

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO ZOOTECNISTA**

TEMA:

**"DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y
PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS TRATADAS CON GnRH AL
CUARTO, OCTAVO Y DOCÉAVO DÍA POS INSEMINACIÓN"
ARTIFICIAL"**

AUTOR:

VÍCTOR MAURICIO COLLAGUAZO GÓMEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MIGUEL ÁNGEL GUTIÉRREZ REINOSO

2016

AUTORÍA

Yo, **COLLAGUAZO GÓMEZ VÍCTOR MAURICIO**, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, por hacer hincapié que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Universidad Técnica de Cotopaxi, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

.....

Víctor Mauricio Collaguazo Gómez

C.I. 1 72227971-6



Medicina
Veterinaria

CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo con el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica De Cotopaxi, en calidad de Director de Tesis con el Tema: "**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS TRATADAS CON GnRH AL CUARTO, OCTAVO Y DOCEÁVO DÍA POS INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**", propuesto por el alumno Víctor Mauricio Collaguazo Gómez, presento el **Aval Correspondiente** de este trabajo de tesis.

Atentamente

.....
DR. MIGUEL ÁNGEL GUTIÉRREZ REINOSO
Director de Tesis



Medicina
Veterinaria

CARTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS

Nosotros, Dr. Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza, Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez, Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrin Catedráticos Y Miembros Del Tribunal del trabajo de Tesis "**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS TRATADAS CON GnRH AL CUARTO, OCTAVO Y DOCEÁVO DÍA POS INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**", propuesto por el egresado Víctor Mauricio Collaguazo Gómez, presentamos el **Aval Correspondiente** de este trabajo de tesis.

Atentamente

.....
Presidente del Tribunal

Dr. Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza

.....
Miembro Opositor

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez

.....
Miembro del tribunal

Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrin



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS ADMINISTRATIVAS Y HUMANÍSTICAS
Latacunga – Ecuador

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente de la Carrera de Ciencias de la Educación, Mención Inglés de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Certifico, que he realizado la revisión del Abstract, de la tesis elaborada por el alumno: Collaguazo Gómez Víctor Mauricio; con el tema: **“DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS TRATADAS CON GnRH AL CUARTO, OCTAVO Y DOCÉAVO DÍA POST INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.”**, el mismo que cumple con requerimientos técnicos gramaticales del idioma Inglés.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad; pudiendo hacer uso de la presente para los fines legales pertinentes.

Latacunga, diciembre de 2015

Lic. MSc. Nelly Patricia Mena Vargas
C.I. 0501574297

AGRADECIMIENTO

Dios, tu amor y tu bondad no tienen fin, me permites sonreír ante todos mis logros que son resultado de tu ayuda, y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo de mis errores y me doy cuenta de los que me pones en frente mío para que mejore como ser humano.

A mis profesores de la Universidad Técnica de Cotopaxi, que me impartieron sus conocimientos y experiencias en el transcurso de mi vida estudiantil y que me ayudaron de una u otra forma para hacer posible la realización de la tesis.

Agradezco también a mis padres por ser el apoyo en mi carrera, en mis logros, en la dedicación de trabajar y ver a su hijo profesional sin importar la lluvia, el calor, el frío.

Al Dr. Miguel Gutiérrez por toda la colaboración brindada, durante la elaboración de este proyecto y por la gran calidad humana que me ha demostrado con su amistad.

Y finalmente agradecer a todas las personas los que me brindaron su apoyo de una u otra forma.

Víctor Mauricio Collaguazo Gómez

DEDICATORIA

A dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorar cada día más.

A mis padres por ser las personas que me han acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida, quienes han velado por mí durante este arduo camino para convertirme en un hombre profesional.

De igual forma, dedico a mi hija Odalis Anahí, por ser el pilar fundamental para que mi sueño se hiciera realidad, Odalis siéntete orgullosa de tu PADRE, que a pesar de los obstáculos y de los tropiezos, se levantó y siguió adelante en su camino.

A mi esposa BELEN, que siempre hemos estado en las buenas y en las malas, brindarme su apoyo incondicional.

Dedico esta tesis a todos aquellos que no creyeron en mí, que esperaban mi fracaso en cada paso que daba hacia la culminación de mis estudios, que nunca esperaban que finalizara mi carrera, a todos los que pensaron que no lo lograría.

Víctor Mauricio Collaguazo Gómez

TEMA: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA Y PORCENTAJE DE PREÑEZ EN VACAS TRATADAS CON GnRH AL CUARTO, OCTAVO Y DOCÉAVO DÍA POS INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.

RESUMEN

La eficiencia reproductiva es determinante en la rentabilidad de las explotaciones lecheras. Sin embargo, los bajos índices de fertilidad de las vacas respecto a la altitud han afectado los parámetros reproductivos de los hatos lecheros. La presente investigación se desarrolló a una altitud de 3300 msnm, con el objeto de determinar el índice de gestación y los niveles séricos de progesterona mediante la aplicación de GnRH exógena post- inseminación artificial. Para el experimento se seleccionaron 20 animales hembras de tercer parto de la raza hostein friesland, divididos al azar en un grupo control (T4) y en tres grupos (T1, T2 y T3). Los animales fueron sometidos a un protocolo de IATF e inseminados. Se empleó un análogo sintético de GnRH (Conceptal®) en cada tratamiento al 4to, 8vo y 12vo día a excepción del (T4); las muestras de sangre fueron extraídas por punción de la vena coccígea al 7mo día post aplicación de GnRH y analizadas por la prueba de EISA competitiva en fase seca; a los 30 días post inseminación mediante ultrasonografía se realizó el diagnóstico de gestación. Para el análisis de los datos se empleó el programa estadístico InfoStat versión Windows 2015, a través de la modelación ANOVA, Test: Duncan Alfa=0,05 y Prueba t para medias de dos muestras emparejadas. Respecto al análisis de P4 sérica post tratamiento (T1, T2, T3) y al compararlos entre grupos. Se determinó que no existe diferencia estadística significativa ($P < 0,05$). Sin embargo, de acuerdo al índice de gestación y comparando con los niveles de P4, se observó que el mejor tratamiento es aquel que mantiene la gestación efectiva, determinando una correlación positiva entre la GnRH-P4 y gestación. Además, los niveles de P4 sérica de los grupos se relacionan directamente con la formación, edad y calidad de células luteales. El menor costo por tratamiento y por vaca preñada, así como el mejor índice de gestación efectiva presento el tratamiento T2 (60%) respecto al T1, T3 y grupo control (T4). Se concluye, que la influencia en los niveles de concentración de progesterona sérica y el índice de gestación están directamente relacionados a la edad del cuerpo lúteo y determinados por los análogos sintéticos de la hormona GnRH aplicados al 8vo día post inseminación.

Palabras clave: Vaca, IATF Inseminación a tiempo fijo, progesterona, Análogo sintético de GnRH, gestación.

THEME: DETERMINATION OF PROGESTERONE CONCENTRATION AND PREGNANCY RATES IN COWS TREATED WITH GnRH AT FOURTH, EIGHT AND TWELFTH DAY POST ARTIFICIAL INSEMINATION.

ABSTRACT

The Reproductive efficiency is fundamental and determining the profitability of dairy farms. However, low rates of fertility of cows with respect to geography (altitude) have affected the reproductive performance of dairy herds. This research was conducted at an altitude of 3300 m, with the objective of determining the pregnancy rate and serum progesterone levels through the application of GnRH exogenous artificial insemination. For the experiment 20 female animals of the third race birth Holstein Friesian were selected, they were randomly divided into a control group (T4) and three groups (T1, T2 and T3). The animals were subjected to a TAI protocol and inseminated. Synthetic analogue of GnRH (Conceptal®) was used in each treatment the 4th, 8th and 12th day except for the control group; Blood samples were taken by puncture of the coccygeal vein to 7th day post application of GnRH and analyzed by the test of Radio Immuno Analysis (RIA) on a dry basis; pregnancy diagnosis was made and 30 days post insemination using ultrasonography. Duncan alpha = 0.05 and t-test means of two paired samples: For analyzing the statistical program data InfoStat Windows 2015 version, through modeling ANOVA, Test was used. Regarding the analysis of post treatment serum P4 (T1, T2, T3, T4) and to compare between groups. It was determined that there is no statistically significant difference ($P < 0.05$). However, according to the index of gestation and compared with the levels of P4, it was observed that the best treatment is one that remains effective gestation determining a positive correlation between the GnRH-P4 and pregnancy. In addition, serum P4 levels of the various groups establish a positive correlation with education, age and quality of luteal cells. The lower cost per treatment per pregnant cow, as well as the best index of effective pregnancy present treatment T2 (60%) compared to T1, T2 and control (T4). We conclude that the determination and influence on the levels of serum progesterone concentration and pregnancy rate are directly related to the age of the corpus luteum and determined by the synthetic hormone GnRH analogues.

Keywords: Cow, IATF timed artificial insemination, progesterone, synthetic analogue of GnRH, pregnancy.

INTRODUCCIÓN

En el mundo pecuario actual y particularmente en el Ecuador, la situación de la ganadería exige a los productores máxima eficiencia y un pronto retorno económico. La optimización reproductiva es uno de los principales factores que contribuyen para mejorar las ganancias; por lo tanto uno de los pilares fundamentales es entender el ciclo estral en la mayoría de los hatos ganaderos, siendo este constantemente influenciado mediante la utilización de sustancias hormonales, incidiendo directamente en la concentración de ellas; de esta manera el objetivo permanente ha sido el de incrementar las probabilidades de preñez en los animales que son inseminados en un determinado periodo, y así contribuir con una mejor eficiencia reproductiva. De la misma manera, de entre las técnicas mayormente empleadas que aportan al productor a ser más eficientes están la monta estacional, la inseminación artificial y el trasplante de embriones.

Así, la disminución de fertilidad en los hatos lecheros determina un rubro importante tanto para los pequeños, medianos y grandes productores, pudiendo estimarse como una de las causas de las gestaciones retrasadas a las pérdidas embrionarias tempranas. Es así, que en los Estados Unidos la presión por la selección genética intensiva es adyacente a mayores ingestas de materia seca de las vacas lecheras, que han sido estimadas en un aumento del 40% en los últimos 20 años; sin embargo, ha tenido una bajada en la fertilidad estimada en un 0.5% por año (Gordon, 2004)

Por tal motivo, una vez lograda la fecundación en una hembra bovina, el desarrollo del embrión depende de la cantidad de progesterona (P_4) liberada por el Cuerpo Lúteo (CL) durante la gestación, la misma que tiene la finalidad de inhibir la cascada luteolítica; así como el de estimular la producción de interferón tau ($IFN\tau$) conjuntamente con las células trofoblásticas del embrión durante el periodo de pre-implantación. Sin embargo, si durante el diestro gestacional se presentan concentraciones bajas de (P_4), se genera un incremento de los pulsos de la hormona luteinizante (LH) que conlleva al aumento de la concentración de estradiol (E_2) y PGF_2 alfa, provocando la lisis del cuerpo lúteo y posterior pérdida de la gestación.

Una de las causas para el no reconocimiento de la gestación o preñez, es la incapacidad que tendría el embrión para impedir la regresión del cuerpo lúteo (HERNANDEZ, 2000); al no producirse este reconocimiento deja de funcionar el

cuerpo lúteo por efecto de la acción luteolítica de la $PGF2\alpha$ que proviene del útero. Seguidamente la hembra bovina entra en estro y se produce la muerte embrionaria (HAFEZ, 1996). La progesterona (P4) se considera como una hormona esteroide que es secretada por el cuerpo lúteo y por el complejo feto-placenta; entre sus principales funciones está el de promover el crecimiento de las glándulas endometriales, iniciar el desarrollo alveolar de la glándula mamaria, comenzar la actividad secretora del oviducto, prevenir la contracción del útero y regular la secreción de las gonadotropinas en la pituitaria (RIVAS, 2003); así también niveles elevados de P4 inhiben la liberación de FSH y LH de la hipófisis anterior (BEARDEN y FUQUAY, 1980). Es importante describir que desde la década de los 40 se comprobó la utilidad de progesterona (P4), para el control del ciclo estral en los rumiantes. Aplicando inyecciones diarias en cantidades suficientes (100 mg de P4 y 50 mg P4 en la oveja) por 14 días, se simulaba un cuerpo lúteo artificial de modo que cuando se suprimía el tratamiento se creaba la sincronización del estro y la ovulación (WOLBANG, 1995).

Es así, que en varios reportes de investigaciones plantean la utilización de Hormonas Liberadoras de Gonadotropinas (GnRH), con la finalidad de mejorar los índices de gestación. Así, el uso de la GnRH ofrece soluciones para el control reproductivo del ciclo estral, y en vacas con un definido problema de baja fertilidad; siendo amplia su aplicación clínica en la prevención de la mortalidad embrionaria, inducción de la ovulación, disfunción ovárica, anestro posparto o en el control del desarrollo folicular en programas de sincronización del celo y transferencia de embriones (PETERS et al. 1999).

Por tal motivo, en la presente investigación se plantea el uso de GnRH en hembras bovinas post inseminación a diferentes intervalos de tiempo, con el objetivo de establecer cuál es el mejor tratamiento respecto a la incidencia sobre las ondas foliculares generadas posterior a la fecundación, y su relación con la formación de cuerpos lúteos accesorios, y elevación de los niveles de concentración en la secreción de progesterona e índice gestacional.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinación del índice de gestación y los niveles séricos de progesterona mediante la aplicación de GnRH exógena en los días cuarto, octavo y doceavo post-inseminación

ESPECÍFICOS

- Comparar los niveles de progesterona producida a partir de la aplicación de GnRH en los diferentes días establecidos por el protocolo experimental.
- Determinación del índice de gestación a los 30 días.
- Analizar el costo-beneficio de los tratamientos hormonales y de laboratorio.

HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa

H1.- La aplicación de GnRH al cuarto, octavo y doceavo día post-inseminación determinará concentraciones de progesterona e índice de gestación en las vacas tratadas.

Hipótesis nula

H0.- La aplicación de GnRH al cuarto, octavo y doceavo día post-inseminación no determinará concentraciones de progesterona e índice de gestación en las vacas tratadas.

