post-partum, respectively; While insulin was variable with 5,54, 5,05 y 5,28 uU/ml in the studied postpartum days, as to body condition and milk production increased after the postpartum, The cows were grouped according to the presentation of postpartum estrus and labor conception in three periods, between 46 to 90 days postpartum the Glycemic levels were 51,38 mg/dl Postpartum Estrus cows, and 50,61 mg/dl on cows with labor conception, Meanwhile, cows with both intervals in the first 45 days, and greater than 90 days postpartum blood glucose was 46,00 mg/dl for which exhibited postpartum

estrus and 47,30 mg/dl cows labor-conception in 45 days postpartum and 45,71 and 45,64 mg/d for cows older than 90 days. The levels of insulin in the period between 46 to 90 days postpartum cows had 3,37 y 3,52 uU/ml for the variable delivery estrus and labor-conception, respectively. To greater body condition, the greater milk production. High levels of glucose and low concentrations of insulin are characteristic of the interval labor –conception (IPCC) among the 46 to 90 days.

1. INTRODUCCIÓN

La viabilidad de un hato lechero depende básicamente del rendimiento productivo y reproductivo, siendo esto influenciado por factores externos medioambientales como alimentación, nutrición, sanidad. Un aspecto que se destaca en mayor proporción es la nutrición, por la razón de que el programa de alimentación debe satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales en diferentes etapas próximas a cursar o aquellas en las que están pasando, es decir en la etapa de parto y transición, y de esta manera reducir o evitar problemas de tipo metabólico o de cualquier tipo.

El balance energético de los animales se expresa de manera positiva o negativa a través del comportamiento del animal, la producción y eventos reproductivos, para lo cual el balance puede ser determinado por metabolitos y/o indicadores de carácter metabólico. El balance nutricional de la ración influye sobre indicadores metabólicos como son glucosa, insulina, factor 1 insulinoide de crecimiento (IGF-1), colesterol, urea (BUN), ácidos grasos no esterificados (AGNEs), entre otros.

Ante un déficit energético en el que la dieta no llega a cubrir los requerimientos, el organismo produce un fenómeno llamado switch corporal entre las diferentes fuentes de energía, y comienza a utilizar las reservas energéticas endógenas con una eficacia promedio del 80% (Cortes R. Francisco, 2011). El estudio de indicadores metabólicos nos permite estimar el balance energético de los animales, por tal razón se ha propuesto en esta investigación desarrollada en la Hoya de Loja, determinar las concentraciones plasmáticas basales de glucosa e

insulina a los 15, 30 y 45 días postparto después del ordeño. Para la cuantificación de niveles de glucosa se empleó el equipo MICROLAB 300, y para la de insulina la técnica utilizada fue la de ELISA en el equipo uQUANT. Además se calificó la condición corporal, se cuantificó la producción láctea y se registró el reinicio de la actividad ovárica en un máximo de 90 días PP y los indicadores de parto – celo y parto concepción.

Se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar las concentraciones de insulina y glucosa según los niveles de producción de leche en vacas posparto (15-30-45 días)
- Estudiar la influencia de la concentración de insulina y glucosa en el periodo de expresión del celo.
- Determinar la influencia, en la duración del periodo parto – concepción, de las concentraciones sanguíneas de glucosa e insulina en vacas posparto (15-30-45 días).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. METABOLISMO POSPARTO

Durante el posparto temprano los perfiles metabólicos y hormonales están caracterizados en rumiantes por: 1) Incremento en la movilización de Ácidos Grasos No esterificados (Nefas) del tejido adiposo. 2) Incremento en la proteólisis muscular. 3) Disminución de la utilización de glucosa periférica. 4) Variaciones en la concentración de leptinas. 5) Disminución en el complejo Insulina-IGF-I. 6) Variaciones en los niveles de estradiol, progesterona y gonadotropinas. (Ramírez Orlando, 2012).

El perfil metabólico sanguíneo aporta gran cantidad de información relacionada con la nutrición del animal, además de que permite determinar factores de riesgo que pueden incidir en el desempeño productivo y reproductivo de las vacas. La insulina e IGF-1 influyen la secreción de GnRH y LH. El control endocrino está influenciado por los tejidos que responden al estado metabólico o nutricional del animal (Matthew Lucy, 2008).

El perfil metabólico sanguíneo aporta gran cantidad de información relacionada con la nutrición y sanidad animal, además permite determinar factores de riesgo, tales como desbalances nutricionales, que pudieran incidir en el desempeño productivo y reproductivo del ganado bovino. La condición corporal no es indicativa del estado metabólico ya que al medir las concentraciones plasmáticas de los metabolitos lípidos se observa que el ganado con condición

corporal de 3.30 ± 0.04 en la época de estiaje está en buena condición corporal para reproducirse, pero es posible que se encuentra en un balance energético negativo y lo que está consumiendo lo está utilizando para su mantención o para almacenamiento y no para las cuestiones productivas. (Vargas S. José. P, 2009)

2.1.1. Movilización de Ácidos Grasos no esterificados (NEFA's)

Durante las primeras semanas posparto, la lactación y el balance energético interactúan para incrementar la movilización de NEFA's (representa el grado de movilización grasa desde el tejido adiposo) aumentando los niveles circulantes en suero (Leroy y col, 2004), calculando pérdidas iniciales del 30-40% de NEFA's durante las primeras 6 semanas posparto (Chilliard y col, 2000) siendo la mayor parte movilizada (12%) durante la primera semana posparto (Tamminga y col., 1997).

La acelerada pérdida de condición corporal afecta el desempeño reproductivo debido a los efectos de la excesiva tasa de movilización de tejido adiposo sobre la salud del útero y su motilidad, además está íntimamente relacionada con el balance energético negativo y sus efectos sobre la concentración de metabolitos que influyen el balance hormonal (Galvis Rubén D. et al., 2002).

Las elevadas concentraciones de GH promueven la movilización del tejido adiposo y el aumento de las concentraciones en sangre de AGNE. Los AGNE pueden ser utilizados para la síntesis de grasa butirosa (Matthew Lucy, 2008).

Las reservas corporales de grasa regulan la secreción de hormonas hipotalámicas e hipofisarias, el déficit de energía posparto, perjudica la actividad reproductiva mediante la supresión de la liberación de GnRH y por tanto de la frecuencia pulsátil de LH, necesaria para el crecimiento folicular y ovulación (Grajales L. Henry, 2009).

El déficit energético conduce a una disminución de los niveles de glucosa e insulina en sangre que estimulan la movilización de grasa. La movilización de grasa resulta en un aumento en los ácidos grasos no esterificados (AGNE/NEFA) en sangre. Estos ácidos grasos habitualmente se utilizan en el hígado como fuente de energía, pero cuando la movilización es excesiva se saturan las vías de metabolización y exportación de lípidos y se generan vías hepáticas alternativas, entre ellas la formación de cuerpos cetónicos y triacilglicerol (TAG). Una gran proporción de vacas viejas tienen hígado graso, este incremento podría estar relacionado con alta producción de leche, un largo intervalo entre partos (Jiménez Antonio, 2009).

2.1.2. Incremento en la proteólisis muscular

Durante el periodo posparto hasta el pico de lactancia, la contribución de proteína tisular a los requerimientos energéticos es pequeña, sin embargo, esta movilización proteica puede ser crítica durante las 2 primeras semanas posparto cuando el animal está en un balance negativo de nitrógeno, en tanto que la concentración de urea plasmática se incrementa durante la lactancia temprana, reflejando el grado de proteólisis muscular proveniente del musculo esquelético. (Bell, 1995). Las pérdidas de proteína neta de este musculo han

mostrado disminución en el diámetro de la fibra muscular de 25% en vacas lecheras después del parto (Reist y col., 2003).

2.1.3. Disminución Glucosa Periférica

El metabolismo de los carbohidratos está dominado por un requerimiento masivo de glucosa para la síntesis de lactosa. Durante las primeras semanas de lactación los requerimientos de carbohidratos para la síntesis de lactosa se derivan del metabolismo hepático del propionato (gluconeogénesis), de los aminoácidos de la dieta y del glicerol de la lipólisis del tejido adiposo. Dichos procesos metabólicos no son suficientes para copar los requerimientos diarios en el tejido mamario (Bell, 1995).

Las concentraciones de glucosa alcanzan su valor nadir (valores mínimos basales) a las dos semanas posparto, siendo el tiempo similar al valor nadir del balance energético (Reist y col., 2003). La concentración de GLU sérica no es afectada ni por la CC ni por el nivel de alimentación PP encontrándose los valores de 52-72mg·dl⁻¹ (Santini, et. al., 2009).

El intenso uso de la glucosa para la síntesis de los diferentes componentes de la leche orientado por procesos homeorréticos, genera una hipoglicemia que, a su vez, reduce la secreción de insulina e IGF – I, hormonas estrechamente relacionadas con la actividad de los ovarios. (Correa Héctor, 2001).

La glucosa puede ser utilizada como fuente de energía para las células, como unidades de edificación de la galactosa y subsecuentemente lactosa, o como fuente de glicerol necesario para la síntesis de grasa. Las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina están disminuidas en vacas con BEN (Beam y Butler, 1999; Butler, 2000^a) y se conoce que la insulina estimula las células foliculares bovinas in vitro (Spicer, Alpizar y Echternkamp, 1993) e in vivo (Simpson, Chase, Spicer, Vernon, Hammond y Rae, 1994). (López Onel, 2002).

2.1.4. Variación en concentración de leptinas

Las leptinas, son hormonas secretadas por los adipocitos y regulan el apetito (factor de saciedad), el gasto de energía y la reproducción. La función primaria de esta hormona es indicar una disminución en el consumo de alimento y un estado de insuficiencia energética en la periferia (Leury y col., 2003).

Los niveles de leptina se encuentran elevados durante el parto debido al elevado consumo de energía necesaria para el periodo de lactación. Posteriormente, los niveles disminuyen hasta valor nadir en el parto y empiezan a volverse estables cerca del tiempo de la ovulación (Kadokawa y col., 2000).

2.1.5. Disminución en Insulina-IGF-I

Los niveles de insulina están influenciados por el propionato absorbido el cual sufre la gluconeogénesis en el hígado. Esta glucosa influye en la cantidad de insulina secretada en el páncreas (Leury y col, (2003). Una respuesta metabólica inicial al BEN en la lactancia temprana, es la disminución en la

insulina circulante. La disminución de la concentración de insulina en la lactancia temprana, genera un uso directo de la mayoría de la glucosa para la síntesis de leche, mientras que la utilización y oxidación en tejido extra mamario es reducido (Reist y col., 2003). Cuando se produce una recuperación en el balance energético, la concentración de insulina plasmática aumenta indicando una recuperación en el balance energético. A nivel hepático, el número de receptores para insulina son abundantes y por lo tanto es altamente sensible a la concentración de insulina circulante. En respuesta a la insulina, el hígado secreta IGF-I siendo la hormona del crecimiento (GH) el principal regulador del IGF-I hepático. Las concentraciones de IGF-I alcanzan su valor nadir (valores mínimos basales) en el parto (Spicer y col., 1990). En este estudio encontraron que incrementos en el balance energético están asociados con incrementos en la concentración de IGF-I en suero durante la lactancia temprana en balance energético positivo.

La principal causa de cambios en la concentración de INS es provocada por el nivel de reserva de energía de los animales siendo que, a mayor CC, aumenta la secreción de esta hormona en las vacas (Santini, et. al., 2009).

Los niveles de insulina son menores en vacas subnutridas y por esta razón se le ha relacionado con el anestro nutricional, sugiriendo que los niveles sanguíneos de insulina podrían afectar la producción hipofisaria de LH ó hipotalámica de GnRH, por actuar en el metabolismo de la glucosa o de los aminoácidos en estos tejidos (Ventura Salgado Max, Barrios Urdaneta Alirio., 2001).