PRELIMINARES

PORTADA.....	i
AUTORÍA.....	ii
CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS	iii
CARTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS.....	iv
AVAL DE TRADUCCION	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
OBJETIVOS	xii
GENERAL.....	xii
ESPECÍFICOS	xii
HIPÓTESIS.....	xii

CAPÍTULO I

1.- FUNDAMENTACION	1
1.1 Principios fundamentales de endocrinología y mecanismo de acción de las hormonas.....	1
1.2 El hipotálamo, la hipófisis y las hormonas de la reproducción.....	3
1.3 Hormonas hipotalámicas.....	3
1.3.1 Oxitocina.....	3
1.3.2 Hormona liberadora de las gonadotrofinas (GnRH)	4
1.3.3 Hormonas hipofisiarias gonadotróficas.....	4
1.3.4 Hormona folículo estimulante (FSH).....	4
1.3.5 Hormona Luteinizante (LH).....	5
1.4 Control endócrino del ciclo estral bovino	6
1.5 Fases del ciclo estral bovino	7
1.5.1 Fase folicular o de regresión luteal	7
1.5.2 Fase periovulatoria.....	8
1.5.3 Fase Luteal	9
1.6 Dinámica folicular ovárica en el bovino	11
1.6.1 Reclutamiento	13
1.6.2 Selección	13
1.6.3 Dominancia.....	14
1.7 Concentración de niveles de progesterona en vacas	14
1.8 Concentración de niveles de LH en vacas	15
1.9 Inseminación artificial en bovinos	16
1.9.1 Sincronización de celos con prostaglandinas	17
1.9.2 Sincronización de celos con GnRH	19
1.9.3 Protocolos con dispositivos intravaginales con progesterona y estradiol	20
1.10 Método de Elisa (Enzimoimmunoanálisis)	23
1.10.1 Concentración de Progesterona (P4) en el Método de Elisa	23
1.11 Ultrasonografía	23

CAPITULO II

2 MATERIALES Y MÉTODOS	25
2.1 Características del lugar	25
2.2 MATERIALES	27
2.2.1 RECURSOS HUMANOS	27
2.2.2 RECURSOS ANIMALES	27
2.2.3 RECURSOS MATERIALES CAMPO	27
2.2.4 RECURSOS HORMONAS	28
2.2.5 RECURSOS LABORATORIO	28
2.2.6 OTROS RECURSOS	28
2.3 DISEÑO METODOLÓGICO.....	28
2.3.1 Investigación experimental	28
2.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS A DESARROLLAR.....	29
2.4.1 Metodología Experimental.....	29
2.4.2 Método deductivo	30
2.4.3 Método inductivo	30
2.4.4 Método analítico	31
2.4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL	31
2.4.6 TRATAMIENTOS	32
2.4.7 UNIDAD EXPERIMENTAL	32
2.4.8 MANEJO DEL ENSAYO	32

CAPITULO III

3.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	37
DISCUSION DE RESULTADOS	65
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1: Funciones principales de las hormonas que intervienen en la reproducción.	5
Cuadro N° 2. Concentraciones (ng/ml) mínimas, medias y máximas en el plasma sanguíneo de P4 de vacas gestantes.	15
Cuadro N° 3: Metodología.....	29
Cuadro N° 4: Dbca (Diseño De Bloques Completos Al Azar).....	32
Cuadro N° 5.- Concentración de Progesterona (T4) pre y post tratamiento con GnRH.	37
Cuadro N° 6.- Concentración de Progesterona (T1) pre y post tratamiento con GnRH.	41
Cuadro N° 7.- Concentración de Progesterona (T2) pre y post tratamiento con GnRH.	44
Cuadro N° 8.- Concentración de Progesterona (T3) pre y post tratamiento con GnRH.	48
Cuadro N° 9.- Concentración de Progesterona de los grupos T1, T2, T3, T4 pre tratamiento con GnRH.	52
Cuadro N° 10 Costos de las hormonas (USD)	62
Cuadro N° 11 Costos por tratamientos (USD)	63
Cuadro N° 12 Costos por tratamiento / vaca preñada (USD)	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Fases del ciclo estral.....	11
Tabla N° 2: Concentraciones plasmáticas de la hormona luteinizante (Lh) durante las fases folicular y luteal del ciclo estral en hembras rumiantes domésticas.	16
Tabla N° 3. ADEVA para niveles de Progesterona del grupo testigo (T4) ng/ml	39
Tabla N° 4 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor	40
Tabla N° 5. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 1 ng/ml.....	43
Tabla N° 6 RESUMEN – Análisis de varianza de un factor.....	43
Tabla N° 7. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 2 ng/ml	46
Tabla N° 8 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor	47
Tabla N° 9. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 3 ng/ml	50
Tabla N° 10 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor	50
Tabla N° 11. ADEVA para niveles de Progesterona pre tratamiento (T1, T2, T3, T4) ng/ml – comparación entre grupos.....	54
Tabla N° 12 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor	55
Tabla N° 13. Test: Duncan Alfa=0,05	55
Tabla N° 14. Prueba para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona (día 4 y 11)	56
Tabla N° 15. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 4 y 11).	57
Tabla N° 16. Prueba para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 8 y 15).	58
Tabla N° 17. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 12 y 19).	59
Tabla N° 18. ADEVA para niveles de Progesterona post tratamiento (T1, T2, T3, T4) ng/ml – comparación entre grupos.....	60
Tabla N° 19. Test: Duncan Alfa=0,05	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1.- Niveles de Progesterona (T4) pre y post tratamiento con GnRH.	39
Gráfico N° 2.- Porcentaje de gestación.....	40
Gráfico N° 3.- Niveles de progesterona.....	42
Gráfico N° 4.- Porcentaje de gestación.....	44
Gráfico N° 5.- Niveles de progesterona.....	46
Gráfico N° 6.- Porcentaje de gestación.....	47
Gráfico N° 7.- Niveles de progesterona.....	49
Gráfico N° 8.- Porcentaje de gestación.....	51
Gráfico N° 7.- Niveles de progesterona.....	49
Gráfico N° 8.- Porcentaje de gestación.....	51
Gráfico N° 9 Porcentaje de Gestación.....	54

CAPÍTULO I

En el presente capítulo se trata de la revisión bibliográfica de los fundamentos endocrinológicos, análisis hormonal y sincronización en las hembras bovinas.

1.- FUNDAMENTACION

1.1 Principios fundamentales de endocrinología y mecanismo de acción de las hormonas.

Durante mucho tiempo se creyó que en el gobierno de las funciones orgánicas intervenía solamente el sistema nervioso; la sangre se consideraba como un vehículo que llevaba los alimentos a las células y que transportaba los productos catabólicos hasta los órganos encargados de excretarlos. Sin embargo, ya en el año 1850 diversos investigadores comenzaron a pensar que además podrían existir relaciones humorales entre los tejidos.

Posteriormente se estableció que un doble gobierno orgánico, cuya máxima especialización se observa en los seres superiores, no presupone la existencia de dos mecanismos independientes: glándulas endócrinas y sistema nervioso se influyen mutuamente. La homeostasis y la actividad metabólica están coordinadas por las comunicaciones que facilitan el sistema nervioso y endócrino. Además, este último desempeña un papel muy importante de asistencia en el inicio y regulación de los procesos de crecimiento, desarrollo, maduración y envejecimiento de los seres pluricelulares, especialmente en los vertebrados superiores. (JAUSET, 2000)

El sistema neuroendocrino es fundamental en la adaptación de los organismos a los cambios tanto del medio interno como del medio ambiente que los rodea. Este sistema en los animales superiores está compuesto de una serie de estructuras anatómicas:

- a) Las denominadas glándulas endócrinas o glándulas de secreción interna que no poseen conductos para secretar sus productos en el torrente sanguíneo, como son la adenohipófisis, tiroides, paratiroides y adrenales.
- b) Partes del sistema nervioso que comprenden núcleos hipotalámicos, partes del sistema nervioso central y neurohipófisis.
- c) Conjuntos celulares con acciones endócrinas, como células peptidérgicas del tracto gastrointestinal, islotes de Langerhans y otras en tejidos hepáticos y endoteliales.
- d) Algunas estructuras temporales con acciones endócrinas, como la placenta, folículos ováricos y cuerpo lúteo.
- e) Otros órganos, entre los que se incluye el corazón, timo, riñones.

Las células de estas estructuras sintetizan unas sustancias denominadas hormonas. Estos mensajeros químicos actúan a nivel celular uniéndose a proteínas específicas llamadas receptores. Su origen puede ser externo o interno a la célula blanca, a la cual pueden llegar por cualquier vía y provocar la respuesta biológica que puede ser de iniciar, detener o regular un proceso celular. (CACCIA, y otros, 2014).

1.2 El hipotálamo, la hipófisis y las hormonas de la reproducción

El hipotálamo se encuentra en la base del cerebro; está delimitado anteriormente por el quiasma óptico y posteriormente por los cuerpos mamilares; dorsalmente por el tálamo y ventralmente por el hueso esfenoides. La glándula hipófisis se encuentra por debajo del hipotálamo en una depresión del hueso esfenoides denominada silla turca. En el embrión, la hipófisis se forma en el ectodermo visceral en la superficie superior de la boca y el ectodermo neural del hipotálamo en desarrollo. Este doble origen se mantiene hasta el adulto, debido a que las dos principales divisiones se mantienen como entidades independientes, la hipófisis anterior o adenohipófisis y la hipófisis posterior o neurohipófisis. (CARCEDO, y otros, 2003)

1.3 Hormonas hipotalámicas

1.3.1 Oxitocina

La Oxitocina y la ADH son dos hormonas peptídicas que se sintetizan en el hipotálamo y se almacenan en la neurohipófisis (hipófisis posterior). La Oxitocina y la ADH se sintetizan en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo, y solamente se liberan desde su lugar de almacenaje en la neurohipófisis.

Las funciones fisiológicas de la oxitocina son: la contracción de la musculatura uterina y modificación de los umbrales de excitabilidad del miometrio en el útero. Durante el parto la oxitocina actúa en el proceso de expulsión del feto, la contracción de los vasos umbilicales y la contracción del útero después de concluido el parto para asegurar la hemostasia. (CARCEDO, y otros, 2003)

También provoca un incremento en la frecuencia de contracciones del oviducto y, de esta manera, interviene en el transporte, tanto de los gametos femeninos como de los masculinos en el oviducto. Los estrógenos facilitan la capacidad de reacción de la musculatura lisa a la oxitocina mientras que la progesterona tiene el efecto inverso.

Otra función de la oxitocina es la estimulación de las células mioepiteliales de los alvéolos mamarios. (BO, 2014)

1.3.2 Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH)

Esta hormona induce la liberación tanto de la hormona luteinizante (LH) como de la hormona folículo estimulante (FSH) a partir de la hipófisis. La síntesis de un gran número de análogos estructurales de la GnRH, ha tenido gran importancia en el establecimiento de las relaciones de estructura y actividad de esta hormona.

Se han sintetizado dos tipos básicos de análogos de GnRH. Los análogos antagonistas parecen unirse al receptor en la hipófisis, pero no inducen la liberación de LH o FSH, y bloquean la acción de la hormona natural. Los análogos estimuladores inducen la liberación de LH y FSH, al igual que la GnRH natural. (CARCEDO, y otros, 2003)

1.3.3 Hormonas hipofisarias gonadotróficas

La adenohipófisis secreta tres hormonas gonadotróficas: folículo estimulante, luteinizante y prolactina. (CACCIA, y otros, 2014)

1.3.4 Hormona folículo estimulante (FSH)

La hipófisis anterior secreta tres hormonas glicoproteicas: la FSH, la LH y la hormona estimulante de la tiroides (TSH). Estas glicoproteínas están formadas por dos subunidades diferentes denominadas alfa y beta.

En la hembra, la FSH estimula el crecimiento de los folículos en el ovario y participa, junto con la LH, estimulando la síntesis de estradiol en los folículos en desarrollo. Las células de la granulosa son las que poseen receptores para la FSH y producen además de estradiol otra hormona llamada inhibina que actuará junto con el estradiol suprimiendo la liberación de FSH por la hipófisis. (HAFEZ, y otros, 2000).

1.3.5 Hormona Luteinizante (LH)

La LH es una glicoproteína compuesta de una subunidad y otra con un peso molecular de 30.000 daltons y una vida media de 30 minutos. Los niveles tónicos o basales de LH actúan con la FSH para inducir la secreción de estrógenos de los folículos ováricos. Las células de la teca interna contienen receptores de LH y mediante su estímulo producen andrógenos, estos luego pasan a través de la membrana basal a las células de la granulosa, donde mediante la acción de la FSH se induce la aromatización de estos andrógenos para transformarse en estrógenos que son liberados al antro folicular y de allí a la circulación general. (CARCEDO, y otros, 2003)

CUADRO N° 1: FUNCIONES PRINCIPALES DE LAS HORMONAS QUE INTERVIENEN EN LA REPRODUCCIÓN.

HORMONA	ORIGEN	FUNCIÓN PRINCIPAL
FSH	ADENOHIPÓFISIS	Desarrollo del folículo y secreción de la hormona estrogénica en hembras.
LUTEINIZANTE	ADENOHIPÓFISIS	Ovulación y función del cuerpo lúteo en hembras.
OCITOXINA	NEUROHIPÓFISIS	Contracciones uterinas en el parto y excreción de la leche
PROGESTERONA	CUERPO LÚTEO	Preparación endometrial ovárica del útero para implantación del embrión y el mantenimiento de preñez. Desarrollo de la glándula mamaria.

Fuente: (GASQUE, 2009)

1.4 Control endócrino del ciclo estral bovino

Se conoce desde hace más de 35 años que la relación entre el hipotálamo (un integrador neuroendócrino entre el sistema nervioso central (SNC) y la pituitaria anterior o adenohipófisis, se establece por la secreción de péptidos neuroendócrinos del SNC hacia un sistema de vasos sanguíneos llamados vasos portales hipofisarios.

Con bovinos han demostrado que la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) induce la liberación de LH y FSH tanto in vivo como in vitro (cultivos de tejido hipofisario o suspensiones de células cultivadas. La GnRH es un decapeptido producido en los núcleos secretores de las neuronas en las porciones medio-basal y anterior del hipotálamo (particularmente en el núcleo arcuato) y es secretada en los vasos portales hipofisarios para alcanzar las células secretoras de gonadotropinas de la adenohipófisis. (HAFEZ, y otros, 2000)

Si bien está generalmente aceptado que la GnRH induce la liberación de LH y FSH, todavía existe algo de controversia sobre la posible existencia de hormonas liberadoras hipotalámicas separadas para la LH y la FSH.

Las interrelaciones del hipotálamo, pituitaria anterior, ovario y útero son bastante complejas. La actividad neural del SNC (hipotálamo) provoca pulsos de liberación de GnRH de neuronas neurosecretoras especializadas. Cada pulso de GnRH libera un pulso de LH/FSH y a su vez se ha visto en la oveja que cada pulso de LH produce un pulso de secreción de estradiol folicular. Estos pequeños pulsos de estradiol inducen una retroalimentación negativa al hipotálamo, especialmente ante la presencia de progesterona durante la fase luteal, inhibiendo la liberación de GnRH y por lo tanto, la liberación de LH/FSH, y regulando la secreción de estradiol. (BARUSELLI, y otros, 2014)

Este mecanismo de retroalimentación negativa cambia substancialmente cuando las concentraciones de progesterona disminuyen durante la luteólisis. En este momento, la retroalimentación negativa de progesterona sobre la LH se retira y se elevan las concentraciones de LH en plasma o suero como resultado del aumento de la frecuencia de los pulsos. El aumento en la frecuencia de los pulsos de LH estimula la producción de estradiol por parte del folículo dominante preovulatorio en desarrollo, el cual eventualmente alcanza un pico con niveles suficientes para accionar las descargas preovulatorias de LH y FSH a través de un mecanismo de retroalimentación positiva, actuando, probablemente, sobre el hipotálamo y la pituitaria. (CACCIA, y otros, 2014)

1.5 Fases del ciclo estral bovino

Para facilitar la comprensión de los mecanismos de control y para hacer un análisis detallado de las interacciones endócrinas, es conveniente dividir al ciclo estral en 3 etapas:

- a) Fase folicular o de regresión luteal
- b) Fase periovulatoria
- c) Fase luteal

1.5.1 Fase folicular o de regresión luteal

La fase folicular comienza con la luteólisis, en la cual las concentraciones de progesterona en sangre decaen abruptamente a niveles menores a 1 ng/ml (24-36 h después del inicio de la luteólisis). La caída de las concentraciones de progesterona elimina la retroalimentación negativa sobre la secreción de gonadotrofinas. Consecuentemente, aumenta la frecuencia de los pulsos de LH y, en menor grado, la de FSH. En esta fase, la hipófisis secreta aproximadamente 1 pulso de LH cada 60 min. (CACCIA, y otros, 2014)

El incremento en la frecuencia de pulsos de LH estimula el desarrollo del folículo dominante, que secreta cantidades crecientes de estradiol. El grado de desarrollo folicular al momento de la luteólisis determina el tiempo que transcurre hasta que un folículo completa su crecimiento y es capaz de producir cantidades suficientes de estradiol como para iniciar el celo y la descarga preovulatoria de LH. (BO, 2014)

1.5.2 Fase periovulatoria

Durante este período se producen importantes fenómenos: inicio del celo, onda preovulatoria de gonadotrofinas y ovulación. El intervalo entre el inicio de la luteólisis y el comienzo del celo es de 58-60 h aproximadamente. Los niveles de estradiol aumentan desde la regresión luteal hasta alcanzar niveles máximos el día previo al inicio del celo.

Dicha elevación del estradiol provoca el comportamiento propio del celo e induce la descarga preovulatoria de LH. Esta tiene una duración de 6-10 h, se inicia junto con el celo y alcanza su valor máximo (pico) 4-5 h más tarde. Durante el pico preovulatoria, la descarga de LH sigue un patrón pulsátil. (GIRAUDO, 2014)

El estradiol actúa mediante los siguientes mecanismos para desencadenar la secreción preovulatoria de LH:

- a) Aumenta la sensibilidad hipofisiaria al estímulo de la GnRH.
- b) Aumenta el número de receptores para GnRH en las células hipofisiarias.
- c) Estimula la biosíntesis de gonadotrofinas, dado el incremento que se observa en el contenido de ARNm para estas hormonas previo y durante la descarga de LH.

- d) Aumenta el efecto "preparador" (self-priming effect) de la GnRH, esto es el proceso mediante el cual la GnRH incrementa la respuesta hipofisiaria a exposiciones sucesivas de esta hormona.
- e) Establece un mecanismo a nivel hipotalámico que culmina en la liberación de una descarga de GnRH, que a su vez induce el pico preovulatorio de gonadotrofinas. (CACCIA, y otros, 2014)

Las funciones principales de la LH son la estimulación de la maduración folicular final, la activación del ovocito para que continúe con la meiosis (se encuentra en profase I, ovocito I) y el mantenimiento del CL. La descarga preovulatoria de LH ocurre al comienzo del estro, concurrentemente con el pico de FSH. Se cree que este pico de LH causa la ovulación e inicia la luteinización de las células de la granulosa y de la teca. Generalmente, la ovulación ocurre entre 24 y 30h después del comienzo de las descargas preovulatorias de LH y FSH. (BO, 2014)

1.5.3 Fase Luteal

Después de la ovulación, las concentraciones de progesterona comienzan a elevarse en los días 3 ó 4, alcanzan un pico entre los días 8 y 12, y luego disminuyen hasta concentraciones basales antes del próximo estro, como respuesta a la secreción uterina de PGF₂ y en ausencia de un embrión viable en el útero. Durante este período hay determinados hechos que vale la pena mencionar y tienen que ver con la formación del CL y la dinámica folicular ovárica.

- a) Formación del Cuerpo Lúteo: Después de la ovulación, la cavidad del folículo ovulatorio es invadida por células que proliferan de la capa de la granulosa y de la teca. Los capilares y las membranas basales se ven alteradas en la ovulación (pueden ocasionar una pequeña hemorragia) y permiten de esta manera que las células de los capilares y la teca penetren en la cavidad del folículo. Las células

de la teca y de la granulosa se diferencian (luteinizan) en células luteales que forman el CL. Las células de la teca se convierten en células de menor diámetro (15 mm), conocidas como células luteales pequeñas. Las células de la granulosa se convierten en células luteales de mayor tamaño (15 mm) también llamadas células luteales grandes. Ambos tipos de células luteales secretan progesterona, pero las células pequeñas parecen poseer casi todos los receptores de LH y tienen una respuesta seis veces mayor cuando se las expone a la LH in vitro que las células grandes en términos de secreción de progesterona.

- b) Luteólisis: Después de aproximadamente 14 días bajo la influencia de la progesterona secretada por el CL, el endometrio secreta pulsos de PGF₂ (cada uno dura aproximadamente seis horas) por un total de aproximadamente 36 h. La concentración de PGF₂ en sangre es estimada a través de la medición de su metabolito principal 15-keto, 13,14dehidro-prostaglandina F₂ (PGFM). En los rumiantes la PGF₂ llega al ovario a través de una difusión local arterio venosa también llamada mecanismo de contracorriente. Específicamente, la PGF₂ pasa de la vena útero-ovárica hacia la arteria ovárica con la cual se encuentra en íntima relación. (BARUSELLI, y otros, 2014).

TABLA N° 1: FASES DEL CICLO ESTRAL

FASE	DÍA	DURACIÓN	EVENTO
Estro	0	10-12 horas	Maduración folicular, altos niveles de estrógeno y pico de LH.
Metaestro	1—3	5-7 días	Ovulación (dentro de las 12-18 horas). Formación del cuerpo hemorrágico que no responde a la PGF 2 alfa.
Diestro	5—18	10-15 días	Maduración del cuerpo lúteo, altos niveles de progesterona.
Proestro	19-21	3 días	Regresión del cuerpo lúteo, maduración del folículo e incremento de estrógenos.

Fuente: (RIPPE, 2009)

1.6 Dinámica folicular ovárica en el bovino

El perfeccionamiento de técnicas para monitorear la concentración de las hormonas y sus receptores y de la ultrasonografía para evaluar los cambios morfológicos, han permitido un mayor entendimiento del desarrollo folicular en el bovino. Rajakoski postuló en 1960 la teoría de que había períodos u ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral bovino. No obstante, resultados de trabajos histológicos realizados por otros autores refutaron el fenómeno de las ondas y apoyaron la noción de que el crecimiento folicular era continuo e independiente de las fases del ciclo estral. Se presentaron evidencias que apoyaban el concepto de que los folículos eran “reclutados” continuamente a través del ciclo y que el folículo destinado a ovular era seleccionado por coincidencia de su estado de madurez con la ocurrencia de la descarga preovulatoria de gonadotrofinas. (BO, 2014)

La confusión y controversia respecto a la dinámica folicular continuó hasta finales de la década del 80, con trabajos a favor o en contra de la teoría de ondas de Rajakoski, hasta que trabajos utilizando ultrasonografía de tiempo real documentaron convincentemente que el crecimiento folicular en el bovino ocurre simulando ondas. Desde ese momento se han realizado un importante número de trabajos que demuestran que el patrón de ondas se repite en casi todos los estadios de la vida de la hembra bovina, incluyendo el período prepúber, la preñez y el período posparto. (HAFEZ, y otros, 2000)

Los folículos del ovario del bovino se desarrollan en ondas. Una onda de crecimiento folicular está constituida por un gran número de folículos que se desarrollan al mismo tiempo, seguido por la selección y crecimiento del folículo dominante y la regresión o atresia de los folículos subordinados. En ausencia de luteólisis, el folículo dominante dejará de crecer e iniciará la regresión, dando lugar al crecimiento de una nueva onda folicular. Se ha demostrado que existen 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral. Existe un gran variabilidad entre animales en cuanto al día de comienzo de cada onda y a la cantidad de ondas por ciclo estral. Hay trabajos que han encontrado una supremacía de animales con 2 ondas mientras que otros han encontrado una supremacía de animales con 3 ondas. El CL comienza su regresión más temprano en los ciclos de 2 ondas (Día 16) que en los de 3 ondas (Día 19) afectando el intervalo interovulatorio (20 días y 23 días, respectivamente). (GIRAUDO, 2014)

El desarrollo folicular está controlado por la secreción de hormonas provenientes de la hipófisis, el CL y de los folículos. Se ha observado que cada onda folicular está siempre precedida por un pico de FSH. Se cree que este pico es fundamental para que los folículos antrales ingresen al pool de folículos grandes (4 mm) que observamos en la onda folicular. Luego del comienzo de la onda, el folículo dominante comienza a producir grandes cantidades de estradiol e inhibina que actuarán inhibiendo la liberación de FSH. Con poca FSH circulante los folículos subordinados comienzan a

regresar. El folículo dominante puede seguir creciendo debido a la adquisición de receptores de LH en las células de la granulosa (además de los que se encuentran en la teca). Durante el diestro, los altos niveles de progesterona afectarán adversamente la frecuencia de los pulsos de LH e inducirán la regresión del folículo dominante. (CARCEDO, y otros, 2003)

Con respecto a los productos foliculares, la investigación en esta área ha llevado a descubrir una extendida y aún inconclusa lista de factores reguladores intragonadales con importantes roles en el control autócrino, parácrino y/o endócrino de la función ovárica. En general, se piensa que estos factores intraováricos modulan el número y desarrollo de los folículos en crecimiento, primordialmente a través de la regulación de las gonadotrofinas o de la respuesta a las gonadotrofinas. Sin embargo, se sigue manteniendo que al menos en el bovino los efectos supresivos del folículo dominante sobre los subordinados se ejercen a través de canales sistémicos más que autócrinos o parácrinos. (BARUSELLI, y otros, 2014)

1.6.1 Reclutamiento

Una cohorte de folículos de aproximadamente 3 mm de diámetro es estimulado por un aumento transitorio de la hormona FSH. El pico de FSH ocurre cuando el futuro folículo dominante alcanza un tamaño de aproximadamente 4 mm y luego alcanza los niveles de FSH disminuyen. El proceso por el cual FSH declina es desconocido.

1.6.2 Selección

Es el proceso por el cual un folículo es elegido para ser dominante y evita la atresia, los demás folículos de esa cohorte se vuelven atrésicos, tal vez por la disminución en los niveles de FSH.

1.6.3 Dominancia

Es el proceso por el cual el folículo dominante ejerce un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Este efecto inhibitorio se mantiene hasta que esta dominancia desaparece bien porque el folículo muere o porque el folículo es ovulado. Este folículo que alcanza un tamaño marcadamente mayor que los demás es el responsable de la secreción de estradiol y adquiere la capacidad de continuar creciendo incluso en presencia de otras hormonas que crean un medio adverso para el resto de los folículos. Con la ovulación o destrucción del folículo dominante, se produce un nuevo incremento de FSH y una nueva onda folicular se inicia. (RIPPE, 2009)

1.7 Concentración de niveles de progesterona en vacas

Investigaciones realizadas por (Pinto et al. 2009) afirman que las concentraciones medias de P4 en vacas gestantes oscilaron entre 7.87 - 20.30 ng/ml, valores que son superiores a los encontrados por (Erb et al. 1968) en la vena ovárica de 1.8 - 4.5 ng/ml y menores a los encontrados en la vena yugular de 20 - 35 ng/ml, según (Holý, 1987). Estas fluctuaciones se deben posiblemente, a que durante la gestación en el bovino otros órganos como la placenta y las glándulas suprarrenales producen P4 periférica tienden a aumentar mientras que en la vena ovárica disminuyen.

Además estos autores continúan argumentando que los resultados obtenidos en cada mes en esta investigación fueron similares en su mayoría a los de (SMITH et. al. 2004) quienes concluyeron que el nivel de P4 sanguínea en la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/ml durante la preñez, sin embargo, el valor reportado por estos autores es similar a la media de P4 en vacas gestantes encontrada a lo largo de este estudio (dos a nueve meses) de 12.99 ng/ml.

CUADRO N° 2. CONCENTRACIONES (NG/ML) MÍNIMAS, MEDIAS Y MÁXIMAS EN EL PLASMA SANGUÍNEO DE P4 DE VACAS GESTANTES.

EDAD DE GESTACIÓN			
(MESES)	MÍNIMO	MEDIA	MÁXIMO
2	8.35	16.86	34.00
3	7.20	12.87	29.70
4	7.67	11.38	22.82
5	8.00	20.30	34.00
6	6.60	10.35	16.08
7	5.20	7.87	9.80
8	10.02	16.04	31.60
9	4.27	8.29	12.26

Fuente: (PINTO et al, 2009)

El cuerpo amarillo de la preñez en la vaca permanece en el ovario durante toda la gravidez, sin embargo, después de los 200 días de preñez deben participar también otros órganos (placenta, glándulas suprarrenales) como de fuentes de P4, ya que la gestación puede continuar después de realizarse la ovariectomía en las fases avanzadas de la preñez. Este fenómeno se debe al aumento de la progesterona en la circulación periférica (vena yugular), mientras que en la vena ovárica disminuye, lo que significa que al final de la preñez se reduce la producción de P4 en el ovario y aumenta está en la placenta (HOLY, 1987).