Las investigaciones de Nebel y McGilliard, (1993); Kazmer et al., (1986); Akers, (2000); Parker, (1984). Indican que la selección para producción de leche ha

cambiado el perfil hormonal de las vacas hacia una concentración de hormonas en sangre que favorezca la producción de leche induciéndose a incrementar los niveles plasmáticos de hormona del crecimiento y a reducir la insulina al inicio de la lactancia, pero desafortunadamente, estos cambios hormonales podrían ir en detrimento de la reproducción especialmente en aquellos que se refieren a la baja concentración de insulina (Correa Héctor, 2001).

La reducción en la concentración de la insulina al inicio de la lactancia, cuando el animal entra en un balance energético negativo, puede impedir la función ovárica e inhibir la concepción (Correa Héctor, 2001).

A nivel ovárico, los bajos niveles de glucosa e insulina pueden reducir la capacidad de respuesta ovárica a la acción de las gonadotropinas (Lucy 2008). El déficit de energía y bajas concentraciones de insulina durante el BEN pueden limitar la capacidad de respuesta del ovario a la estimulación de gonadotropinas (Díaz Ramiro, 2011). Las concentraciones de insulina e IGF-1 aumentan gradualmente durante el postparto. Las vacas en BEN tienen menor concentración de insulina e IGF1 (Matthew Lucy, 2008).

Las bajas concentraciones de insulina redirigen a la glucosa hacia la glándula mamaria. Las concentraciones en sangre de insulina disminuyen durante el periparto. La disminución de insulina ocurre 2 a 3 semanas más tarde que el descenso en rGH y coincide con la disminución en IGF-1 (Matthew Lucy, 2008). La concentración de glucosa sanguínea es el factor que vincula el estado nutricional con la función β reproductiva a nivel del hipotálamo. Vacas con

concentraciones de glucosa reducidas, disminuyen su cantidad de progesterona en plasma (Grajales L. Henry, 2009).

2.1.6. Variación en niveles de Estrógenos, progesterona y Gonadotropinas

Durante la primera semana posparto se han reportado ondas de crecimiento folicular independiente del grado de BEN en respuesta a una elevación de FSH cuya concentración de FSH disminuye en la segunda semana posparto. (Ramírez Orlando, 2012).

En referencia lo de Beam and Buttler, 1997 que contrariamente, los niveles de estrógenos disminuyen en la primera semana posparto y empiezan a incrementarse lentamente después de la primera semana lo cual coincide con el desarrollo de un folículo dominante. Aquellos folículos que ovulan durante el posparto temprano presentan mayor producción de estrógenos durante la segunda semana después del parto (Ramírez Orlando, 2012).

Una vez ha ocurrido la ovulación, incrementos en la concentración de progesterona por encima de 1ng/ml son indicadores de actividad luteal. Sin embargo, La ausencia de cuerpo lúteo durante las dos primeras semanas posparto, encontrando estas concentraciones después del día 44 en vacas de primer parto y 25 días para vacas en segundo parto (Walters y col., 2002).

La reducción en la concentración de progesterona en suero en posparto temprano puede ser debida a una disminución en la síntesis (Villa Godoy y col., 1990) o a un mayor metabolismo hepático de la hormona (Argov y col., 2004).

Canfield y Butler, (1990) encontraron que la pulsatilidad de LH está suprimida hasta que el valor nadir de BEN es alcanzado, tiempo en el cual, la frecuencia de pulsos de LH (6-8 pulsos/8hr) empiezan a incrementarse estimulando la primer ovulación. La disminución de LH se presume se debe a un menor pulso de GnRH del hipotálamo.

La insulina puede intervenir en la liberación de LHRH regulando la disponibilidad hipotalámica de aminoácidos necesarios para la síntesis de norepinefrina y serotonina, neurotransmisores importantes en el centro generador de pulsos de LHRH siendo probable que el mecanismo de acción de la insulina en la reproducción sea estimulando la liberación de LH a través del incremento de la producción de neurotransmisores, como la catecolamina que estimula la secreción de LHRH (Pinos y Sánchez, 2001).

La relación entre los niveles sanguíneos de insulina y de GH es importante, debido a que cada hormona afecta la lactancia de manera opuesta mientras que las vacas de alta producción tienen altas concentraciones de GH, bajas concentraciones de glucosa y bajas concentraciones de insulina y las vacas de menor producción tienen menores concentraciones de GH y mayores concentraciones de insulina. Su capacidad de movilizar AGNE es menor y una mayor cantidad de glucosa es destinada a tejidos extramamarios. estas características son las que llevan a una menor producción láctea (Matthew Lucy, 2008).

Las concentraciones de GH aumentan durante la primera semana postparto, debido a una disminución en las concentraciones de IGF-1 y a la reducción en el feedback negativo sobre la GH (Matthew Lucy, 2008).

En referencia a lo señalado por Wettemann R. P. And Bossis I;(2000) que la disminución en la secreción pulsátil de LH está fuertemente relacionada con el anestro nutricional, pero aún no está dilucidada la señal metabólica entre el estado energético del cuerpo y la secreción de GnRH y LH, a su vez se cree que estos mismos u otros mediadores actúan directamente sobre el ovario y el desarrollo folicular (Cortes R. Francisco, 2011).

2.2. BALANCE ENERGETICO NEGATIVO (BEN)

El balance energético negativo ha sido definido como el déficit de energía entre el consumo de energía por parte del animal y la energía requerida para el mantenimiento y la preñez (en la vaca gestante) y el mantenimiento y la lactación (en la vaca lactante). (McNamara y col., 2003). Cerca del 80% de las vacas están en BEN durante la lactancia temprana (Villa Godoy y col., 1990). El BEN empieza pocos días antes del parto, usualmente alcanza su nivel mínimo (nadir) a las 2 semanas posparto y se extiende hasta por 10-12 semanas (Butler, 2003).

La condición corporal al momento del parto y posparto, influye en la ocurrencia de actividad luteal, la concentración de glucosa, de insulina y de ácidos no esterificados en la próxima temporada de apareamiento (Salazar et. al., 2009).

Las alteraciones de las hormonas metabólicas, como GH, insulina e IGF-I y de metabolitos sanguíneos como glucosa y NEFAs, son indicativos de la disponibilidad energética del animal y pueden proveer unas señales que median los efectos de la subnutrición, sobre el eje hipotálamo - pituitaria – ovario (López

J. Fredy, 2006). El balance energético negativo (BEN) provoca cambios en las concentraciones de glucosa y de las hormonas relacionadas con el metabolismo intermediario de la energía (Galvis y Correa, 2002).

En la lactancia hay menos insulina y glucosa y se reduce la sensibilidad de los islotes pancreáticos a glucosa, lo que explica el origen del BEN. La cinética de la glucosa debe variar y debe estar determinada por los niveles hormonales de insulina y glucagón y la sensibilidad específica de cada órgano a estos (Galvis y Correa, 2002).

En la investigación en el efecto del nivel de alimentación sobre la actividad ovárica, expresión de transportadores de glucosa y tolerancia a la insulina en vacas mestizas durante el posparto que Buttler (2000) y Bach (2001) coinciden con que el reestablecimiento de la actividad ovárica ocurre cuando se produce el NADIR (cambio a balance energético positivo) en el balance energético, lo que trae como consecuencia una elevación de los niveles de insulina, IGF-1, leptina y LH, estradiol (E2) y la producción de folículos dominantes destinados a la ovulación (Ruiz Ana Z. et al, 2008).

Las vacas de muy alta producción lechera el Balance Energético Negativo comienza antes del parto puesto que en estos animales la disminución del consumo de materia seca por disminución del apetito se inicia al comienzo de la producción del calostro. El balance energético post parto está inversamente correlacionado al tiempo de la primera ovulación y positivamente relacionado con la concentración de progesterona en leche. El balance energético (nivel de

glucosa sanguínea / concentración de insulina) regula específicamente la función ovárica (De Luca Leonardo, 2005).

En vacas con picos de producción de 30 litros/vaca/día, el balance energético negativo (BEN) no se revierte hasta que la producción no disminuye entre un 80% a un 85%. El déficit en Energía Neta en lactancia (Enl) en estas condiciones equivale a 55 kilos de lípidos, es decir a 9 litros de leche / vaca / día. (De Luca Leonardo, 2005).

Durante el posparto temprano se presenta de forma natural un balance energético negativo (BEN) que está en función de la producción de leche, y que según varios autores está correlacionado negativamente con los días a la primera ovulación posparto (Galvis Rubén D, et al, 2005),

Lo publicado por Miettinen, (1995), el balance energético (NEBAL) provoca cambios en las concentraciones de glucosa y de las hormonas relacionadas con el metabolismo intermediario de la energía (Marín Alejandra, 2006).

La fertilidad del ganado se ve afectada por su condición corporal y su balance energético (glucosa <30mg/dl) al momento del servicio, lo que podría ser provocado por temperaturas por encima de su zona de confort (6-21 °C para ganado Holstein), pues se produce una disminución en el consumo de materia seca, además de un decremento en el porcentaje de concepción por una disminución en la viabilidad y capacidad del desarrollo del embrión. Recientemente se ha demostrado que las vacas con un balance energético

negativo tienden a tener niveles más bajos de progesterona (López Gabriela, 2008).

El BEN durante las primeras 3-4 semanas posparto está altamente correlacionado con los días a la primera ovulación. Así, un pequeño retraso en la primera ovulación está positivamente asociado con un incremento del PS (Parto - Servicio). Es por esto que la duración del intervalo entre el parto y la primera ovulación representa una importante interacción de la condición energética del animal en su comportamiento reproductivo (Butler, 2000) López Onel, 2002).

2.3. EFECTO DEL BALANCE ENERGETICO NEGATIVO EN DINAMICA FOLICULAR

Es evidente que durante la segunda semana posparto existe la emergencia de un folículo dominante (15-17 mm) lo cual demuestra que el desarrollo folicular no es el factor limitante en la falla reproductiva en vacas lecheras. (Ramírez Orlando, 2012).

En una investigación de Beam y Butler, 1997 demostraron por ultrasonografía 3 patrones de desarrollo folicular en el posparto: 1) Ovulación de un folículo dominante durante la primer onda de crecimiento folicular (50% animales con 16-20 d intervalo parto-1er ovulación), 2) Desarrollo de folículo no ovulatorio con baja producción de estrógenos, seguido por una o más ondas de crecimiento folicular (22% animales y 32 d intervalo parto-primer ovulación) y

3) Desarrollo de folículo dominante anovulatorio, con alta producción de estrógenos que se convierte en quiste (28% y 40-50 días intervalo primer ovulación) (Ramírez Orlando, 2012).

Adicional a la disminución en la pulsatilidad de LH para inducir la ovulación del folículo dominante, se ha sugerido que la disminución de insulina-IGF-I incide sobre la ovulación, ya que se ha visto que la concentración de IGF-I aumenta la sensibilidad a gonadotropinas en folículos mayores de 5 mm (Argov y col., 2004), controla la producción de estrógenos y progesterona (Webb y col., 2004) y después de la ovulación actúa sinérgicamente con la LH en el crecimiento y diferenciación del cuerpo lúteo (Argov y col., 2004). (Ramírez Orlando, 2012).

La condición corporal está directamente relacionada con la eficiencia reproductiva. Se considera que vacas con una condición corporal mayor a 3, tienen un 29% mayores tasas de preñez comparada con vacas con una condición corporal menor a 2.5, además la pobre condición corporal afecta no solo la tasa de preñez sino el IEP, edad del ternero al destete y ganancia diaria del ternero, en tanto que la reanudación de los ciclos estrales después del parto guarda relación con los cambios de peso al final de la gestación y el estado de carnes al momento del parto, las vacas que se encuentran en estado de carnes medio a bueno (índice de condición corporal > 2.5 dentro del intervalo de 1 a 5) presentan el celo en un tiempo mínimo; por el contrario, las que tienen peores índices o han perdido peso al final de la gestación tardan progresivamente más tiempo (López, 2006).