1.8 Concentración de niveles de LH en vacas

El patrón de la secreción de la LH tienen tres características que se evidencian durante el ciclo estral. Dichas características son concentración, amplitud y frecuencia, las cuales varía durante el ciclo, ya que son altamente dependientes de las concentraciones circulantes de P4 y E2. Altas concentraciones de P4 producidas por

un cuerpo lúteo funcional suprimen frecuencia de los pulsos de LH, mientras que la presencia de altas concentraciones de E2 induce la liberación de Hormona Liberadora de Gonadotropina (GnRH) desde el hipotálamo, lo que resulta en un pico de LH, de amplitud y frecuencia suficiente para estimular la maduración final del folículo dominante y la posterior ovulación. (FRANCO, y otros, 2011)

TABLA N° 2: CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LA HORMONA LUTEINIZANTE (LH) DURANTE LAS FASES FOLICULAR Y LUTEAL DEL CICLO ESTRAL EN HEMBRAS RUMIANTES DOMÉSTICAS.

ESPECIE	FASE FOLICULAR	AUTOR	FASE LUTEAL	AUTOR
	CONCENTRACION DE LA LH(ng/MI)		CONCENTRACION DE LA LH(ng/MI)	
BOVINOS	06 - 010	(43.44)	0.05-0.4	(44.45-46.47)

Fuente: (FRANCO, y otros, 2011)

1.9 Inseminación artificial en bovinos

En el ganado vacuno, la inseminación artificial se utiliza principalmente para la mejora genética del ganado, aunque otras condiciones también justifican su uso. El uso de la IA en todo el mundo para la mejora genética del bovino de leche fue posible gracias al desarrollo de un sistema para probar la descendencia y al uso posterior de los controles lecheros como una medida objetiva del rendimiento en función del cual se seleccionan los mejores toros, las técnicas para congelar el semen y los contenedores de nitrógeno líquido. (GISPERT, 2007)

La Inseminación Artificial (IA) consiste en depositar el semen por vía instrumental en el útero de una hembra antes de que ocurra la ovulación. El semen, recogido mediante el uso de una vagina artificial o por electroeyaculador, es diluido, congelado o no, y

depositado en el cuerpo del útero por vía vagino-cervical. De esta forma, el producto de una sola eyaculación puede servir para la inseminación de un número elevado de hembras permitiendo multiplicar considerablemente la capacidad reproductora de los machos y constituyendo un poderoso medio de mejora genética y de selección. Representa también un medio eficaz de lucha contra las enfermedades venéreas. (HAFEZ, y otros, 2000)

Se tienen noticias de que la Inseminación Artificial fue utilizada por los árabes en el siglo XIV, pero los primeros datos de utilización de la técnica aparecen en 1779. El fisiólogo italiano Lázaro Spallanzani, inyectó en la vagina de una perra en celo esperma recogido directamente del macho y esta parió tres cachorros. Datos de la aplicación de la inseminación artificial en grandes animales aparecen en 1890 cuando Repiquet en Francia y Hoffman en Alemania, la aplican con éxito en la yegua. Los datos de aplicación en la ganadería comienzan con la escuela rusa. Elie Ivanov comienza aplicándola en la yegua y obtiene en 1912, 31 concepciones de 39 yeguas inseminadas y continúa aplicándola en ganado vacuno y ovino. Con sus colaboradores, Ivanov pone a punto la vagina artificial y publica estudios de fisiología del esperma. Pero el gran impulso de la IA se inicia después de la segunda guerra mundial, cuando el método es adoptado y aplicado en todo el mundo y se comienzan con las prácticas de congelado del semen. (BARUSELLI, y otros, 2014)

1.9.1 Sincronización de celos con prostaglandinas

La sincronización de celos con prostaglandinas significó un aporte trascendente a la producción animal y sentó bases muy importantes para las biotecnologías reproductivas que dependen del ciclo estral. Las investigaciones que generó llevaron a un conocimiento cabal del ciclo estral y su regulación endócrina. (CARCEDO, y otros, 2003)

La propiedad luteolítica de la PGF la hace y la hará por mucho tiempo imprescindible en los tratamientos para sincronizar los ciclos estrales en bovinos. Sabemos que tiene algunas limitaciones para utilizarla como hormona única:

- a) Sólo actuará en animales que se encuentren ciclando y con CL funcional. - Un CL menor a 5 días es incapaz de responder a PGF.
- b) Después de una sola dosis luteolítica de PGF presentarán celo el 60 a 66 % de las hembras que se encuentren ciclando.
- c) Si se administran dos dosis con un intervalo de 11 días, la segunda dosis encontrará a todas las vaquillonas con un CL funcional capaz de responder a la hormona y la respuesta en buena. No obstante, recientes trabajos indican que en vacas el intervalo de 14 días resulta en mayor cantidad de animales en celo.
- d) El grado de sincronía de estos celos será mayor después de la segunda inyección con respecto a la primera, ello es debido a que hay menor dispersión en cuanto al estadio del ciclo, entre las hembras. Sin embargo no hay sincronía suficiente para la IA a tiempo fijo. (BARUSELLI, y otros, 2014)
- e) El intervalo entre la administración de una dosis de PGF y la aparición del celo, dependerá del estadio de desarrollo folicular al momento de iniciar el tratamiento; si se encuentra presente en el ovario un folículo dominante en fase de crecimiento o estática temprana, ovulará el mismo folículo a los 3 o 4 días, si por el contrario se encuentra en fase estática tardía, se atresiará y ovulará un folículo de la onda siguiente, entre los 5 a 7 días próximos. - En algunas condiciones fisiológicas, una dosis de estrógeno después de la de PGF puede mejorar la sincronía, pero los beneficios de utilizar este tratamiento no son claras.

Numerosos trabajos plantearon la necesidad de perfeccionar los tratamientos de sincronización con PGF. Los nuevos conocimientos de la fisiología del ciclo estral que surgieron a partir de la utilización de la Ultrasonografía para su estudio, dejaron claro que para lograr una precisa sincronización sería necesario trabajar no sólo sobre

la función del cuerpo lúteo, sino también sobre la dinámica folicular. (BARUSELLI, y otros, 2014)

1.9.2 Sincronización de celos con GnRH

En programa de Inseminación Artificial la tasa de preñez es el producto de la tasa de detección de celos por la tasa de concepción. La tasa de detección de celos es la relación entre los animales detectados en celo y el total de los que efectivamente están ciclando, y la tasa de concepción es el porcentaje de preñez obtenido sobre las que se sirvieron. Esto significa que la relación es factorial y si tuviéramos una eficiencia de detección de celos del 80 % y de concepción del 70 %, el porcentaje de preñez sería de 56 % ($70\% \times 80\% = 56\%$). Cualquier disminución en uno de ellos afecta drásticamente el porcentaje de preñez. Por ejemplo, durante las estaciones más cálidas del año en Florida, aproximadamente el 80% de los celos no son detectados (54); en este caso, aun teniendo un 80 % de eficiencia de los servicios, el resultado en preñeces sería de 16 %. No cabe ninguna duda que la detección de celos es limitante de la eficiencia reproductiva. (CARCEDO, y otros, 2003)

La GnRH y sus agonistas han estado comercialmente disponibles en el mercado por casi 20 años. Al principio, la GnRH fue usada solamente para el tratamiento de la degeneración quística folicular en la vaca. Más tarde, se la utilizó en la sincronización de la ovulación en IA en vacas repetidoras.

Trabajos realizados por varios grupos demostraron que la inyección intramuscular (im) de GnRH producirá la liberación de LH en un pico "tipo preovulatorio" aproximadamente a las 2 h de la administración (53). Por lo tanto, se podría utilizar la GnRH para inducir, a través de la ovulación del folículo dominante, el desarrollo de una nueva onda folicular.

Esta idea fue explorada por varios grupos, pero tal vez uno de los primeros experimentos fue publicado por MACMILLAN y THATCHER. Ellos encontraron que la administración de Buserelina durante el diestro (Días 11, 12, ó 13) alteró la dinámica folicular. Concretamente, reportaron una alteración de los patrones de desarrollo folicular, la aparición de folículos con un antro "nuboso" (Cloudy Follicles) por aparente luteinización y en algunos casos, la ovulación del folículo dominante. (HAFEZ, y otros, 2000)

1.9.3 Protocolos con dispositivos intravaginales con progesterona y estradiol

Actualmente existe en el mercado varios dispositivos intravaginales e implantes subcutáneos que liberan progesterona y que han sido utilizados para el desarrollo de protocolos de IATF. Este consiste en administrar 2 mg de benzoato de estradiol por vía intramuscular junto con la inserción de un dispositivo intravaginal con progesterona el día 0 del tratamiento, en el día 7 u 8 se extrae el dispositivo y se aplica PGF y 24 horas después se administra 1 mg de benzoato de estradiol. La IATF se realiza entre las 52 y 56 horas de la remoción de dispositivo. (CARCEDO, y otros, 2003)

El benzoato de estradiol aplicado al inicio del tratamiento tiene como función principal producir la regresión folicular y sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular 4 días más tarde. Con esto se asegura la presencia de un nuevo folículo dominante así como de un óvulo viable al momento de ser retirado el dispositivo con progesterona. Por su parte, la progesterona del dispositivo, suprime el crecimiento del folículo dominante y evita su ovulación. Al momento de retirar el dispositivo con progesterona (día 7 a 8) se administra una dosis de PGF que provocará la regresión del CL que pudiera estar presente. Una segunda dosis de benzoato de estradiol a 24 horas después del retiro del dispositivo, producirá la ovulación del folículo dominante presente en las hembras tratadas. (MARANA, 2015)

Este protocolo ha probado ser igualmente efectivo en tratamientos donde el dispositivo permanece 7 u 8 días en la vagina de la vaca, sin que esto afecte la preñez de la IATF (46.6% VS 52.7%; CHESTA y COL.,2003). También se ha ovulado la preñez al utilizar dispositivos nuevos o de segundo uso (54.1% vs55.8%; BALLA y COL ., 2005), no encontrándose diferencias en las tasas de preñez cuando se utilizaron dispositivos nuevos o previamente utilizados. Actualmente se cuenta en el mercado con dispositivos diseñados para ser utilizados una sola vez los cuales contienen menos cantidad de progesterona impregnada. Con el uso de estos dispositivos (de un uso) se pueden alcanzar tasas de preñez similares a las obtenidas con dispositivos de dos o más usos. (BO, 2014)

Diversos estudios en donde se evaluó la preñez a la IATF en función de la condición corporal, sugieren que las vacas debe en una condición corporal (CC) mínima de 2.5 puntos (en una escala de 1 a 5) para obtener buenos resultados de preñez. Se ha podido observar que cuando las vacas se encuentran con menos de 2.5 puntos de CC, la preñez comienza a disminuir, por el contrario cuando las vacas se encuentran demasiado gordas, también la preñez puede ser afectada. (MARANA, 2015)

1.9.3.1 Benzoato de estradiol

El Benzoato de Estradiol es un derivado sintético del 17 b Estradiol, hormona esteroidea sintetizada por el folículo ovárico desarrollada para optimizar los resultados reproductivos de los tratamientos con progestágenos en bovinos.

El uso de Benzoato de Estradiol al momento de la aplicación del progestágeno (considerado este como día 0) provoca una nueva onda folicular; la aplicación de Benzoato de Estradiol a la extracción del progestágeno induce un pico preovulatorio de LH a través del feed back positivo del Estradiol sobre GnRH y LH lo que resulta en una alta sincronía de ovulaciones. (VIDELA, 2015)

1.9.3.2 Dispositivo intravaginal bovino syntex-dib

Es un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona utilizado para la regulación del ciclo estral en bovinos.

La progesterona liberada a partir de la colocación del dispositivo tiene un rol importante sobre la dinámica folicular ovárica, los niveles supraluteales (>1 ng/ml) obtenidos a los pocos minutos de la introducción del dispositivo provocan la regresión del folículo dominante y aceleran el recambio de las ondas foliculares, este cese de la secreción de productos foliculares (estrógeno e inhibina) produce el aumento de FSH que va a ser la responsable del comienzo de la emergencia de la siguiente onda folicular. Por otro lado la extracción del dispositivo provoca la caída de progesterona a niveles subluteales (<1 ng/ml) que inducen el incremento de la frecuencia de los pulsos de LH, el crecimiento de la frecuencia de los pulsos de LH, el crecimiento y la persistencia del folículo dominante con concentraciones muy altas de Estradiol que provocan por un lado el celo y a nivel endócrino induce en finalmente el pico de LH que es seguido por la ovulación.

1.9.3.3 CICLASE DL

En el sistema reproductivo las PGF juegan un rol importante en la ovulación, luteólisis, transporte de gametos, motilidad uterina, expulsión de membranas fetales y transporte de espermatozoides en hembras y machos. Las PGF son empleadas terapéutica reproductiva primariamente por sus potentes efectos luteolíticos. La PG F2 alfa, causa la rápida regresión del cuerpo lúteo, con una rápida declinación en la producción de Progesterona. La luteólisis es seguida usualmente por el desarrollo de folículos ováricos y retorno estro con ovulación normal. En bovinos el estro ocurre 2 a 4 días después. El cuerpo lúteo temprano es insensible a los efectos de las PGs, este período refractario se extiende hasta los 4 o 5 días pos ovulación.

1.10 Método de Elisa (Enzimoimmunoanálisis)

1.10.1 Concentración de Progesterona (P4) en el Método de Elisa

Se determinaron las concentraciones de progesterona (P4) plasmática por enzimoimmunoanálisis (Elisa), de 47 novillas mestizas Bos Indicus vs Bos Taurus receptoras de embriones bovinos, en un programa comercial de transferencia de embriones (TE) en el Estado Monagas, Venezuela, con la finalidad de tener diagnóstico precoz de preñez. La tasa de preñez se confirmó por palpación transrectal a los 60 días post TE. De las 47 transferencias, 18 receptoras (38.3%) resultaron preñadas y 29 (61.7%) vacías. La regresión lineal, el análisis de varianza (ANAVAR) y de Jí cuadrado, no demostraron ($P > 0.05$) diferencias significativas entre las concentraciones de P4 de receptoras preñadas y vacías para los días 0 (celo) y 7 (TE) del ciclo estral. Para el día 21, las concentraciones de P4 en preñadas, fueron más altas ($P < 0.05$) (12.2 ± 2.2 ng/ml) que en vacías (0.82 ± 0.42 ng/ml). (ROA, y otros, 2000)

En el día 21 post celo se obtuvo un 75% de efectividad en la detección de preñadas y un 100% en vacías utilizando las concentraciones de p4 (2 MG/ML) de P4 , como criterio discriminatorio). Se concluye que la determinación de las concentraciones de P4 entre los días 21 a 24 post celo da un alto porcentaje de seguridad en el diagnóstico precoz post celo, disminuyendo así los costos de mantenimiento de las mismas. (ROA, y otros, 2000)

1.11 Ultrasonografía

La ecografía o ultrasonografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo. La aplicación del ultrasonido en las especies bovina y equina corresponde a los años 80, sin embargo su

desarrollo y perfeccionamiento para el estudio de los eventos reproductivos se ha acelerado en la presente década. (CACCIA, y otros, 2014)

La técnica de ecografía en reproducción bovina se incrementa cada día por el veterinario clínico y el especialista en biotecnología de la reproducción, pues su utilización es demandada cada vez más por los ganaderos y los centros científicos, ya que su aplicación confirma o desestima la valoración realizada por palpación rectal, constituyendo un medio diagnóstico de certeza en la dinámica de las ondas foliculares, desarrollo del cuerpo lúteo, la determinación del estado de gestación precoz, sexado de las crías y la evaluación de los procesos patológicos del sistema reproductor, entre otros usos. (DIEZ, 1997).

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen sobre la base de la emisión de ultrasonidos y la recepción de ecos. Estos ecos se producen por la reflexión de los ultrasonidos a nivel de los distintos tejidos. Cuanto mayor sea la reflexión, mayor intensidad tendrán los ecos, pero menor cantidad de ultrasonidos serán capaces de seguir avanzando y mandar información. En el formato de imagen llamado modo B, estos ecos van a ser presentados como puntos de brillo, que serán tanto más brillantes cuanto mayor sea la reflexión, y serán en una posición proporcional al tiempo que han tardado en ser recibidos. (LUZBEL DE LA ZOTA, y otros, 2011)

La imagen ecográfica se corresponde con el conjunto de puntos de brillo, que representa un corte anatómico de la región examinada. Los órganos o tejidos serán hiper, hipo o anaecogénicos, según la cantidad de ultrasonidos que reflejen. Sin embargo, en la imagen aparecen puntos de brillo que no se corresponden con ecos producidos a nivel de estructuras reales del paciente, son los denominados artefactos, y es importante conocerlos y aprender a diferenciarlos de los ecos reales, para poder interpretar correctamente las imágenes (DIEZ,1997).

CAPITULO II

En el presente Capítulo se detalla el lugar donde se ejecutó la investigación, materiales métodos utilizados, condiciones geográficas y climáticas. Así como los materiales y metodología empleada, diseño estadístico y el método experimental aplicado.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Características del lugar

2.1.1 Situación política

Provincia: Pichincha

Cantón: Mejía

Parroquia: El Chaupi

2.1.2 Limites

Norte: Parroquia Aloasí, Aloág y Manuel Cornejo Astorga

Sur: Provincia de Cotopaxi

Este: Parroquia Aloasí

Oeste: Provincia de Cotopaxi

2.1.3 Situación geográfica

Longitud: 78° 31' 00" W

Latitud: 0° 11' 00" S

2.1.4 Altura:

- Media: 3163 msnm
- Máxima: 5126 msnm
- Mínima: 1200 msnm

Superficie: 138 km²

Población: 1322 habitantes

2.1.5 Condición climatológica

Temperatura: de 9 a 11° C

Humedad relativa: 77.60 %

2.1.6 Nubosidad:

Promedio: 5.4

Máximo: 6 (enero-mayo)

Mínimo: 4 (julio-agosto)

FUENTE: GAD PARROQUIA (EL CHAUPI), 2011

2.2 MATERIALES

2.2.1 RECURSOS HUMANOS

- Estudiante Postulante
- Director de la tesis
- Profesores miembros del tribunal

2.2.2 RECURSOS ANIMALES

- 5 vacas (grupo testigo o control)
- 15 vacas (factor estudio o tratamientos)

2.2.3 RECURSOS MATERIALES CAMPO

- 20 Tubos vacutainer tapa roja
- 20 agujas para tubos vacutainer
- 1 capuchón para vacutainer
- Alcohol 7 % antiséptico
- Overol
- Botas
- Marcador
- Guantes de manejo
- Algodón
- Termos de transporte de muestras
- Material seminal - pajuelas
- Kit de Inseminación artificial
- Dispositivos intravaginales (DIB) progesterona

- Aplicador de dispositivo
- Ecógrafo SIUI CTS- 900v transductor lineal

2.2.4 RECURSOS HORMONAS

- Conceptal (análogo sintético de hormonas liberadoras de GnRH- 0,0042 mg de acetato de buserelina/ml)
- Ciclase (Cloprostenol sódico 250 ug/ml análogo sintético de la PGF2alfa)
- Gonadiol (Benzoato de Estradiol 5mg/ml)

2.2.5 RECURSOS LABORATORIO

Laboratorio de Diagnostico Veterinario “VETELAB”

- Análisis del laboratorio

2.2.6 OTROS RECURSOS

- Hojas de papel, esferográfico, hojas de registros
- Transporte
- Cámara de fotos

2.3 DISEÑO METODOLÓGICO

2.3.1 Investigación experimental

Este tipo de diseño se caracteriza por ejercer un estricto control sobre el experimento por medio del establecimiento tanto de grupos de comparación a fin de manipular la variable independiente como la equivalencia de los grupos por medio de la asignación aleatoria de las unidades de análisis. (RAMIREZ, 2003)

En el presente diseño; incluimos la hormona sintética liberadora de GnRH, con la finalidad de incidir directamente sobre la variable dependiente (hembras bovinas), y generar el efecto sobre las ondas foliculares post fecundación, mediante la generación de un cuerpo lúteo accesorio y por lo tanto con la concentración de los niveles de progesterona en plasma.

2.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS A DESARROLLAR

CUADRO N° 3: METODOLOGÍA

METODOLOGIA				
TRATAMIENTOS	GRUPO CONTROL	T1	T2	T3
	Toma de Muestras	Aplicación GnRH Ecografía Toma de Muestras	Aplicación GnRH Ecografía Toma de Muestras	Aplicación GnRH Ecografía Toma de Muestras

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Se realizó la toma de muestras sanguíneas posteriormente a los días 11, 15,19 para determinar los niveles séricos de progesterona y a los 30 días se procederá al control ginecológico para verificar los índices de gestación.

2.4.1 Metodología Experimental

La investigación experimental se ha ideado con el propósito de determinar, con la mayor confiabilidad posible, relaciones de causa-efecto, para lo cual uno o más grupos, llamados experimentales, se exponen a los estímulos experimentales y los comportamientos resultantes se comparan con los comportamientos de ese u otros grupos, llamados de control, que no reciben el tratamiento o estímulo experimental. (AGUILAR, 2013). La investigación experimental está integrada por un conjunto de actividades metódicas y técnicas que se realizan para recabar la información y datos necesarios sobre el tema a investigar y el problema a resolver. (RODRIGUEZ, 2008)

En el experimento se estimuló en los animales el eje hipotálamo gonadal mediante la inclusión de acetato de buserelina post inseminación, con el objetivo de generar una descarga de FSH y LH, para incidir en una nueva ovulación y consecución de la formación de un cuerpo hemorrágico, células luteales y la producción de progesterona, con la finalidad de analizar los datos y determinar el mejor tratamiento.

2.4.2 Método deductivo

El método deductivo, es aquel que parte de los datos generales aceptados como valederos, para deducir por medio del razonamiento lógico, varias suposiciones, es decir; parte de verdades previamente establecidas como principios generales, para luego aplicarlo a casos individuales y comprobar así su validez. (HERNANDEZ, et al., 2004)

El método deductivo nos permitirá verificar si la aplicación de GnRH al cuarto, octavo y doceavo, es capaz de elevar la concentración de los niveles de progesterona, mediante la formación de cuerpos lúteos accesorios.

2.4.3 Método inductivo

El método inductivo se empleará cuando en la observación de los hechos particulares, obtenemos proposiciones generales, o sea, es aquel que establece un principio general una vez realizado el estudio y análisis de hechos y fenómenos en particular. (RAMIREZ, 2003)

Mediante este método nos permitirá establecer que de acuerdo a la concentración de progesterona sérica esta disminuye la mortalidad embrionaria y mejora los índices de gestación.

2.4.4 Método analítico

Es aquel que distingue las partes de un todo y procede a la revisión ordenada de cada uno de sus elementos por separado. (RODRIGUEZ, 2008)

Se recopiló la información de los controles y tratamientos, y se analizó el protocolo de sincronización para IATF, inseminaciones, aplicación en tiempos distintos acetato de busarelina, niveles de progesterona sérica, e índice de gestación.

2.4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

2.4.5.1 Diseño de Bloques Completos Al Azar

EL DBCA (Diseño de Bloques Completos Al Azar) consiste en formar bloques con las muestras que reciben diferentes tratamientos. Un bloque es un equipo de individuos similares a la cual se aplica un tratamiento. Una forma de reducir el efecto de los factores ajenos es diseñar el experimento que tenga un diseño completamente aleatorio DCA, en el que cada elemento que tenga la misma posibilidad de pertenecer a las diferentes categorías o tratamientos. Pero una forma más de controlar la variación ajena (máxima), es utilizar un diseño de bloque aleatorizado, en el que se obtiene una medición para cada tratamiento aplicado a cada uno de varios individuos (elementos) que tienen características similares. (MENDIBURU, 2012)

Es más eficiente que el DCA, por las condiciones heterogéneas que presentan los elementos. Es fácil planear, analizar e interpretar a través de las formulas y los software. Se puede calcular, con unas unidades experimentales perdidas, sin perder su estructura. (MENDIBURU, 2012)

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + T_j + E_{ij}$$

2.4.6 TRATAMIENTOS

Para determinar los tratamientos se formarán cuatro grupos sometidos al mismo protocolo de Manejo: Alimentación, nutrición y sanidad.

- Tratamiento 4 T4 5 animales - grupo control o testigos – sin tratamiento
- Tratamiento 1 T1 5 animales —+ conceptual día 4 post inseminación
- Tratamiento 2 T2 5 animales —+ conceptual día 8 post inseminación
- Tratamiento 3 T3 5 animales —+ conceptual día 12 post inseminación

CUADRO N° 4: DBCA (Diseño de Bloques Completos Al Azar).

TRATAMIENTO	Grupo Testigo T4	T1	T2	T3
NUMERO DE U.E	5	5	5	5

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

2.4.7 UNIDAD EXPERIMENTAL

Se seleccionaron 20 animales hembras de primer parto de la raza holstein friesian mestizas, 5 vacas que corresponde al primer tratamiento, 5 vacas que corresponde al segundo tratamiento, 5 vacas que corresponden al tercer tratamiento, 5 vacas que corresponden al grupo testigo o control.

2.4.8 MANEJO DEL ENSAYO

Esta investigación se realizó en la Provincia de Pichincha, Cantón Mejía, Parroquia El Chaupi, Barrio El Pucara, ganadería que se encuentra a una altura de 3300 msnm.

a) Identificación de los animales y clasificación de los mismos.

Los animales del experimento fueron identificados con piolas de diferentes colores sujetas al cuello. El grupo testigo o control fue identificado de color amarillo, el tratamiento 1 del día 4 fue identificado de color rojo, el tratamiento 2 del día 8 fue identificado de color azul y el tratamiento 3 del día 12 fue identificada de color verde.

b) Chequeo ginecológico pre sincronización.

El chequeo ginecológico se lo realizo con el uso de un ecógrafo de la marca SIUI CTS-900v sonda lineal, con el objetivo de verificar el estatus reproductivo y particularmente de los ovarios de cada una de las vacas, y observar si las hembras se encontraban ciclando, o si presentaban un anestro profundo o anestro superficial. Es así, que se determinó que los ovarios de las vacas se encontraban fisiológicamente normales es decir ciclando (presencia de folículos o cuerpos luteos y tejido ovárico normal).

c) Sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo (I.A.T.F.)

La sincronización IATF se la realizó a 20 animales, determinado por el mismo día de inicio y a la misma hora (07:00 am). A continuación se describe el protocolo empleado:

Día 0: Aplicación del dispositivo intravaginal + 2mg de benzoato de estradiol + 50 mg P4 vía intramuscular.

Día 8: Retiro del dispositivo intravaginal + una dosis de prostaglandina (500 ug de cloprostenol) vía intramuscular.

Día 9: Aplicación de 1mg de benzoato de estradiol vía intramuscular.

Día 10: Inseminación artificial a tiempo fijo a las 54 horas de retirado el DIV y después de 12 horas se realizó una segunda inseminación artificial.

a) Extracción de sangre al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación, para la valoración de Progesterona sérica (P4) pre- experimentación.

La toma de muestras de sangre pre -experimentación de los grupos del tratamiento T1,T2,T3 y T4 se realizó utilizando las normas de higiene y asepsia. Se recolecto de la vena caudal, que se encuentra en la mitad de las vértebras caudales realizando una punción, utilizando agujas vacutainer montadas en el capuchón, luego se introdujo en el capuchón el tubo vacutainer (tapa roja al vacío sin anti-coagulante), se recolectó 3 ml de sangre entera, para seguidamente ser transportado y enviado al laboratorio a temperatura de refrigeración en cajas isotérmicas. La cantidad de sangre recolectada de cada animal fue procesada en el laboratorio VETELAB y corrida para el respectivo análisis de concentración sérica de Progesterona (P4).

b) Transporte y envió al laboratorio.

Una vez extraídas las muestras sanguíneas se las envió al laboratorio en un tiempo máximo de dos horas para evitar hemolización de las mismas, fueron debidamente identificadas con el distintivo del cada uno de los animales, además de la fecha y descrito al tratamiento que corresponden.

c) Monitoreo y control mediante ultrasonografía al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación.

Se realizó la valoración estatus ovárico de cada animal en los 4to. 8vo. Y 12vo.post inseminación, para determinar el tamaño del ovario (folículos y cuerpos lúteos), antes de la inoculación de GnRh.

d) Aplicación de GnRH (2500 U.I) al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación.