La condición corporal antes de parto afecta el número de ovocitos tipo C ($p < 0,05$), mientras que las vacas que parieron con una CCAP (condición

corporal al parto) baja, aproximadamente el 21% del total de sus ovocitos se mantienen en su forma menos desarrollada, lo cual condujo a la disminución del porcentaje de ovocitos tipo A, potencialmente ovulables, concluyendo que la condición corporal al parto es un factor determinante para la reinicio de la actividad reproductiva durante el postparto (Ruiz, Ana Z. et al., 2010).

La liberación pulsátil de LH es restaurada después del nadir del BEN, además de que una demora en la respuesta ovárica puede ser dependiente de la disponibilidad de insulina y su relación con la disponibilidad energética y la subnutrición puede ocasionar fallas en los mecanismos que controlan el desarrollo folicular y la ovulación (Galvis y Correa, 2002).

En vacas con balance energético negativo (niveles de glucosa por debajo de 30 mg/dL) la fertilidad es reducida y otros estudios han encontrado que concentraciones alteradas de insulina (niveles bajos) pueden afectar el desarrollo folicular, madurez y sensibilidad al estímulo de la LH, lo que podría conducir a anovulación y formación de quistes (Salazar et al., 2009).

Las vacas con BEN severo, retrasan el inicio de su actividad ovárica y muchos animales no demuestran ningún signo de celo antes de los 80 a 100 días de lactación (De Luca Leonardo, 2005).

El balance energético negativo, sobre todo, parece interferir con la capacidad del eje hipotálamo-hipofisario para desarrollar el patrón pulsátil de LH necesario para fomentar el desarrollo folicular ovárico y la ovulación (Díaz Ramiro, 2011).

El intervalo a la primera ovulación en el período post-parto depende de la recuperación de las funciones normales del eje cerebro-hipófisis-ovario y el tracto genital. La fertilidad posterior se transporta de un inicio temprano de la primera ovulación y la finalización de varios ciclos antes de la inseminación (Díaz Ramiro, 2011).

Bajo condiciones nutricionales deficientes y alta producción de leche, el BEN toma magnitudes desmesuradas, conduciendo a una exagerada movilización de reservas y produciendo cambios en la concentración de metabolitos y hormonas del metabolismo intermediario, las cuales interactúan con el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios y causan un retraso en la reactivación fisiológica de la reproducción (Galvis Rubén D, et al, 2005).

La prolongación del período de anestro se da a través de diversos posibles mecanismos, incluyendo una reducida liberación de la GnRH, una disminución de la respuesta de la pituitaria a la GnRH, así como también una respuesta disminuida a nivel ovárico de la hormona LH. Las señales metabólicas propuestas como involucradas en afectar el sistema reproductivo son varias, entre las que se destacan la insulina, glucosa, ácidos grasos y el factor de crecimiento tipo Insulina (IFG-I) (Piacenza, 2001). (Grajales L. Henry, 2009).

El intervalo posparto con los cambios en las hormonas metabólicas, estas hormonas (Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I), insulina y leptina) pueden influenciar la secreción de GnRH, actuando sobre las neuronas que contienen GnRH, en las vías neuronales que afectan a estas neuronas, o en los

gonadotrofos ubicados en la hipófisis. Así mismo estas pueden también actuar directamente en el ovario influenciando su sensibilidad a las gonadotropinas (Grajales L. Henry, 2009).

3. METODOLOGÍA

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales de Campo

- ✓ 40 vacas en puerperio
- ✓ Nariguera
- ✓ Sogas
- ✓ Overol
- ✓ Agujas calibre 14
- ✓ Caja Hielera
- ✓ FrioGel
- ✓ Gradilla

3.1.2. Materiales y Equipos de Laboratorio

- ✓ Guantes de examinación
- ✓ Mascarilla
- ✓ Mandil blanco
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla
- ✓ Centrifuga
- ✓ Algodón y Alcohol.
- ✓ Agua Destilada.
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Puntas para pipetas.
- ✓ Pipeta Multicanal.
- ✓ Esterilizador
- ✓ Incubadora

- ✓ Microlab 300
- ✓ Vortex o Mixer
- ✓ Lector μ Quant de BioTek
- ✓ Lavador ELx50 de Biotek
- ✓ Baño maría.
- ✓ Kit Accubind Insulin
- ✓ Papel Absorbente
- ✓ Papel Aluminio
- ✓ Cronómetro
- ✓ Crioviales
- ✓ Jeringuillas de 3 ml
- ✓ Patrón de placa de microelisa
- ✓ Vasijas con canales
- ✓ Matraz o Erlenmeyer
- ✓ Probeta

3.1.3. Materiales de Oficina

- ✓ Computadora
- ✓ Cuaderno de notas
- ✓ Cámara fotográfica.
- ✓ Lápiz
- ✓ Cintas adhesivas
- ✓ Flash memory

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Ubicación

El proyecto se ejecutó en la Hoya de Loja, al sur del Ecuador, entre $3^{\circ}53'18,49''$, localizada a una altitud de 2100 msnm. con un clima temperado

subandino y tropical subandino, temperatura media anual de 18°C, precipitación de 900 mm/año, y humedad relativa del 77%. (Estación Meteorológica de La Argelia de la Universidad Nacional de Loja, 2013).

3.2.2. Área de estudio

Corresponde a las ganaderías de leche en la Hoya de Loja, de las cuales se extrajeron muestras de sangre de hembras bovinas en posparto, sometidas a diferentes condiciones de manejo.

3.2.3. Variables en Estudio

- ✓ Insulina ($\mu\text{UI/ml}$)
- ✓ Glucosa (mg/dl)
- ✓ Periodo de presentación de celo (días)
- ✓ Periodo parto – concepción (días)
- ✓ Producción de leche (Litros)
- ✓ Condición Corporal (escala 1 - 5)

3.2.4. Tamaño de la muestra

Se estudiaron 40 vacas en periodo puerperal, en los días 15, 30 y 45, cuyos animales pertenecen a las ganaderías de la hoya de Loja.

3.2.5. Recopilación de la información

3.2.5.1. Toma de muestras

Se tomó muestras de sangre de la vena yugular derecha los días 15, 30 y 45 PP, con una aguja calibre 14 y tubos al vacío sin anticoagulante, luego del ordeño de la mañana y en ayunas.

3.2.5.2. Análisis de laboratorio

a.) Insulina

El método por la cual se determinó los niveles de insulina fue mediante la técnica de ELISA con el kit AccuBind Elisa Microwells (Monobind Inc.)

El ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

El entrenamiento en pipeteo, técnicas laboratoriales relacionadas con este proyecto fue dirigido por BQF. Claudia Cruz y BQF. Luis Morocho, investigadores de la Universidad Nacional de Loja. El procedimiento de la técnica de ELISA fue dirigida por la BQF. Claudia Cruz. La revisión de los resultados de la prueba fue orientado por el BQF. Luis Morocho.

Antes de proceder con el análisis, todos los reactivos, referencias del suero y controles estuvieron a temperatura ambiente (20-27°C.).

Para cada uno de los calibradores, controles, reactivos y muestras de suero sanguíneo se utilizó una punta estéril por cada una, que luego fue descartada:

1. Se preparó la solución de Lavado: haciendo una dilución de los contenidos del concentrado lavador a 1000ml con agua destilada y se colocó en un envase de plástico adecuado propio del Lavador ELx50. Luego se preparó la solución de Sustrato de Trabajo: Vertiendo el contenido del frasco ámbar etiquetado con Solución "A" dentro del frasco transparente etiquetado como Solución "B". Después se colocó la tapa amarilla en el frasco transparente para una fácil identificación. Se Mezcló y etiquetó acordemente.
2. Se ajustó el número requerido de micropozos para cada calibrador, control y muestra del animal a ser analizado en duplicado. La tira que no se usó se la devolvió nuevamente dentro de la bolsa de aluminio, sellada y almacenada en 2-8°C.
3. Con una pipeta automática se pipeteó 0.050ml (50µl) de los calibradores apropiados, controles y muestras dentro de los pozos asignados.
4. Con una pipeta multicanal se agregó 0.100 ml (100µl) del Reactivo de Enzima de Insulina en todos los pozos.
5. Luego se agitó la microplaca suavemente por 20-30 segundos para mezclar. Se cubrió la placa con una cubierta de papel aluminio o de plástico.

6. Se colocó en la incubadora por 120 minutos a una temperatura de (20-27°C.).
7. Culminado el tiempo se retira la cubierta plástico o el papel aluminio.
8. Se desechó el contenido del micro placa por aspiración mediante el Lavador ELx50, luego se envolvió la placa con papel absorbente y se golpeó ligeramente una o dos veces con los pocillos hacia abajo.
9. Se volvió a colocar la micro placa en el Lavador ELx50 y se programó para que este agregara 300µl del buffer lavador y a la vez aspire. Se volvió a repetir dos veces adicionales para un total de tres lavadas.
10. Después, con la pipeta multicanal se agregó 0.100ml (100µl) de la solución de sustrato de trabajo a todos los pozos. No se agitó el plato después de agregar el sustrato.
11. Se volvió a colocar en la incubadora por 15 minutos a una temperatura de (20-27°C.).
12. Después, con una pipeta multicanal se agregó 0.50ml (50µl) de solución de frenado a cada pozo y se mezcló suavemente por 15-20 segundos.
13. Finalizado estos pasos se colocó la micro placa dentro del Lector uQuant, teniendo en cuenta la orientación que debe de quedar.

14. Se envió la orden al equipo para que inicie el análisis.

Previamente se programó el equipo para el análisis de este metabolito según lo establecido por la casa comercial del kit en cuanto a la longitud de onda y otros puntos.

b.) Glucosa

El método por el cual se determinó los niveles de glucosa es el Test fotométrico enzimático "GOD-PAP".

Este método consiste en determinación de la glucosa después de la oxidación enzimática por la glucosa oxidasa. El indicador colorimétrico es la quinoneimina, la cual se genera de la 4-aminoantipirina y el fenol por el peróxido de hidrógeno bajo la acción catalítica de la peroxidasa (reacción de Trinder).

El procedimiento es el siguiente:

Se emplean 3 tubos:

En el primero se colocó 1000 ul de blanco reactivo.

En el segundo tubo se colocó 1000 ul de blanco reactivo más 10 ul de estándar.

En el tercer tubo se colocó 1000 ul de blanco reactivo más 10 ul de muestra.

Se lleva al vortex para homogeneizar la solución, incubar 20 min a 20 – 25°C o 10 min. a 37 °C. Leer la absorbancia contra el blanco de reactivo dentro de 60 min.

Para establecer rangos mínimos y máximos de insulina en la zona de estudio, se realizó el siguiente cálculo:

$$A = X_M - X_m$$

$$A = 34,60 - 0,145$$

$$A = 34,455$$

$$i = \frac{A}{n}$$

i = intervalo de clase

A = Amplitud o rango

n = número de clases (5 -20)

$$i = \frac{34,45}{5}$$

$$i = 6,89$$

0,14 – 7,03	→	3,58
7,03 – 13,92		
13,92 – 20,81		
20,81 – 27,70		
27,70 – 34,59	→	31,14

Los rangos de insulina para la zona donde se realizó la investigación van desde 3,58 como mínimo a 31,14 $\mu\text{U/L}$ como máximo.

Para conocer si el tiempo que transcurre desde la toma de muestra de sangre hasta su estudio afecta las concentraciones de glucosa e insulina se hizo lo siguiente:

Se registró la hora de toma de muestras y la hora de análisis en cada uno de los días posparto en estudio, se promedió el tiempo a los 15, 30 y 45 días PP.