La hormona GnRh se administró a una dosis total de 2,5 ml que corresponde a 2500 unidades internacionales (U.I.) vía intramuscular profunda a los animales que corresponden al tratamiento 1(4to. día), tratamiento 2 (8vo. día), y tratamiento 3(12vo. día).

e) Toma de muestras sanguíneas Post – Experimentación para la valoración de Progesterona sérica (P4).

La toma de muestras de post- experimentación de los grupos del tratamiento T1,T2,T3 y T4 se realizó utilizando las normas de higiene y asepsia. Se recolectó de la vena caudal, que se encuentra en la mitad de las vértebras caudales realizando una punción, utilizando agujas vacutainer montadas en el capuchón, luego se introdujo en el capuchón el tubo vacutainer (tapa roja al vacío sin anti-coagulante), se recolectó 3 ml de sangre entera, para seguidamente ser transportado y enviado al laboratorio a temperatura de refrigeración en cajas isotérmicas. La cantidad de sangre recolectada de cada animal fue procesada en el laboratorio VETELAB y corrida para el respectivo análisis de concentración sérica de Progesterona (P4).

Tratamiento 1: La toma de muestra de este grupo se realizó al 11vo. Día después de la aplicación de la GnRh realizada al 4to. Día post I.A.

Tratamiento 2: La toma de muestra de este grupo se realizó al 15vo. Día después de la aplicación de la GnRh realizada al 8vo. Día post I.A.

Tratamiento 3: La toma de muestra de este grupo se realizó al 19vo. Día después de la aplicación de la GnRh realizada al 12vo. Día post I.A.

f) Control ginecológico a los 30 días post- inseminación artificial.

Posterior a los 30 días de inseminadas las hembras bovinas, y aplicadas la hormona GnRH en los tiempos estimados por el diseño del experimento, se realizó la valoración del diagnóstico de gestación mediante la utilización de ultrasonografía transrectal (sonda lineal), validando el porcentaje de animales gestantes.

CAPITULO III

En el presente capítulo se presentan los datos obtenidos y los resultados de la investigación respecto al análisis realizado, así como las conclusiones y recomendaciones.

3.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

CUADRO N° 5.- Concentración de Progesterona (T4) pre y post tratamiento con GnRH.

CÓDIGO	IDENTIFICACIÓN/ arete	GRUPO TESTIGO		Diagnóstico de gestación a los 30 días
		Concentración de progesterona P4 (ng/ml)		Preñada/vacía/muerte embrionaria(m.e)
		Día 4	Día 11	Ecografía
1	PIÑA	0.56	8.32	vacía/m.e.
2	PAULA	4.86	17.08	preñada
3	PAYASA	1.13	5.1	vacía
4	GRINGA	11.8	25.84	preñada
5	AGUJETA	1.34	6.01	vacía
	SUMA	19.69	62.35	Preñadas=40%
	PROMEDIO	3.938	12.47	Vacias =60%

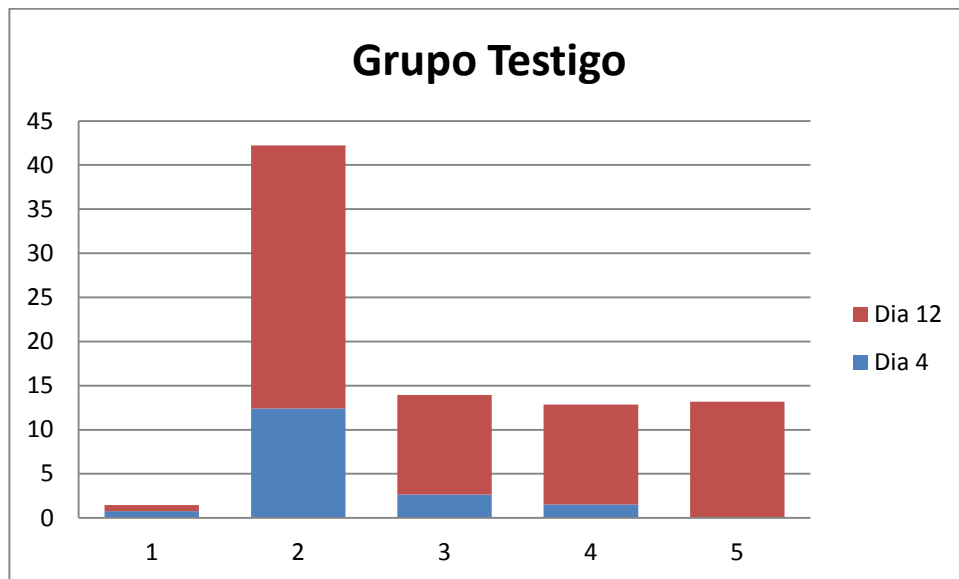
Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Respecto al Cuadro N° 5, correspondiente al grupo control o testigo, este presenta los niveles de concentración de progesterona P4 sérica al día 4 y al día 12 post inseminación. Se observa que existe aumento de los niveles de P4 sérica al día 11 comparado con el día 4, posiblemente por el aumento de tejido luteal. Sin embargo, se evidencia que en las hembras de arete (Piña, Payasa y Agujeta) diagnosticadas

como vacías, los niveles de concentración de P4 sérica al día 11 presentan un rango de 5,1 a 8,32 ng/ml, no siendo superior a los 10,00 ng/ml respecto a las hembras diagnosticadas como preñadas que muestran niveles superiores de P4 sérica; se podría considerar que en las hembras que se presentan como no gestantes, y que tienen niveles de progesterona $< 0 =$ a 5,9 ng/ml no se produjo la fecundación, y correspondería la concentración de P4 al cuerpo lúteo de la fase de diestro y no a un cuerpo lúteo de gestación. Así, aquellas hembras que superan este valor podrían haber sufrido de muerte embrionaria temprana o no reconocimiento de la gestación, en consecuencia los niveles de P4 no siguieron la curva de aumento o de mantención de P4. Por lo tanto, se considera que en las hembras que presentaron niveles de P4 inferior a 5,9ng/ml, se determina que no hubo fecundación, y que corresponde la concentración de P4 sérica a un cuerpo lúteo del ciclo estral en etapa del diestro. Así, respecto a las hembras diagnosticadas como preñadas, estas muestran niveles séricos de P4 superiores a los 10,0 ng/ml, que correspondería a la secreción de P4 de un cuerpo lúteo de gestación, o cuerpos lúteos accesorios creados por la aplicación de GnRh. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). Smith et al. (1973) comprobaron que el nivel de P4 sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

GRÁFICO N° 1.- Niveles de Progesterona (T4) pre y post tratamiento con GnRH.



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N°1, se esquematiza los niveles de concentración de progesterona P4 sérica (ng/ml) al día 4 y día 11 post inseminación.

TABLA N° 3. ADEVA para niveles de Progesterona del grupo testigo (T4) ng/ml

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPOS	181,99	1	181,99	3,62	0,0935
ERROR	401,99	8	50,25		
TOTAL	583.97	9		CV 86,40	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 4 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor

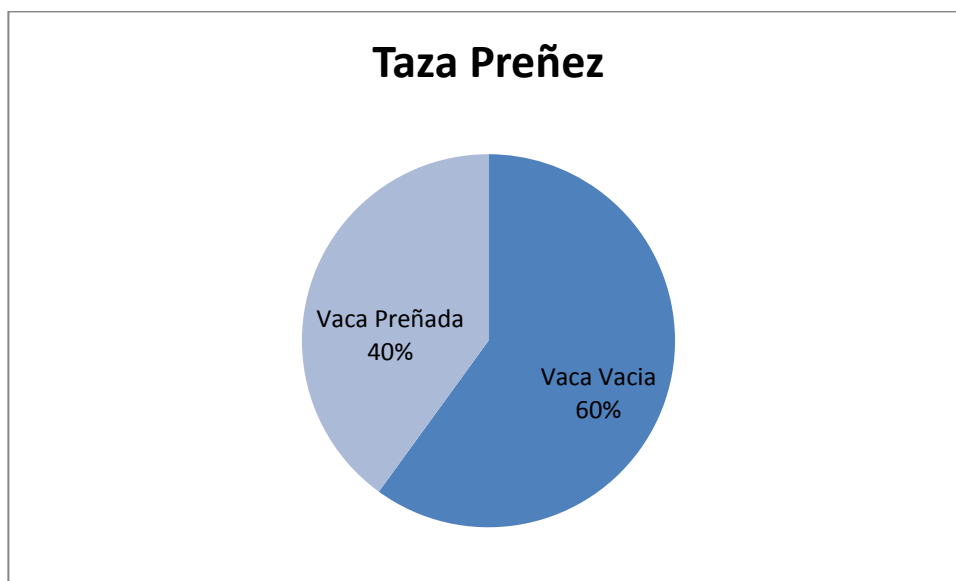
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Pre- P4	5	19,69	3,93	22,17
Post – P4	5	62,35	12,47	78,32

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N° 3, se observa que en el T4 no existe diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona. Sin embargo, en el Cuadro N°5 se evidencia diferencias numéricas en los rangos de concentración de P4 del día 4 con respecto el día 11.

GRÁFICO N° 2.- Porcentaje de gestación



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N°2, se observa el porcentaje de preñes que presentó el grupo control o testigo (T4), refiriendo al 40% de vacas que resultaron gestantes y al 60 % de las vacas que no gestaron.

CUADRO N° 6.- Concentración de Progesterona (T1) pre y post tratamiento con GnRH.

CÓDIGO	IDENTIFICACIÓN/ arete	TRATAMIENTO 1		Diagnóstico de gestación a los 30 días
		Concentración de progesterona P4 (ng/ml)		Preñada/vacía/muerte embrionaria(m.e.)
		Día 4	Día 11	Ecografía
1	SARA	0.78	0.69	vacía
2	FERNANDA	12.42	29.82	vacía/m.e.
3	LOCA	2.65	11.27	preñada
4	SANDRA	1.55	11.31	vacía/m.e.
5	TUNA	0.63	13.16	preñada
	SUMA	17.4	66.25	Preñadas=40%
	PROMEDIO	4.35	13.25	Vacias =60%

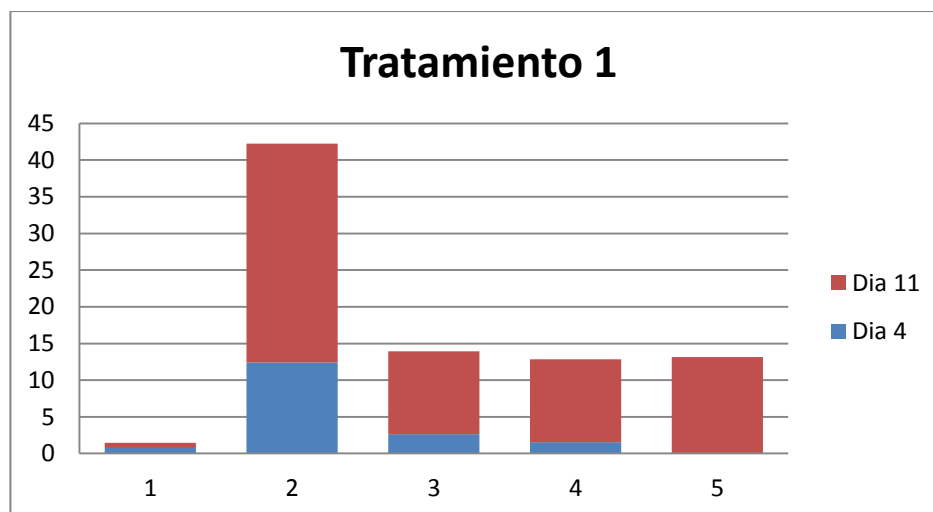
Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Respecto al Cuadro N° 6, correspondiente al tratamiento 1, este presenta los niveles de concentración de progesterona P4 sérica al día 4 post inseminación, y al día 11 post aplicación de GnRH. Se observa que existe aumento de los niveles de P4 sérica al día 11 comparado con el día 4, posiblemente por el aumento de tejido luteal como consecuencia del estatus gestacional. Sin embargo, se evidencia que dos hembras de arete (Fernanda y Sandra) diagnosticadas como vacías, al día 11 presentan un rango superior a 5,9ng/ml, lo que sugiere que hubo fecundación pero no prosiguió, posiblemente por muerte embrionaria temprana o no reconocimiento de la gestación; por lo tanto los niveles de P4 no siguieron la curva de aumento o de mantención. Además, una hembra de arete (Sara) presentó un nivel de P4 sérica de 0,69ng/ml inferior a 5,9 ng/ml lo cual evidencia que no hubo fecundación y que corresponde la concentración a un cuerpo lúteo del ciclo estral en etapa del diestro. Respecto a las

hembras de arete (Loca y Tuna) diagnosticadas como preñadas, estas muestran niveles séricos de P4 superiores a los 10,0 ng/ml, que correspondería a un cuerpo lúteo de gestación, o cuerpos lúteos accesorios. Por lo tanto, se considera que en las hembras que presentaron niveles de P4 inferior a 5,9ng/ml, se determina que no hubo fecundación, y que corresponde la concentración de P4 sérica a un cuerpo lúteo del ciclo estral en etapa del diestro. Así, respecto a las hembras diagnosticadas como preñadas, estas muestran niveles séricos de P4 superiores a los 10,0 ng/ml, que correspondería a la secreción de P4 de un cuerpo lúteo de gestación, o cuerpos lúteos accesorios creados por la aplicación de GnRh. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

GRÁFICO N° 3.- Niveles de progesterona



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 3, se esquematizan los niveles de concentración de progesterona P4 sérica (ng/ml) al día 4 post inseminación y al día 11 post tratamiento con GnRH.

TABLA N° 5. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 1 ng/ml

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPO	232,52	1	232,52	3,45	0,100
ERROR	539,68	8	67,46		
TOTAL	772,20	9		CV 97,45	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 6 RESUMEN – Análisis de varianza de un factor

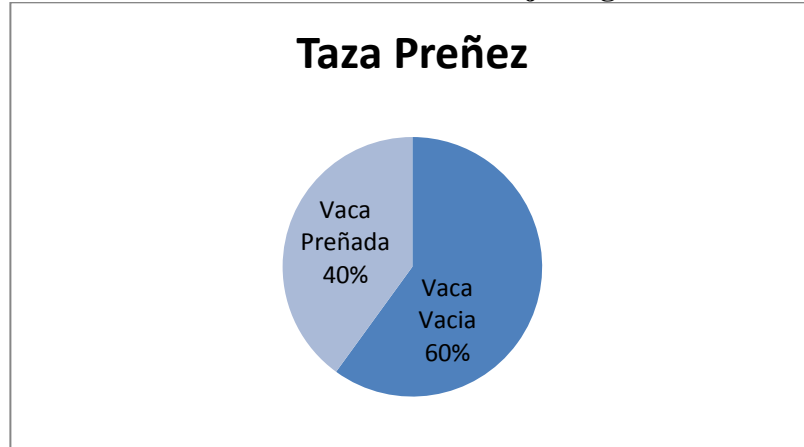
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Pre- P4	5	18,03	3,606	24,91763
Post – P4	5	66,25	13,25	110,00265

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N°5, se observa que en el T1 no existe diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona. Sin embargo, en el Cuadro N°6 se evidencia diferencias numéricas en los rangos de concentración de P4 del día 4 con respecto el día 11.

GRÁFICO N° 4.- Porcentaje de gestación



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 4, se observa el porcentaje de preñes que presentó el grupo de tratamiento (T1), refiriendo al 40% de vacas que resultaron gestantes y al 60 % de las vacas que no gestaron.

CUADRO N° 7.- Concentración de Progesterona (T2) pre y post tratamiento con GnRH.

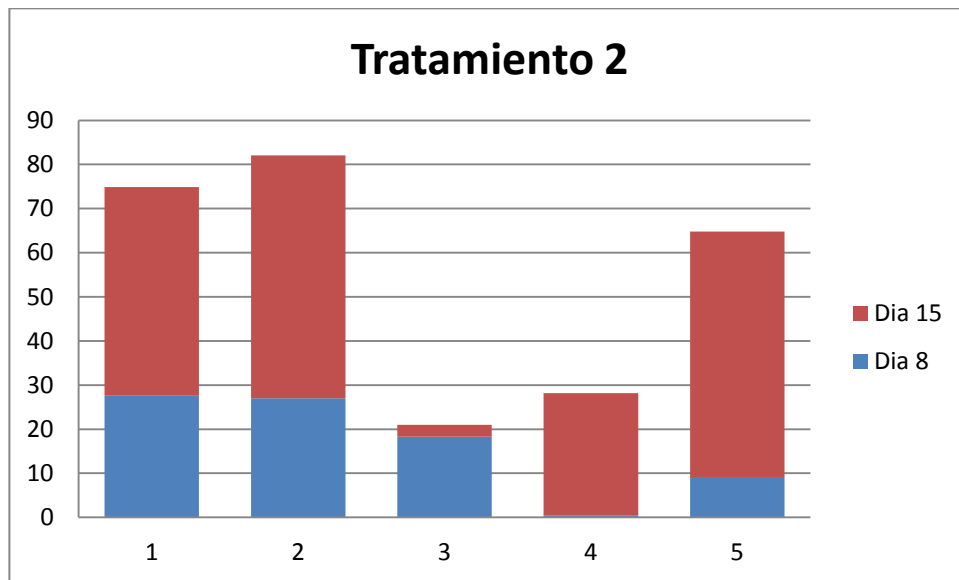
CÓDIGO	IDENTIFICACIÓN/ arete	TRATAMIENTO 2		Diagnóstico de gestación a los 30 días
		Concentración de progesterona P4 (ng/ml)		Preñada/vacía/muerte embrionaria(m.e.)
		Día 8	Día 15	Ecografía
1	273	27,58	47.33	preñada
2	248	27.03	55.03	preñada
3	85	18.31	2.66	vacía/m.e.
4	352	0.41	27.73	vacía/m.e.
5	338	9.18	55.6	preñada
	SUMA	82.51	188.35	Preñadas=60%
	PROMEDIO	16.502	37.67	Vacias =40%

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Respecto al Cuadro N°7, correspondiente al tratamiento 2, este presenta los niveles de concentración de progesterona P4 sérica al día 8 post inseminación, y al día 15 post aplicación de GnRH. Se observa que en tres animales existe un aumento considerable de los niveles de P4 sérica, en las hembras de arete (273,248,338) al día 15 comparado con el día 4, posiblemente por el aumento de tejido luteal por la formación de cuerpos lúteos accesorios como consecuencia del estatus gestacional. Sin embargo, se evidencia que de las dos hembras de arete (85 y 352) diagnosticadas como vacías, al día 15 una presenta un rango inferior a 5,9 ng/ml, que sugiere que no hubo fecundación y la concentración de P4 (2,66 ng/ml) corresponde a un cuerpo lúteo del ciclo en fase de diestro; y en la otra hembra que presenta una concentración de P4 sérica de 27,73ng/ml hubo fecundación, y posiblemente por muerte embrionaria temprana o no reconocimiento de la gestación los niveles de P4 no siguieron la curva de aumento o de mantención. Por lo tanto, se considera que en las hembras que presentaron niveles de P4 inferior a 5,9ng/ml, se determina que no hubo fecundación, y que corresponde la concentración de P4 sérica a un cuerpo lúteo del ciclo estral en etapa del diestro. Así, respecto a las hembras diagnosticadas como preñadas, estas muestran niveles séricos de P4 superiores a los 10,0 ng/ml, que correspondería a la secreción de P4 de un cuerpo lúteo de gestación, o cuerpos lúteos accesorios creados por la aplicación de GnRH. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

GRÁFICO N° 5.- Niveles de progesterona



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 5, se esquematizan los niveles de concentración de progesterona P4 sérica (ng/ml) al día 8 post inseminación y al día 15 post tratamiento con GnRH.

TABLA N° 7. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 2 ng/ml

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPO	1120,21	1	1120,21	3,46	0,099
ERROR	2590,07	8	323,76		
Total	3710.28	9		CV66,43	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 8 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor

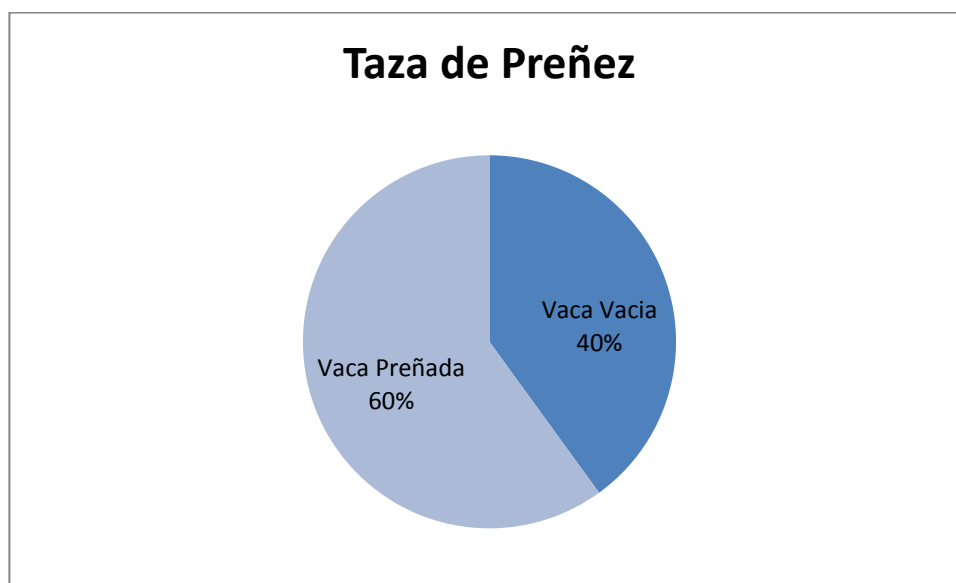
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Pre- P4	5	82,51	16,502	137,34847
Post – P4	5	188,35	37,67	510,16845

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N° 7, se observa que en el T2 no existe diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona. Sin embargo, en el Cuadro N°7 se evidencia diferencias numéricas en los rangos de concentración de P4 del día 8 con respecto el día 15.

GRÁFICO N° 6.- Porcentaje de gestación



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 6, se observa el porcentaje de preñes que presentó el grupo de tratamiento (T1) refiriendo al 60% de vacas que resultaron gestantes y al 40 % de las vacas que no gestaron.

CUADRO N° 8.- Concentración de Progesterona (T3) pre y post tratamiento con GnRH.

CÓDIGO	IDENTIFICACIÓN/ arete	TRATAMIENTO 3		Diagnóstico de gestación a los 30 días
		Concentración de progesterona P4 (ng/ml)		Preñadas/vacias/muert e embrionaria(m.e.)
		Día 12	Día 19	Ecografía
1	NOCHE BUENA	21.26	34.62	preñada
2	268	51.66	12.88	vacía/m.e.
3	345	61.84	38.62	preñada
4	MOROCHA	59.64	0.11	vacía
5	HUESOS	20.22	2.49	vacía
	SUMA	214.62	88.72	Preñadas=40%
	PROMEDIO	42.924	17.744	Vacias =60%

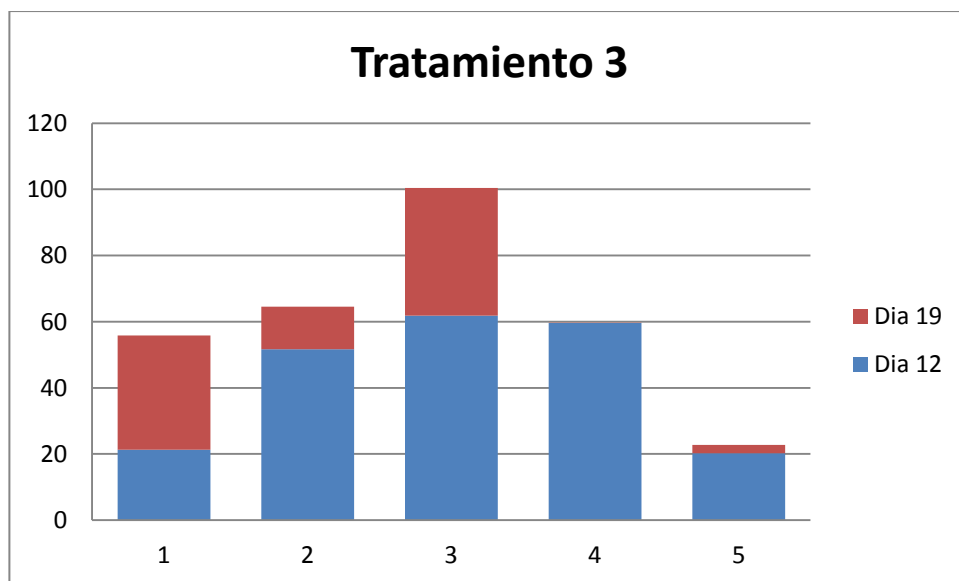
Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Respecto al Cuadro N° 8, correspondiente al tratamiento 3, este presenta los niveles de concentración de progesterona P4 sérica al día 12 post inseminación, y al día 19 post aplicación de GnRH. Se observa que en dos animales existe un aumento considerable de los niveles de P4 sérica, en las hembras de arete (noche buena y 345) al día 15 comparado con el día 4, posiblemente por el aumento de tejido luteal por la formación de cuerpos lúteos accesorios como consecuencia del estatus gestacional. Sin embargo, se evidencia que de las tres hembras de arete (268, morocha y huesos) diagnosticadas como vacías, al día 19 dos presentan un rango inferior a 5,9 ng/ml, lo que sugiere que no hubo fecundación y que la concentración de P4 (2,66 ng/ml) corresponde a un cuerpo lúteo del ciclo en fase de diestro; y en la otra hembra que presenta una concentración de P4 sérica de 12,88 ng/ml hubo fecundación, y posiblemente por muerte embrionaria temprana o no reconocimiento de la gestación los niveles de P4 no siguieron la curva de aumento o de mantención. Por lo tanto, se considera que en las hembras que presentaron niveles de P4 inferior a 5,9ng/ml, se determina que no hubo fecundación y que corresponde la concentración de P4 sérica

a un cuerpo lúteo del ciclo estral en etapa del diestro. Así, respecto a las hembras diagnosticadas como preñadas, estas muestran niveles séricos de P4 superiores a los 10,0 ng/ml, que correspondería a la secreción de P4 de un cuerpo lúteo de gestación, o cuerpos lúteos accesorios creados por la aplicación de GnRh. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (Bearden y Fuquay 1980). Smith et al. (1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

GRÁFICO N° 7.- Niveles de progesterona



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 5, se esquematizan los niveles de concentración de progesterona P4 sérica (ng/ml) al día 12 post inseminación y al día 19 post tratamiento con GnRH.

TABLA N° 9. ADEVA para niveles de Progesterona del tratamiento 3 ng/ml

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPO	1585,08	1	1585,08	4,25	0,073
ERROR	2986,27	8	373,28		
TOTAL	4571.35	9		VC 63,69	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 10 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor

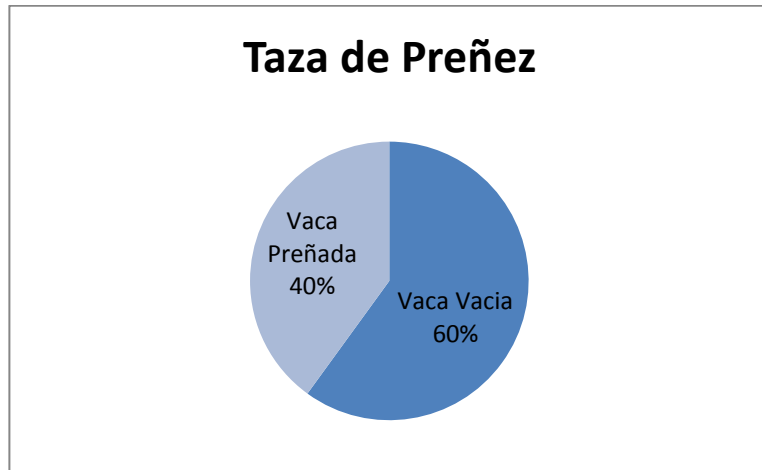
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Pre- P4	5	214,62	42,924	424,58948
Post – P4	5	88,72	17,744	321,97693

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N° 9, se observa que en el T3 no existe diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona. Sin embargo, en el Cuadro N°8 se evidencia diferencias numéricas en los rangos de concentración de P4 del día 12 con respecto el día 19.

GRÁFICO N° 8.- Porcentaje de gestación



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Gráfico N° 8, se observa el porcentaje de preñes que presentó el grupo de tratamiento (T1) refiriendo al 40% de vacas que resultaron gestantes y al 60 % de las vacas que no gestaron.