Después, se calculó el tiempo que transcurrió desde la toma de muestra hasta su análisis en el Laboratorio, ubicando en la tabla con el nombre “Diferencia de Tiempo”

Muestreo	Recolección	Análisis	Diferencia de Tiempo	Glucosa	Insulina
15 d PP	6:23:53	9:36:38	3:12:45	47,90	5,54
30 d PP	6:20:34	9:45:53	3:25:18	47,09	5,05
45 d PP	6:28:24	10:12:15	3:43:51	46,43	5,28
		X=	3:27:18	47,14 \pm 0,73	5,29 \pm 0,24

No existió diferencia significativa entre los tiempos transcurridos de la toma de muestras y análisis, en los periodos posparto (15, 30 y 45 días)

4. RESULTADOS

4.1 Concentraciones de Glucosa e Insulina según Condición Corporal (C.C).

Cuadro 1: Insulina según Condición Corporal (C.C) en los días posparto.

Insulina (uUI/ml)

Días PP/C.C	2 - 2.5	2.6 – 3	3.1 - 3.5
15 d PP	4,48 ± 0,75	5,81 ± 6,54	0,0
30 d PP	6,96 ± 2,88	5,26 ± 5,00	3,32 ± 1,41
45 d PP	0,0	6,23 ± 6,42	3,37 ± 2,13
MEDIA	5,72 ± 1,75	5,76 ± 0,49	3,34 ± 0,04

A mayor Condición Corporal se determinó menor concentración de insulina en todos los periodos PP muestreados, mientras que las vacas de condición corporal de 2 a 3 puntos mostraron las mayores concentraciones de insulina (Cuadro 1) no observándose diferencia importante.

Cuadro 2: Glucosa vs Condición Corporal (C.C) en los días posparto.

Glucosa (mg/dl)

Días PP/C.C	2 - 2.5	2.6 – 3	3.1 - 3.5
15 d PP	46,40 ± 19,93	48,27 ± 15,35	0,0
30 d PP	40,30 ± 14,99	46,36 ± 11,75	53,25 ± 9,80

45 d PP	0,0	46,86 ±13,23	45,54 ±14,68
MEDIA	43,35 ±4,31	47,16 ±0,99	49,39±5,45

Se observa variación de glucosa frente a la Condición Corporal, a mayor Condición Corporal (C.C) mayor concentración de glucosa, pero no se observa variación significativa de las concentraciones plasmáticas de glucosa entre los diferentes periodos posparto de estudio.

Las vacas que presentaron una condición corporal baja (2-2,5) en el periodo de los 15 y 30 días PP mostraron una variación leve hacia la baja en las concentraciones plasmáticas de glucosa,

Durante los primeros 45 días PP, las vacas con una condición corporal de 2,6 a 3 puntos mostraron concentraciones plasmáticas de glucosa similares, existiendo una diferencia aproximada de 2 mg al inicio del puerperio.

4.2 Concentraciones de Glucosa e Insulina según Número de Partos

Cuadro 3. Insulina (uUI/ml) en los 15, 30 y 45 días PP en relación con el número de partos

Días PP/#Partos	1-2	3-4	5-6	7-8
15 d PP	5,54 ±6,72	6,57 ±6,71	4,63 ±1,10	4,11 ±1,16

30 d PP	5,09 ±5,82	5,82 ±3,28	3,66 ±2,47	4,66 ±1,37
45 d PP	5,28 ±6,24	6,49 ±6,12	3,80 ±2,04	4,09 ±3,24
MEDIA	5,30 ±0,23	6,29 ±0,41	4,03 ±0,52	4,29 ±0,32

Las vacas de 1 a 4 partos presentaron niveles insulínicos altos en comparación en aquellas de 5 a 8 partos. (Cuadro 3)

Como se observa en el cuadro 4, niveles de insulina altos se presentaron en vacas que cursan las 3 y 4 lactancias, pero conforme avanza el número de partos éste metabolito desciende.

A mayor número de partos se determinó menor concentración de insulina, siendo más notable durante los 45 días PP de vacas que tienen de 5 a 6 partos.

Las vacas de 7-8 partos no presentaron diferencias significativas a lo largo del periodo PP en estudio, pero si superan los niveles insulínicos de vacas 5 a 6 partos.

Cuadro 4. Glucosa (mg/dl) en los 15, 30 y 45 días PP en relación con el número de partos

Días PP/#Partos	1-2	3-4	5-6	7-8
15 d PP	48,91 ±16,85	44,35 ±14,05	58,66 ±18,36	37,98 ±7,86
30 d PP	46,57 ±11,21	47,85 ±14,12	50,92 ±10,94	43,18 ±11,41
45 d PP	48,37 ±14,65	45,03 ±11,36	38,72 ±15,16	49,38 ±10,80
MEDIA	47,95 ±1,23	45,74 ±1,86	49,43 ±10,05	43,51 ±5,71

Las vacas que tienen entre uno a dos partos presentaron medias de glucosa similares en los diferentes días PP en donde no existe diferencia importante.

En los primeros 15 días PP, las vacas de 7-8 partos presentaron niveles de glucemia por debajo de las concentraciones basales normales. Similar caso sucede con las vacas de 5-6 partos pero a los 45 días PP (Cuadro 4).

Por lo tanto, la variación en las concentraciones de glucosa en vacas con diferente número de partos no permite establecer la influencia del número de partos sobre el indicador. No obstante se observó que las vacas de 7-8 partos mostraron concentraciones menores de glucosa que las de 3-4 partos a los 30 días PP (Cuadro 4).

En las vacas de 5 y 6 partos se observó que los niveles de glucosa al inicio del muestreo (15 días) se encontraban altos en relación a los 30 días PP, en donde sus niveles de glucemia caen notablemente. Pero conforme avanza el posparto, las mismas concentraciones aumentan en vacas de menor número de partos y disminuyen en vacas de 5-6 partos, se podría decir que tuvieron tendencia variable, no estable.

4.3 Concentraciones de Glucosa e Insulina en relación a la edad (años)

Cuadro 5. Insulina (uUI/ml) presentes a los 15, 30 y 45 días PP en relación con la edad (años).

Días PP/Edad (años)	2-3	3-5	5-7	7-9	>9 años
15 días PP	4,36 ±0,94	5,89 ±7,46	6,98 ±7,53	4,63 ±1,07	2,89
30 días PP	4,64 ±2,10	5,49 ±6,45	4,99 ±3,84	4,80 ±1,55	2,70

45 días PP	4,24 ±1,54	5,83 ±6,79	5,92 ±6,97	4,44 ±2,56	2,81
MEDIA	4,41 ±0,21	5,74 ±0,22	5,96 ±1,00	4,62 ±0,18	2,80 ±0,10

Las vacas de edad comprendida entre 2 a 3 años y 7 a 9 años presentaron concentraciones plasmáticas de insulina similares, no existiendo diferencias significativas entre éstas. En cambio, las vacas de 3 a 7 años de edad se destacaron por presentar niveles de insulina similares y a diferencia de los animales de 2 a 3 y de 7 a 9 años fueron superiores en todo el periodo PP en estudio (Cuadro 5).

Cabe mencionar que la vaca mayor a 9 años presentó en todo el PP valores inferiores al resto de los animales.

Cuadro 6. Glucosa a los 15, 30 y 45 días PP en relación con la edad (años).

Días PP/Edad (años)	2-3	3-5	5-7	7-9	>9 años
15 días PP	52,63 ± 18,28	46,48 ±16,27	45,54 ±12,81	50,41 ±19,93	40,10
30 días PP	50,97 ± 15,44	42,91 ± 8,65	50,84 ±13,55	48,41 ±11,97	51,80
45 días PP	46,03 ±14,72	47,2 ±14,79	47,25 ±10,93	42,04 ±13,99	60,30
MEDIA	49,88 ± 3,43	45,53 ± 2,30	47,88 ± 2,70	46,96 ±4,37	50,73 ±10,14

Las concentraciones de glucosa tienen un comportamiento variable en vacas de diferente edad lo que no permite establecer la influencia de la edad sobre el indicador.

Al observar en el Cuadro 6, las vacas con menor edad tuvieron concentraciones mayores de glucosa en los primeros 30 días PP para luego

decaer en el día 45 PP. Aun así, su media en los días PP muestreados son altos en comparación a las medias de las vacas de mayor edad. No obstante se puede evidenciar que conforme avanza la edad, los niveles de este metabolito se presentan de manera variable. Por lo tanto las variaciones de concentraciones de glucosa no permiten establecer influencia de la edad de las vacas sobre este metabolito.

4.4 Relación de la Condición corporal (C.C), Producción láctea (Lit/día), Glucosa (mg/dl) e Insulina (μ UI/ml).

A pesar de que la condición corporal media es próxima a 3 puntos, los niveles de glucosa son bajos aun así próximos al límite inferior de valores normales. Mientras que la producción de leche media (Lit/día) se podría considerar como buena en relación a los indicadores metabólicos y la C.C.

Cuadro 7. Medias de Glucosa, Insulina, Condición Corporal (C.C) y Producción láctea en los días de muestreo PP.

Días PP/Variable	Glucosa (mg/dl)	Insulina (μ UI/ml)	C.C	Producción Leche (Lit/día)
15 d	47,90 \pm 16,10	5,54 \pm 5,86	2,79 \pm 0,20	16,21 \pm 10,60
30 d	47,09 \pm 11,68	5,05 \pm 4,59	2,93 \pm 0,26	17,48 \pm 12,34
45 d	46,43 \pm 13,54	5,28 \pm 5,51	3,10 \pm 0,29	17,67 \pm 12,54
MEDIA	47,14 \pm 0,73	5,29 \pm 0,25	2,94 \pm 0,16	17,11 \pm 0,47

4.4.1 Glucosa

Las concentraciones de glucosa en todo el periodo PP no fluctúan en gran medida, pudiéndose apreciar en el cuadro 7 que dichas concentraciones no descienden hasta su valor nadir (valores mínimos basales).

4.4.2 Insulina

Similar caso sucede con los valores de insulina, no existiendo diferencias importantes a lo largo del posparto (PP).

4.4.3 Condición Corporal (C.C)

En cuanto a la C.C, se puede observar que existe un incremento desde el día 15 hasta el día 45 PP, pero al relacionar con la glucosa e insulina se observa que no guardan alguna relación (Cuadro 7).

4.4.4 Producción Lechera

Cuando hablamos de Producción lechera el producir medio o un Litro de leche están involucrados numerosos factores influyentes, es por esta razón de que al observar el cuadro 7 se puede apreciar que si hay diferencia importante en la media obtenida entre los días 15 y 45 PP. A pesar de que la glucemia no es alta, la producción de leche es inversamente proporcional a ésta según los resultados obtenidos en esta investigación.

4.4.4.1 Glucosa

Los niveles de glucosa presentan variación en la mayoría de las vacas de diferente rendimiento lechero. Las vacas con una producción que va de 1 a 5 Lit/vaca/día y las de 21 a 35 Lit/vaca/día se destacan por presentar concentraciones plasmáticas altas al final de periodo posparto estudiado. Los niveles glucémicos de las vacas con producciones que van desde los 21 a 35 Lit/vaca/día a pesar de ser altos no presentan diferencias significativas al final del PP. (Cuadro 9)

4.4.4.2 Insulina

Cuadro 8. Medias de Insulina en los 15, 30 y 45 días PP en relación a la producción láctea

Días PP/ Prod. Leche (Lit)	1 - 5	6 - 10	11 - 15	16 - 20	21 - 25	26 - 30	31 - 35	36 - 40	41- 45
15 d PP	4,21 ±1,13	7,29 ±8,46	5,06 ±0,66	4,10	3,12 ±0,58	3,99 ±0,38	3,97 ±1,19	6,38	0
30 d PP	7,23 ±9,13	5,63 ±3,24	4,87 ±0,64	2,14 ±0,24	3,88 ±0,53	3,44 ±1,54	4,40 ±1,52	2,69 ±1,25	4,41
45 d PP	5,52 ±2,61	8,40 ±8,38	3,85 ±3,14	2,18 ±0,44	3,66 ±1,88	2,10 ±0,14	3,52 ±2,44	3,78 ±1,39	0
MEDIA	5,65 ±1,51	7,11 ±1,39	4,59 ±0,65	2,81 ±1,12	3,55 ±0,39	3,18 ±0,97	3,96 ±0,44	4,28 ±1,90	4,41

Se observa un notable incremento de los niveles plasmáticos de insulina en vacas con producciones que van desde los 6 a los 10 Lit/vaca/día, las mismas son superiores al resto de las concentraciones en vacas de alta producción (Cuadro 8).

Hay que mencionar que niveles insulínicos en vacas de alta producción son bajos encontrándose próximos a los niveles basales inferiores. Las vacas de baja producción (BP) son las que tuvieron concentraciones altas en relación a las vacas de alto rendimiento (Cuadro 8). Además este grupo de animales se destacan porque mantuvieron los niveles altos de este metabolito en los días 15, 30 y 45 PP sobresaliendo de entre las vacas de alta producción (AP). Las vacas con producciones entre los 36 a 40 Lit/vaca/día solamente arrojaron concentraciones altas de insulina a los 15 días PP a diferencia de los 30 y 45 días PP, los mismos fueron mínimos.

Cuadro 9. Medias de Glucosa en los 15, 30 y 45 días PP en relación a la producción láctea.

Las vacas de baja como de alta producción que van de 6 a 10 Lit/vaca/día y 36 a 40 Lit/vaca/día respectivamente presentaron concentraciones próximas al valor basal normal (nadir), significando que independientemente de la producción, este metabolito fluctúa durante el PP.

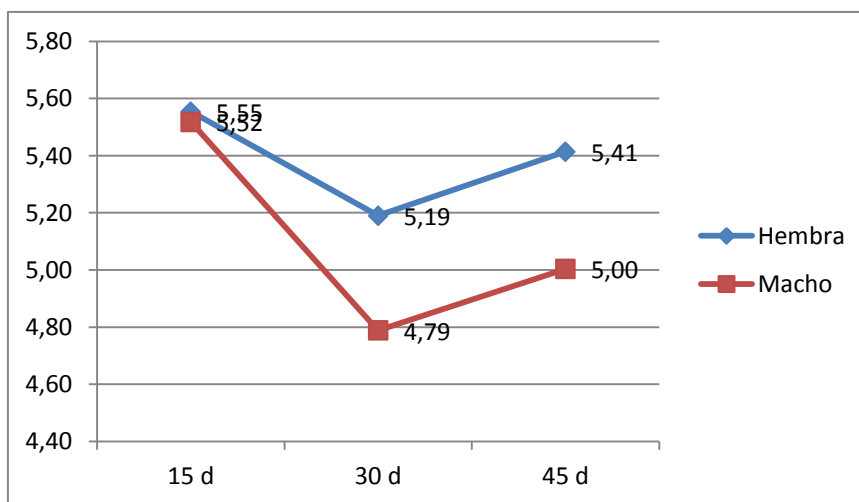
Días PP/ Prod. Leche (Lit)	1 – 5	6 – 10	11 – 15	16 – 20	21 – 25	26 - 30	31 – 35	36 - 40	41- 45
15 d PP	65,87 ± 37,13	43,49 ±16,9 7	43,75 ±1,77	42,10	51,73 ±10,8 7	52,02 ±8,24	47,53 ±7,43	57,90	0
30 d PP	47,94 ± 12,09	39,36 ±10,0 0	63,75 ±16,6 2	54,10 ±16,5 5	50,05 ±10,3 9	47,57 ±4,80	51,65 ±7,83	44,33 ±6,60	67,1 0
45 d PP	55 ±15,8 3	39,04 ±10,7 9	39,88 ±17,6 8	41,65 ±11,8 1	54,95 ±11,4 6	54,55 ±10,2 5	56,41 ±4,39	36,03 ±12,6 8	0
MEDIA	56,27 ±09,0 3	40,63 ± 2,48	49,13 ±12,8 1	45,95 ±7,06	52,24 ±2,49	51,38 ±3,53	51,86 ±4,44	46,09 ±11,0 4	67,1

4.5 Relación de Glucosa e Insulina según sexo de la cría.

Cuadro 10. Medias finales de Glucosa e Insulina al final del muestreo según el sexo de la cría

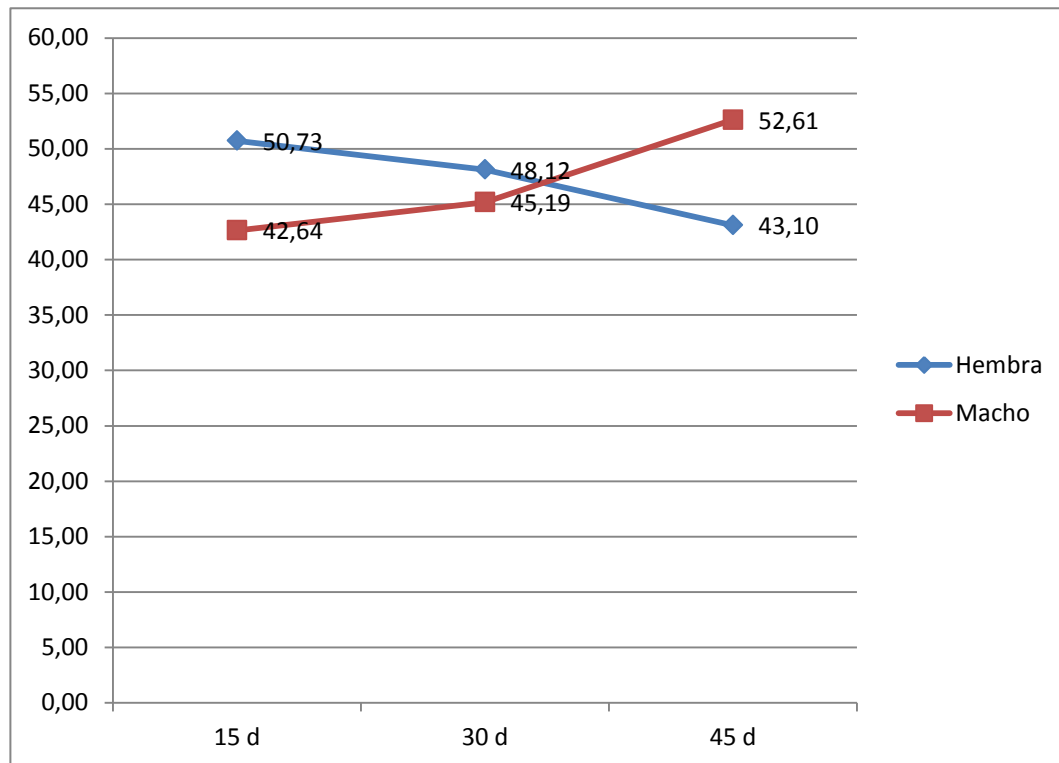
Sexo cría/ Ind.	Glucosa (mg/dl)	Insulina (uUI/ml)
Hembra	47,32	5,39
Macho	46,81	5,10

Figura 1. Concentración media de Insulina (uUI/ml) en relación con el sexo de la cría.



Durante los 45 días PP las vacas con cría hembra presentaron niveles de insulina superiores a los de crías machos y por ende su media final es superior. En vacas con cría macho, los niveles de insulina en el PP fueron variables, cuya diferencia no es de mayor relevancia (Figura 1).

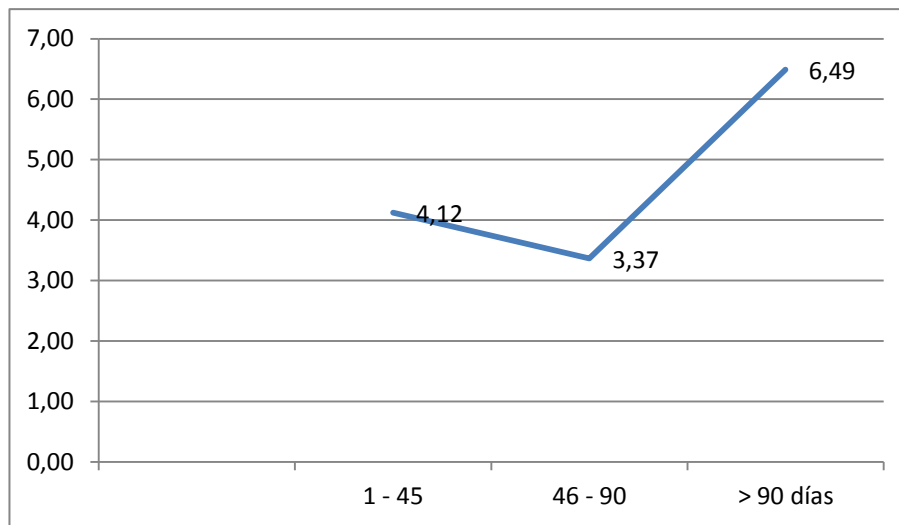
Figura 2. Concentración media de Glucosa (mg/dl) en relación con el sexo de la cría.



Las vacas que dieron crías hembras mostraron niveles de glucemia variables y con orientación descendente conforme avanza el PP (Figura 2), no obstante sus concentraciones medias finales a los 45 días PP son altas en comparación a los niveles glucémicos de vacas que dieron crías machos, pero esta diferencia no es significativa.

4.6 Relación de Glucosa e Insulina en relación a la Presentación de celo PP.

Figura 3. Concentración media de Insulina (uUI/ml) de acuerdo a la presentación de celo PP.



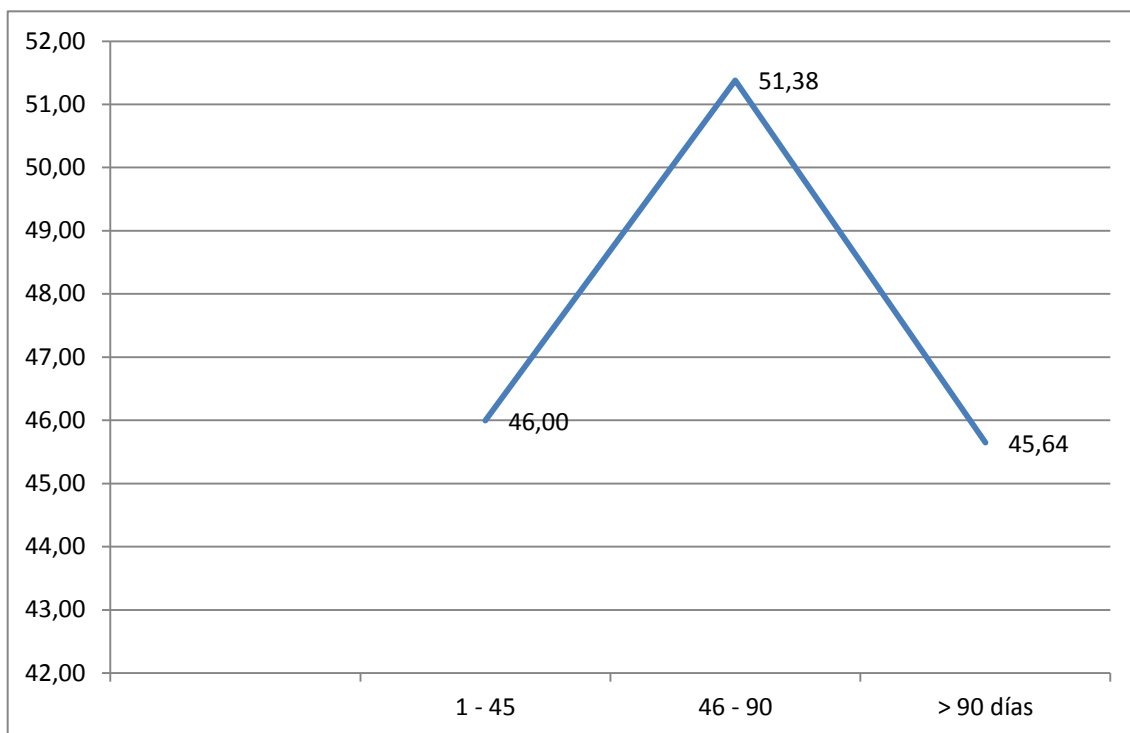
Las vacas con manifestación de celo >90 días (23 vacas) arrojaron niveles plasmáticos de insulina superiores al resto de los animales (figura 3). Indicando que niveles altos de insulina no guardan relación con un pronto reinicio de la ciclicidad ovárica según los resultados obtenidos.

Anteriormente, estos animales presentaron bajas concentraciones de glucosa, ahora destacándose por altos niveles de insulina. Las variaciones en concentraciones de insulina no permiten establecer la influencia sobre el reinicio de actividad ovárica (IAO).

El 25% de las vacas que reiniciaron la ciclicidad ovárica entre los 46 a 90 días PP fueron las que tuvieron menores concentraciones de insulina al comparar con el resto de animales, este dato es importante porque las vacas de este

grupo arrojaron concentraciones altas de glucosa en el mismo periodo, indicando que la glucosa es inversamente proporcional a la insulina en el periodo antes mencionado.

Figura 4. Niveles medios de Glucosa (mg/dl) de acuerdo a la presentación de celo PP.

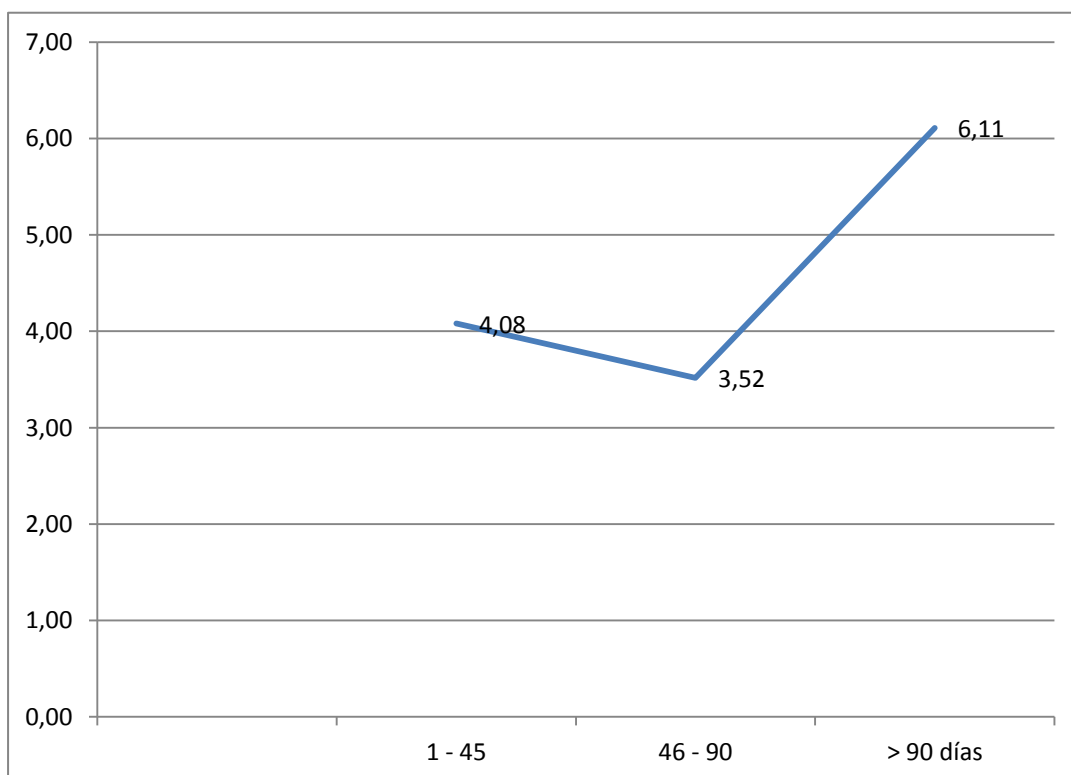


El 25% de las vacas con mayores concentraciones de glucosa reiniciaron su actividad ovárica (IAO) entre los 46 a 90 días PP.

Mientras que los niveles plasmáticos de este metabolito en vacas con presentación de celo entre 1 a 45 días PP (17,5%) y >90 días (57,5%) fueron similares, existiendo una mínima diferencia de 0,36 unidades.

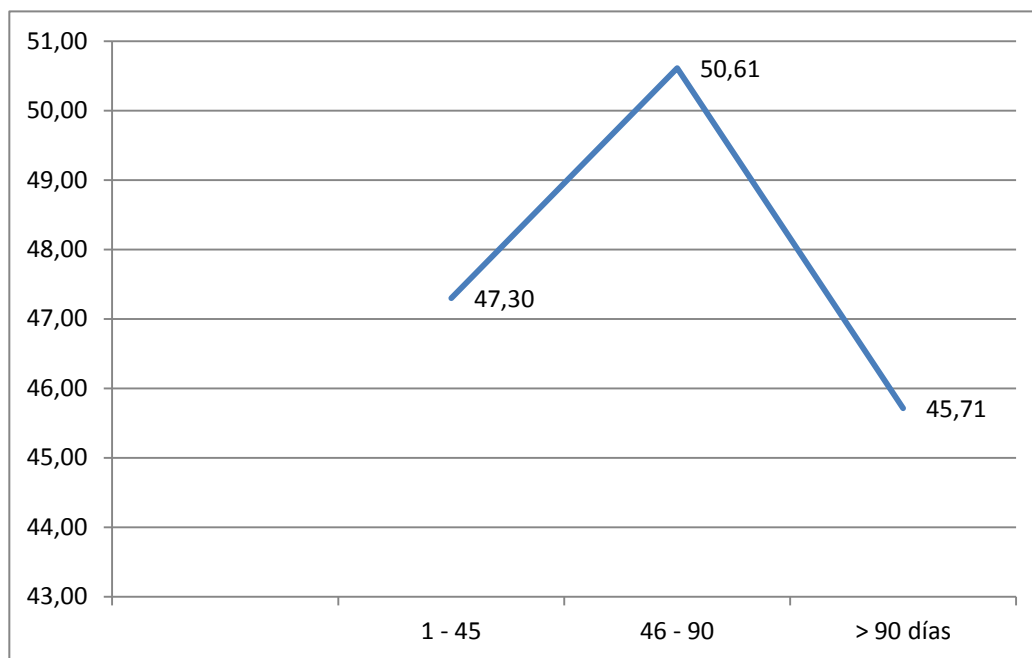
4.7 Relación de Glucosa e Insulina en relación al parto-concepción

Figura 5. Concentración media de Insulina (uUI/ml) de acuerdo al parto-concepción



Niveles de insulina bajos se hicieron presentes en vacas con Intervalo parto-concepción entre los 46 – 90 días. Observándose además que vacas con Intervalo parto-concepción >90 días (67,5%) se destacaron por tener concentraciones altas de este metabolito pudiéndose interpretar de la misma manera que el IPC, que un indicador es inversamente proporcional al otro según los resultados de esta investigación (Figura 5)

Figura 6. Concentraciones plasmáticas de Glucosa de acuerdo al parto-concepción



Los resultados obtenidos para este índice guarda relación con el índice de Intervalo parto-celo (IPC) existiendo variación poco importante de los niveles de glucosa. Aproximadamente el 90% de las vacas que presentaron celo entre los 46 a 90 días PP solo se sirvieron una vez.

Siendo así, una concentración de 50,61 mg/dl para las vacas con un Intervalo parto concepción (IPCC) entre los 46-90 días PP (Figura 6).

5. DISCUSIÓN

En esta investigación las concentraciones plasmáticas de glucosa mostraron diferencias de a mejor C.C, mayor concentración de glucosa, estos resultados no coinciden con los obtenidos por otros autores (Pinto-Santini Livia et. al, 2009) que afirman que la concentración de glucosa sérica no fue afectada ni por la CC ni por el nivel de alimentación PP encontrándose los valores de 52-72mg/dl.

Por otra parte, los resultados obtenidos no concuerdan con Ceballos Alejandro et. al (2002), quienes determinaron que la correlación entre la condición corporal y la glicemia no fue significativa.

De la misma manera, Giraldo S. Luis F.et. al (2009), anotaron que las hembras con menor condición corporal (< 7) sufrieron un descenso significativo ($P < 0,05$) más drástico en la glicemia entre el pre ($4,4 \pm 1,2$) y el posparto ($3,2 \pm 0,8$), puesto que disponían de menores reservas para compensar el déficit energético, lo que confirma que la concentración de glucosa en plasma es afectada por la condición corporal, como la evidencia nuestra investigación.

Los niveles de insulina se presentaron de manera variable en las vacas de diferente condición corporal. En el presente estudio las vacas de mejor condición (3.1-3.5) exhibieron concentraciones inferiores a las obtenidas por Pinto-Santini Livia et. al, 2009. En tanto que las concentraciones obtenidas

de este metabolito en vacas de 2 a 3 puntos de C.C están de acuerdo a los obtenidos por los mismos autores.

Lo reportado por Jiménez Antonio (2009), está de acuerdo con lo obtenido en esta investigación, que los niveles de insulina disminuyen conforme avanza la edad en las vacas, este descenso comienza a darse a partir de los 5-7 años de edad. En el caso de la glucosa los niveles de glucosa se manifiestan próximos al límite inferior de los niveles basales guardando relación con lo explicado por Jiménez Antonio (2009).

Observamos que las concentraciones plasmáticas de glucosa disminuyeron en menor medida pero gradualmente a partir de los 15, 30 y 45 días PP, discrepando con Rubén D. Galvis et. al., 2003, quienes encontraron que los valores de glicemia fueron altos en el periodo posparto y que luego del parto éstos aumentaron conforme avanzaba la lactancia.

Los niveles de insulina, en este trabajo tuvieron un comportamiento variable en relación con el PP divergiendo con Rubén D. Galvis et. al., 2003, quienes obtuvieron valores plasmáticos de insulina en aumento y que no presentaron diferencias significativas entre los periodos de muestreo (-12, 12, 24, 35 y 100 días PP).

Las concentraciones de insulina, presentaron variaciones no significativas en el día 15, 30 y 45 PP, exhibiendo concentraciones de 5.54, 5.05 y 5.28 uUI/ml respectivamente, las cuales, no parecen tener concomitancia con el

progresivo incremento de leche. Esto tiene consonancia con lo explicado por otros autores como Rubén D. Galvis et. al., 2003, quienes indicaron una relación significativa ($p < 0.05$) y con pendiente negativa entre la producción de leche y los valores de insulina plasmática, es decir los valores de insulina disminuyeron conforme aumentó la producción de leche, lo cual también se observó en nuestro estudio.

Los valores totales de insulina en los grupos de vacas de esta investigación concuerdan con los resultados del experimento y las conclusiones que llegaron Matthew C. Lucy (2008), debido a que las vacas que produjeron entre 1 hasta 10 litros presentaron niveles insulínicos más altos que las vacas de alta producción.

Los resultados en niveles de glucosa obtenidos en esta investigación discrepan con el mencionado por Galvis Rubén D. et al. (2003), siendo que la glucosa en la mayoría de los casos no tiende a bajar o aumentar en los días de lactancia, resultando que nosotros no estudiamos la influencia de la alimentación en este periodo (15-45 días), factor que puede tener incidencia.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, las vacas que presentaron celo PP después de 90 días presentaron niveles de insulina altos y niveles glucémicos bajos, esto último se relaciona con lo siguiente: Las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina están disminuidas en vacas con BEN (Beam y Butler, 1999; Butler, 2000) y se conoce que la insulina estimula las células foliculares bovinas in vitro (Spicer, Alpizar y

Echternkamp, 1993) e in vivo (Simpson, Chase, Spicer, Vernon, Hammond y Rae, 1994), (López Onel, 2002).

6. CONCLUSIONES

1. La condición corporal influyó de manera positiva sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa dentro de los 45 días PP. Mientras que los niveles insulínicos no resultaron afectados por la C.C de los animales.
2. Durante el posparto, las concentraciones plasmáticas de glucosa varían en vacas con diferente número de partos, siendo mayor en vacas de 5 y 6 partos. Mientras que los niveles de insulina son altos en vacas de 3 y 4 partos.
3. En todas las edades de las vacas se mantienen los niveles de insulina en el posparto de 15 a 45 días.
4. A los 45 días posparto, los niveles de glucosa disminuyen y las concentraciones de insulina son variables.
5. La condición corporal y la producción lechera aumentan paralelamente en los días posparto.
6. Los niveles de glucosa e insulina son mayores en vacas con crías hembras en relación a las que tuvieron crías machos

7. Las concentraciones de glucosa son independientes de la producción de leche (56,27 mg/dl, 51,86 mg/dl y 46,09 mg/dl en vacas de 1 a 5, 31 a 35 y 36 a 40 Lit/vaca /día respectivamente).

8. Los niveles de insulina son altos en vacas con una producción lechera que va entre los 6 a 10 Litros/día.

9. Los 51,38 mg/dl de glucosa influyeron de manera positiva sobre la presentación de celo postparto en un periodo que va entre los 45 a los 90 días, en cambio los 3,73 μ U/ml de insulina no influyeron en el IPC.

10. Los altos niveles de glucosa y bajas concentraciones de insulina son característicos del Intervalo parto-concepción (IPCC) entre los 46 a 90 días.

7. RECOMENDACIONES

Se plantea las siguientes recomendaciones:

- a. Evaluar las condiciones medioambientales y de manejo que probablemente influyen en el Intervalo parto-celo (IPC) e Intervalo parto-concepción (IPCC) y en los metabolitos de glucosa e insulina.

- b. Determinar la influencia de las características genéticas sobre el mecanismo de reactivación ovárica en vacas primíparas y multíparas.

- c. Se realice investigaciones relacionadas con el comportamiento del Balance Energético Negativo en vacas de diferentes razas, ya sea tipo leche o tipo carne.

- d. Estudiar el efecto del Balance Energético Negativo sobre las estructuras microscópicas del ovario.

- e. Investigar medidas que ayuden a reducir el número de días del Balance Energético Negativo e incrementar tasa de concepción.

- f. Estudiar la influencia de la alimentación posparto en las concentraciones de glucosa e insulina.

- g. Repetir este trabajo con mayor número de casos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Bach Alex, 2001, La Reproducción del vacuno Lechero: Nutrición y Fisiología, pdf, pag. 4, 6, 7.

Ceballos Alejandro, et al, 2001, Variación de los indicadores bioquímicos del balance de energía según el estado productivo en bovinos lecheros de Manizales, Colombia, pdf, pag, 4 , Revista, Colombiana Ciencias Pecuarias, Vol. 15, N°1.

Correa, H. 2001. Relación producción - reproducción en vacas de alto potencial genético. Revisión. El autor (En publicación para la Revista de la Facultad Nacional de Agronomía). 15 pg, pag, 6, 13

Cortes R. Francisco, 2011, Aspectos nutricionales relacionados con el intervalo parto - celo en vaca de cría, pdf. 18 pg, pag. 3.

De Luca Leonardo, Laboratorios Burnet, 2005, Fisiopatología del Hígado de las Vacas de Alta Producción, doc. pag, 4, 8, 11.

Díaz Ramiro, 2011, Manejo Reproductivo posparto en vacas lecheras,
Disponible en:

<http://www.buiatriaecuador.org/files/Manejo%20Reproductivo%20posparto%20en%20vacas%20lecheras.pdf>, 9 pg, pag 2.

Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile, Fisiología del Páncreas Endócrino, pdf, pag, 1

Galvis Rubén D. et al., 2001, Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido?, pdf, Revista, Colombiana Ciencias Pecuarias, Vol. 15, N°1, pag. 6, 40, 42, 44.

Galvis Rubén D. et al., 2003 Influencia de las alteraciones metabólicas sobre la actividad PEPCK, la generación de IGF-1 plasmático y la reactivación ovárica en vacas en la lactancia temprana, pdf, pag, 6

Galvis Rubén D., 2005, Relación entre el mérito genético para la producción de leche y el desempeño metabólico y reproductivo en la vaca de alta producción, pdf, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol 18:3, 12pg, pag 1,2.

Grajales L. Henry, 2009, Caracterización fisiológica del periodo posparto en cuatro grupos raciales bovinos en el trópico colombiano. Disponible en: <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-151/resumen/body/v15n1a04.html> (Consultado Noviembre 11, 2012).

López Fredy J, 2006, Relación entre condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas Holstein, pdf, publicación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Vol 4 N°1, Universidad del Cauca, pag. 81-83.

López Gabriela, 2008, efectuó la Evaluación productiva y reproductiva de ganado bovino en la transición de su composición racial en la cooperativa Astoria, departamento de La Paz. Tesis Lic. Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de El Salvador, El Salvador. 53 pg. Pag. 7,8, 24, 25.

López Onel, 2002, Caracterización del comportamiento productivo y reproductivo de vacas Mambí de primera lactancia en un sistema silvopastoril. pdf, Tesis Master en Reproducción Animal. Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez", Cuba, 65 pg, pag. 20, 21, 22.

Matthew Lucy, 2008, Repartición de los nutrientes y función reproductiva en vacas lecheras, pdf, 7 pg, Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/29-reproduccion .pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/produccion_bovina_leche/29-reproduccion.pdf) pag. 1, 4.

Marín Alejandra, 2006, Reinicio de la actividad ovárica posparto, concentración de progesterona y metabolitos de lípidos en vacas lecheras suplementadas con aceite vegetal, Tesis Maestría en Desarrollo Tecnológico en Sistemas de Producción Animal, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México, 133 pg. Pag. 22.

Pinos y Sánchez, 2001, Efecto del consumo de energía en los procesos reproductores de la hembra bovina. *Una Revisión*, pdf. Pag 260. *Revista Científica*, Vol. XI, N°3, Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27503/2/articulo11.pdf> (Consultado octubre 17, 2012).

Ramírez Orlando, 2003, Efecto del Balance Energético Negativo (BEN) en la eficiencia reproductiva en vacas lecheras, pdf, pag 2 – 4.

Romero E.M. et al., 2011, Calidad nutricional de pastos, condición corporal y niveles de metabolitos sanguíneos de vacas de doble propósito a través del año en el norte de Veracruz, México. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd23/10/rome23215.htm> (Consultado octubre 17, 2012).

Ruiz Ana Z. et al, 2008, Efecto del nivel de alimentación sobre la actividad ovárica, expresión de transportadores de glucosa y tolerancia a la insulina en vacas mestizas durante el posparto, *Revista Zootecnia Tropical*, Vol. 26, 10 pg, pag 96.

Ruiz, Ana Z. et al, 2010, Efecto de la condición corporal y nivel de alimentación sobre la actividad ovárica, involución uterina y expresión del IGF-I en vacas mestizas durante el posparto, pdf, *Revista Interciencia*, Vol. 35, N°10, pag, 8, 7.

Salazar Giraldo, et al, 2009, Parámetros metabólicos séricos y condición corporal durante el pre y posparto en vacas Brahman, pdf, *Revista*

Científica, Vol. XIX, N°4, (en línea), pag. 352, 353. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=95911613006> (Consultado agosto 1, 2012).

Santini-Pinto Livia, et al., 2009, Relación entre los niveles de glucosa e insulina sanguínea y el reinicio de la actividad ovárica en vacas de doble propósito con diferentes condiciones corporales al parto y diferente nivel de alimentación posparto, pdf, Vol. 34 N°5, Interciencia, pag, 3.

Vargas S. José. P, 2009, Evaluación del perfil metabólico y condición corporal y su relación con el estado reproductivo de vacas en el trópico seco Michoacano. pdf. Tesis Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México, 42 pg, pag 13, 29.

Ventura Salgado Max, Barrios Urdaneta Alirio, 2001, Importancia del estado nutricional en el comportamiento reproductivo de vacas lactantes, pag, 69. En: Fundación Grupo de Investigación de la Reproducción Animal en la Región Zuliana (Fundación GIRARZ), Reproducción Bovina.

9. ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Cuadro general sobre el número de Días Abiertos y el Intervalo entre partos (IEP) en días y meses de los animales en estudio, agrupados según la finca.

FINCA	N° VACA ¹	D.A	I.E.P(DÍAS)	I.E.P(MESES)
Santa María	1	117	395	13,2
	8	233	-----	----
	10	152	430	14,3
	34	124	402	13,4
Tenería	4	190	414	13,8
El Villonaco	9	232	526	17,5
	18	224	545	18,2
Guapacasa	3	109	323	10,8
	7	160	335	11,2
Chinguilanchi	6	109	344	11,5
Los Eucaliptos	2	239	-----	----
Criadero SAN ISIDRO	13	228	508	16,9
	20	88	402	13,4
	21	218	521	17,4
	27	76	550	18,3
	30	69	405	13,5
	37	59	485	16,2
Quinta Punzara	5	64	372	12,4
	35	191	637	21,2
Criadero Raquelita	11	70	338	11,3
	24	102	371	12,4
	25	95	365	12,2
	39	74	369	12,3
	40	84	375	12,5
Reina de El Cisne	23	33	320	10,7
	29	57	331	11,0

¹ El número asignado a cada animal con el fin de identificarlas según el orden de parición.

Marta Burneo	17	226	----	---
	28	157	435	14,5
	32	193	-----	----
Hacienda Yanacocha	14	118	396	13,2
	15	108	386	12,9
	16	133	411	13,7
	19	223	----	----
Shushuhuayco	12	102	373	12,4
La Cruz	22	116	381	12,7
	26	106	394	13,1
	31	66	----	----
	33	129	410	13,7
	36	37	----	-----
	38	65	336	11,2

SUMA	5176	13585	452,8
MEDIA	129,4	411,7	13,7
DESVIACIÓN ESTANDAR	62,8	76,1	2,5

ANEXO 2
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Cuadro general sobre la presentación de celo postparto, número de servicios/concepción y el Intervalo parto-concepción (IPCC) de los animales en estudio, organizados según la finca

FINCA	N° VACA	Celo PP (días)	N° Serv	I.P.Concep
Santa María	1	117	1	117
	8	233*	1	-----
	10	152	1	152
	34	124	1	124
Tenería	4	190	1	190
El Villonaco	9	233*	1	----
	18	224	1	----
Guapacasa	3	109	1	109
	7	160	1	160
Chinguilanchi	6	109	1	109
Los Eucaliptos	2	239	1	-----
Criadero SAN ISIDRO	13	46	1	-----
	20	43	2	88
	21	45	1	----
	27	76	1	76
	30	44	1	69
	37	59	1	59
Quinta Punzara	5	63	1	64
	35	191	2	-----
Criadero Raquelita	11	70	1	70
	24	102	1	102
	25	95	1	95
	39	69	1	74
	40	84	1	84
Reina de El Cisne	23	33	1	33
	29	15	1	57
Villonaco	17	226	1	-----
	28	157	1	157
	32	193	1	-----

Hacienda Yanacochoa	14	118	1	118
	15	108	1	108
	16	133	1	133
	19	223	2	-----
Shushuhuayco	12	102	1	102
La Cruz	22	92	2	116
	26	84	1	106
	31	66	1	66
	33	50	1	129
	36	37	1	37
	38	44	1	65

SUMA	4558	44	2969
MEDIA	114,0	1,1	99,0
DESVIACIÓN ESTANDAR	66,3	0,3	37,4

ANEXO 3
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Condición Corporal de los animales en estudio en los días de muestreo, agrupados según la finca.

FINCA	N° VACA	C.C			Media
		15	30	45	
Santa María	1	2,7	3	3	2,9
	8	3	3	3	3
	10	2,7	3	3	2,9
	34	2,7	2,7	3	2,8
Tenería	4	2,7	2,7	2,7	2,7
El Villonaco	9	2,5	2,5	2,7	2,6
	18	3	3	3,5	3,2
Guapacasa	3	3	3	3,25	3,1
	7	2,7	2,7	3	2,8
Chinguilanchi	6	3	3	3,5	3,2
Los Eucaliptos	2	2,5	3	3	2,8
Criadero SAN ISIDRO	13	3	3	3,5	3,2
	20	3	3	3,5	3,2
	21	3	3	3,5	3,2
	27	3	3,5	3,5	3,3
	30	3	3,5	3,5	3,3
	37	3	3	3	3
Quinta Punzara	5	2,5	3	3	2,8
	35	2,5	2,7	2,7	2,6
Criadero Raquelita	11	2,5	3	3	2,8
	24	3	3,5	3,5	3,3
	25	3	3,5	3,5	3,3
	39	3	3,25	3,5	3,25
	40	3	3	3	3
Reina de El Cisne	23	2,7	3	3,5	3,1
	29	3	3,25	3,5	3,25
Villonaco	17	2,7	2,7	3	2,8
	28	3	3	3	3
	32	2,7	2,7	3	2,8

Hacienda Yanacochoa	14	2,5	2,7	3	2,7
	15	2,7	2,7	3	2,8
	16	2,5	2,5	2,7	2,6
	19	2,7	2,7	2,7	2,7
Shushuhuayco	12	3	3	3	3
La Cruz	22	2,5	2,7	2,7	2,6
	26	2,7	3	3	2,9
	31	2,7	2,7	3	2,8
	33	2,7	2,7	2,7	2,7
	36	2,7	2,7	3	2,8
	38	2,7	2,7	3	2,8

SUMA	111,5	117,3	124,15	117,65
MEDIA	2,79	2,93	3,10	2,9
DESVIACIÓN ESTANDAR	0,20	0,26	0,29	0,23

ANEXO 4
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Producción Lechera de los animales en estudio en los días de muestreo, agrupados según la finca.

FINCA	N° VACA	Producción de Leche			Media
		15	30	45	
Santa María	1	10,0	4,6	6,0	6,9
	8	7,0	5,1	6,6	6,2
	10	5,0	5,6	5,6	5,4
	34	7,0	5,0	5,0	5,7
Tenería	4	5,0	6,0	5,0	5,3
El Villonaco	9	6,7	6,6	5,7	6,3
	18	5,6	5,0	5,0	5,2
Guapacasa	3	10,1	11,3	10,0	10,5
	7	7,6	8,4	8,1	8,0
Chinguilanchi	6	7,0	7,6	7,3	7,3
Los Eucaliptos	2	5,9	5,9	5,0	5,6
Criadero SAN ISIDRO	13	32,1	33,0	35,0	33,4
	20	26,0	31,3	31,7	29,7
	21	29,3	36,3	39,1	34,9
	27	31,3	37,0	38,1	35,5
	30	40,1	39,9	39,7	39,9
	37	33,0	36,0	37,7	35,6
Quinta Punzara	5	12,7	22,6	24,9	20,0
	35	21,4	18,9	19,3	19,9
Criadero Raquelita	11	22,0	25,6	24,7	24,1
	24	26,4	33,0	34,4	31,3
	25	24,1	31,0	33,1	29,4
	39	24,7	25,0	25,0	24,9
	40	33,3	32,7	32,0	32,7
Reina de El Cisne	23	10,1	10,0	11,6	10,6
	29	10,0	10,6	11,9	10,8
Villonaco	17	3,6	1,3	1,3	2,0
	28	7,4	5,6	6,6	6,5
	32	7,0	5,0	4,0	5,3

Hacienda Yanacochoa	14	11,9	12,6	13,3	12,6
	15	9,9	10,1	10,7	10,2
	16	8,2	9,7	10,0	9,3
	19	7,9	9,3	9,3	8,8
Shushuhuayco	12	8,6	8,6	8,3	8,5
La Cruz	22	18,7	33,3	33,1	28,4
	26	26,6	27,3	22,0	25,3
	31	19,4	16,9	18,4	18,2
	33	26,9	25,0	27,6	26,5
	36	7,1	6,7	6,3	6,7
	38	31,9	34,1	28,4	31,5

SUMA	648,6	699,1	706,9	684,9
MEDIA	16,21	17,48	17,67	17,1
DESVIACIÓN ESTANDAR	10,60	12,34	12,54	11,69

ANEXO 5
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Edad, Número de Partos y sexo de la cría de los animales en estudio en los días de muestreo, agrupados según la finca.

FINCA	N° Vaca	EDAD (años)	N° PARTOS	SEXO CRÍA
Santa María	1	4	2	H
	8	2,8	1	M
	10	4	2	H
	34	4	2	M
Tenería	4	3,9	2	M
El Villonaco	9	7,5	5	H
	18	5	3	H
Guapacasa	3	8	7	H
	7	4	2	H
Chinguilanchi	6	5	4	H
Los Eucaliptos	2	3	1	M
Criadero SAN ISIDRO	13	5,7	4	H
	20	6,9	4	H
	21	5,7	4	H
	27	3,7	2	M
	30	8,7	6	H
	37	10,7	7	M
Quinta Punzara	5	5,7	3	H
	35	4,6	2	H
Criadero Raquelita	11	3,9	2	M
	24	6	3	M
	25	4	2	H
	39	5	2	M
	40	7	3	H
Reina de El Cisne	23	8	7	M
	29	5	2	H
Villonaco	17	3	1	H
	28	7	5	H
	32	3	1	H

Hacienda Yanacocha	14	9	7	M
	15	4	2	H
	16	5	3	H
	19	3	1	H
Shushuhuayco	12	6,5	4	M
La Cruz	22	8	5	H
	26	5	2	M
	31	3	1	H
	33	8	5	H
	36	3	1	H
	38	5	2	M

ANEXO 6
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Media de días abiertos (D.A) en ganaderías de la hoya de Loja.

<u>N°</u>	<u>Ganadería</u>	<u>Media</u>	<u>Observación</u>
1.	“Santa María”	156,5 ± 53,19	En esta ganadería se muestrearon 4 animales, de los cuales 1 vaca no presentó celo fértil* y por esta razón no entró para la media de D.A.
2.	Tenería	190	En esta ganadería solo se muestreo a un animal
3.	El Villonaco	-----	El número de hembras bovinas estudiadas fue de 2 vacas, pero ninguna quedó gestante hasta el 16 de agosto del 2013.
4.	Guapacasa	134.5 ± 36.1	Se estudiaron 2 hembras bovinas.
5.	Chinguilanchi	109	En esta ganadería solo se muestreo a un animal.
6.	Los Eucaliptos	-----	En esta ganadería se muestreo un animal, del cual no presentó celo fértil hasta el 16/08/2013
7.	Criadero SAN ISIDRO	123 ± 78,0	En esta ganadería se muestrearon 6 animales, de los cuales 2 vacas entraron en un programa de superovulación, y por ende sus D.A son mayores, es por esta razón no se las tomó en cuenta para la media.
8.	Quinta Punzara	127 ± 89,8	Se estudiaron 2 hembras bovinas, y solamente una ha presentado celo fértil.
9.	Criadero Raquelita	85 ±13.6	En esta ganadería se muestrearon 5 vacas.
10.	Reina de El Cisne	45 ± 17,0	En esta ganadería se muestrearon 2 vacas.
11.	Villonaco	192 ± 34,5	Se estudiaron 3 vacas. Este valor corresponde al número de días abiertos de una vaca porque fue la única que presentó celo fértil.

12.	Hacienda Yanacocha	145,5 ± 52,6	Se estudiaron 4 vacas
13.	Shushuhuayco	102	Se estudió 1 vaca
14.	La Cruz	86,5 ± 35,7	Se estudiaron 6 vacas

ANEXO 7
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

FOTOS



FINCA “LA CRUZ”



HACIENDA YANACOA



CRIADERO "SAN ISIDRO"

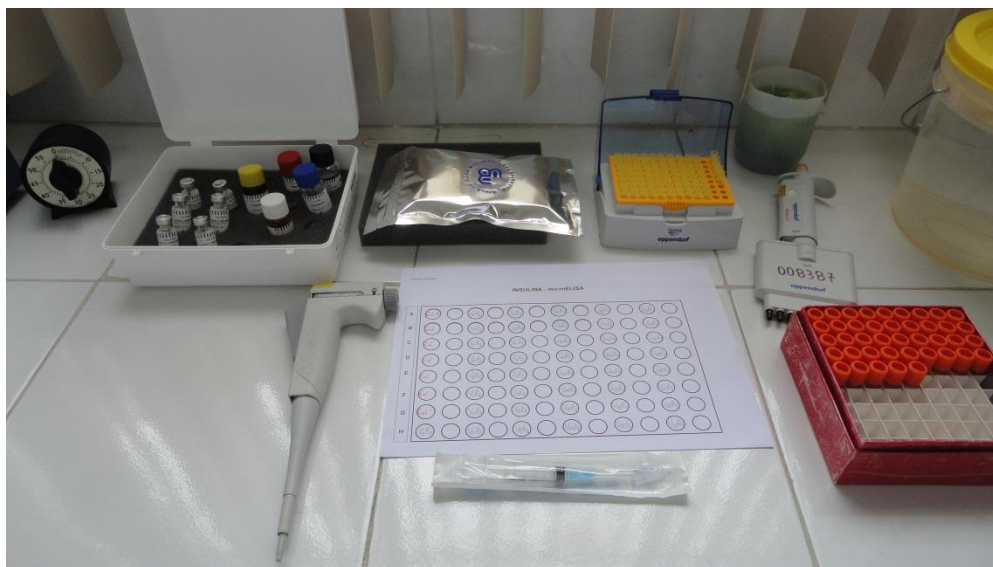


QUINTA EXPERIMENTAL PUNZARA-UNL



De izquierda a derecha:

- Sr. Manuel González, encargado de la ganadería del Seminario Mayo “Reina de “El Cisne”.
- Dr. Rómulo Chávez Valdivieso Ph. D, director del proyecto de Tesis
- Egdo. Cristian Rosales, tesista.



Materiales para la Prueba de ELISA



Identificación de criviales.
Pipeteo en la microplaca,



Equipos de Laboratorio utilizados para la Prueba de ELISA y
cuantificación de Glucosa

TERMINOLOGÍA

AGNEs = ácidos grasos no esterificados.

BEN = Balance Energético Negativo

C.C = Condición Corporal

D.A = días abiertos

DEL = Días en Lactancia

GH = del inglés: growth hormone = Hormona de crecimiento

GLU = Glucosa

IPCC = intervalo parto concepción

IPC = Intervalo parto celo

IAO = Reinicio de la actividad Ovárica

INS = Insulina

mg/dl = miligramo/decilitro

Mcal /Kg = Megacalorías / Kilogramo

NEFA = siglas en inglés: ácidos grasos no esterificados.

PP = Postparto

TAG = Triacilglicerol

uU/ml = microUnidades / mililitro