**CUADRO N° 9.- Concentración de Progesterona de los grupos T1, T2, T3, T4
pre tratamiento con GnRH.**

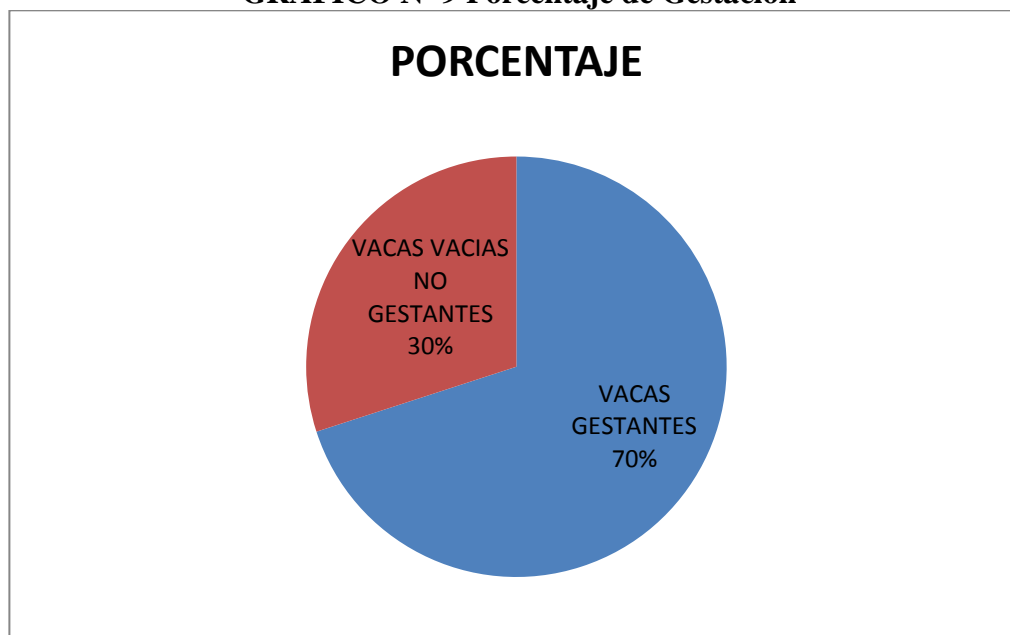
CÓDIGO	IDENTIFICACIÓN N/ arete	TRATAMIENTOS		Diagnóstico de gestación a los 30 días
		Concentración de progesterona P4 (ng/ml)		
		P4 – pre tratamiento sin GnRH	P4- post tratamiento con GnRH	Preñada/vacía/muert e embrionaria(m.e.)
1	Sara	0,78	0,69	vacía
1	Fernanda	12,42	29,82	vacía/m.e.
1	Loca	2,65	11,27	preñada
1	Sandra	1,55	11,31	vacía/m.e.
1	Tuna	0,63	13,16	preñada
2	273	27,58	47,33	preñada
2	248	27,03	55,03	preñada
2	85	18,31	2,66	Vacía/m.e.
2	352	0,41	27,73	vacía/m.e.
2	338	9,18	55,6	preñada
3	Noche Buena	21,26	34,62	preñada
3	268	51,66	12,88	vacía/m.e.
3	345	61,84	38,62	preñada
3	Morocho	59,64	0,11	Vacía/m.e
3	Huesos	20,22	2,49	Vacía/m.e
4	Piña	0,56	8,32	vacía/m.e.
4	Paula	4,86	17,08	preñada
4	Payasa	1,13	5,1	vacía
4	Gringa	11,8	25,84	preñada
4	Agujeta	1,34	6,01	vacía
	TOTAL	334,85	405,67	Vacas preñadas efectivas 45% Vacas preñadas considerando las muertes embrionarias 70%
	PROMEDIO	16,74	20,28	Vacas vacías 55% Vacas considerando las muertes embrionarias 30%

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Respecto al Cuadro N° 9, correspondiente a los grupos del tratamiento (T1,T2,T3 y T4, este presenta un cuadro resumen de los niveles de concentración de progesterona P4 sérica al día 4, 8 y 12 post inseminación, y al día 11, 15 y 19 post aplicación de GnRH. Además, se determina el promedio total de los niveles de concentración de P4 antes de los tratamientos (16,74 ng/ml) y después de los tratamientos (20,28 ng/ml); así como el porcentaje de hembras gestantes efectivas que corresponde al 45% y no gestantes que corresponde al 55%. Sin embargo, considerando los animales que tuvieron pérdida de la gestación, atribuida a muertes embrionarias respecto al análisis de los niveles de P4 gestacional versus P4 del ciclo estral de la fase de diestro; se estima que el porcentaje total de gestación es del 70% respecto a las vacías o no gestantes que correspondería al 30%. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre. Durante la fase luteal temprana, el CL aumenta de tamaño y peso para alcanzar un máximo en el día 7, mientras los niveles de P4 continúan elevándose hasta obtener un valor máximo al 10° día (McDonald y col., 1991). La producción de P4 por el CL se puede apreciar determinando los niveles plasmáticos que sería indicativo del nivel hormonal al que está sujeto el individuo. En un muestreo realizado en vacas, se reporta un nivel promedio de P4en plasma de 6,6 ngr/ml en la fase luteal del ciclo (McDonal y col., 1991)

GRAFICO N° 9 Porcentaje de Gestación



Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 11. ADEVA para niveles de Progesterona pre tratamiento (T1, T2, T3, T4) ng/ml – comparación entre grupos.

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPO	5110,26	3	1703,42	11,19	0,0003 **
ERROR	2436,13	16	152,26		
TOTAL	7546,39	19		VC 73,70	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

TABLA N° 12 RESUMEN - Análisis de varianza de un factor

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
T1	5	18,03	3,606	24,91763
T2	5	82,51	16,502	137,34847
T3	5	214,62	42,924	424,58948
T4	5	19,69	3,938	22,17662

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N° 11, se observa que entre los grupos de tratamientos (T1, T2, T3 y T4) existe diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento.

TABLA N° 13. Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 152,2581 gl: 16

Grupos	Medias	N	E.E:	
1,00	3,61	5	5,52	A
4,00	3,94	5	5,52	A
2,00	16,50	5	5,52	A
3,00	42,92	5	5,52	B

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N° 13 en el test de Duncan observamos que la comparación entre Medias determina que los grupos con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Así, valores en la misma columna con letra distinta, difieren estadísticamente entre sí. ($P \leq 0,05$). Se establece que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los

tratamientos está generando diferencias, existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1 A, T2 A y T4 A respecto al grupo T3 B. Por lo tanto, se considera, que a medida que pasan los días post inseminación, en los animales que se produjo la fecundación y la gestación prosigue, el cuerpo lúteo pasa de ser de fase luteal estral a gestacional; en consecuencia los niveles de progesterona aumentan y se mantienen como se observa en el Cuadro N°9 en los diferentes tratamientos. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

Tabla N° 14. Prueba para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona (día 4 y 11)

Tratamiento 4 sin GnRH		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3,938	12,47
Varianza	22,17662	78,32
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,96496092	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-4,25902411	
P(T<=t) una cola	0,00653188	
Valor crítico de t (una cola)	2,13184679	
P(T<=t) dos colas	0,01306375 *	
Valor crítico de t (dos colas)	2,77644511	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Los resultados presentados en la Tabla N°14, confirman que existe diferencias estadísticas significativas, evidenciando estas diferencias en el grupo T4 del experimento. Por lo tanto, se considera que al no aplicar GnRH esta no podría influir en la concentración sérica de P4. Sin embargo, las diferencias de concentración que establecen significancia, estarían determinadas por la continuación de la gestación y la capacidad de secreción de P4 por parte del cuerpo lúteo inicialmente correspondiente al ciclo estral, que se continuaría con el cuerpo lúteo gestacional que estaría directamente relacionado con su calidad. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

TABLA N° 15. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 4 y 11).

Tratamiento 1 GnRH		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	3,606	13,25
Varianza	24,91763	110,00265
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	0,896252952	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-3,364782215	
P(T<=t) una cola	0,014089807	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846786	
P(T<=t) dos colas	0,028179614	*
Valor crítico de t (dos colas)	2,776445105	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Los resultados presentados en la Tabla N°15, confirman que existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias en el grupo T1 del experimento. Por lo tanto, se considera que la aplicación de GnRH podría influir en la formación de cuerpos lúteos accesorios y en la concentración sérica de P4. Sin embargo, las diferencias de concentración que determinan significancia, estarían determinadas también por la continuación de la gestación, y la capacidad de secreción de P4 por parte del cuerpo lúteo que estaría directamente relacionado con su calidad. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980).(SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

TABLA N° 16. Prueba para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 8 y 15).

Tratamiento 2 GnRH		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	16,502	37,67
Varianza	137,34847	510,16845
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,240974521	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,075811599	
P(T<=t) una cola	0,053263369	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846786	
P(T<=t) dos colas	0,106526738	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776445105	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Los resultados presentados en la Tabla N°16, confirman que no existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis alternativa y se determina que no existen diferencias en el grupo T2 del experimento. Por lo tanto, se considera que la aplicación de GnRH estadísticamente no establece diferencias en la concentración de P4. Sin embargo, se evidencia en el cuadro N° 9 que existe diferencias numéricas significativas de los niveles de P4 sérica, que serían influenciadas por la formación de cuerpos lúteos accesorios, secreción de P4 y continuación de la gestación. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

TABLA N° 17. Prueba t para medias de dos muestras emparejadas. Niveles de progesterona pre y post tratamiento (día 12 y 19).

Tratamiento 3 GnRH		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	42,924	17,744
Varianza	424,58948	321,97693
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	0,025932866	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,087647642	
P(T<=t) una cola	0,052554917	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846786	
P(T<=t) dos colas	0,105109834	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776445105	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

Los resultados presentados en la Tabla N°17, confirman que no existe diferencias estadísticas significativas, por lo tanto se rechaza la hipótesis alternativa y se determina que no existen diferencias en el grupo T2 del experimento. Por lo tanto, se considera que la aplicación de GnRH estadísticamente no establece diferencias en la concentración de P4. Sin embargo, se evidencia en el cuadro N° 9 que existe diferencias numéricas significativas de los niveles de P4 sérica, que serían influenciadas por la formación de cuerpos lúteos accesorios, secreción de P4 y continuación de la gestación. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

TABLA N° 18. ADEVA para niveles de Progesterona post tratamiento (T1, T2, T3, T4) ng/ml – comparación entre grupos.

F.V	SC	GL	CM	F	P-VALOR
GRUPO	2096,30	3	698,77	2,74	0,077
ERROR	4081,87	16	255,12		
TOTAL	6178,17	19		VC 78,75	

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N°18, se observa que entre los grupos correspondientes a tratamientos (T1, T2, T3 y T4) no existe diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) respecto a los niveles de concentraciones de progesterona, por lo tanto se rechaza la hipótesis alternativa y se determina que no existen diferencias entre los grupos del experimento. Sin embargo se evidencia diferencias numéricas entre los grupos del

tratamiento. Posiblemente, las diferencias en la concentración de P4 sérica estén generadas por la edad, cantidad y calidad de cuerpos lúteos accesorios formados, cuerpos lúteos de gestación o cuerpos lúteos estrales. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BEARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

TABLA N° 19. Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 152,2581 gl: 16

Grupos	Medias	N	E.E:	
4,00	12,47	5	7,14	A
1,00	13,25	5	7,14	A
3,00	17,74	5	7,14	A B
2,00	37,67	5	7,14	B

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En la Tabla N°19, en el test de Duncan observamos que la comparación entre Medias establece que los grupos con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Así, valores en la misma columna con letra distinta, difieren estadísticamente entre sí. ($p \leq 0,05$). Se determina, que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias; existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1 A, T4 A y T3 AB respecto al grupo T2 B. Por lo tanto, se considera, que a medida que pasan los días post inseminación, en los animales que se produjo la fecundación la gestación prosigue, y

el cuerpo lúteo pasa de ser de fase luteal estral a gestacional; en consecuencia los niveles de progesterona aumentan y se mantiene como se observa en el Cuadro N°9 en los diferentes tratamientos. Sin embargo, las diferencias entre los grupos T1, T3 y T4 respecto al T2 determinan que este grupo ha alcanzado el promedio de concentración de P4 sérica más alto respecto a los otros grupos. Considerándose que la aplicación de GnRH al 8vo día post inseminación es más eficiente que a la aplicación al día 4to o 12vo día respecto a la formación de cuerpos lúteos accesorios y niveles de P4. Así, el diestro se caracteriza como el periodo donde el cuerpo lúteo es funcional, comienza desde el día 5 aumentando su concentración de progesterona (P4) en la sangre y termina con la regresión del cuerpo lúteo al día 16 (BARDEN y FUQUAY, 1980). (SMITH et al., 1973) comprobaron que el nivel de P4 sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

CUADRO N° 10 Costos de las hormonas (USD)

CANTIDAD	DETALLE	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
2	Fundas DIB	86.99	173.97
1	Ciclose 50 ml	49.8	49.8
2	Frascos de Benzoato de Estradiol	14.17	28.33
4	Frascos de conceptual	24	96
		174.96	348.1

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

CUADRO N° 11 Costos por tratamientos (USD)

CANTIDAD	DETALLE	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
2	Fundas DIB	86.99	173.97
1	Cicloso 50 ml	49.80	49.80
6	Jeringuillas 3ml	0.25	1.50
1	Amonio Cuaternario		3.00
2	Frascos de Benzoato de Estradiol	14.17	28.33
4	Frascos de conceptol	24.00	96.00
45	Tubos Vacutainer	0.20	9.00
45	Agujas Vacutainer	0.17	7.65
45	Progesteronas	11.00	495.00
40	Pajuelas	6.00	240.00
	Mano de obra		200.00
		192.57	1304.25

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Cuadro N° 11, se determinan y detallan los materiales e insumos con sus respectivos valores, estableciendo el valor unitario y total del experimento.

CUADRO N° 12 Costos por tratamiento / vaca preñada (USD)

CANTIDAD/ semovientes	DETALLE	VALOR TOTAL (\$)
20	Vacas tratadas con (GnRH)	1304.25
20	Vacas tratadas sin (GnRH)	1208.25
15	Coste individual del protocolo de IATF – y la aplicación de (GnRH) en los T1,T2,T3	86.95
5	Coste individual del protocolo de IATF – sin la aplicación de (GnRH) en en el T4	80.55

Fuente: Directa

Elaborado por: COLLAGUAZO; Mauricio (2015)

En el Cuadro N° 12, se determinan y detallan los materiales e insumos con sus respectivos valores, estableciendo el valor unitario y total en los diferentes grupos del experimento, grupo control T4 y tratamientos T1, T2 y T3.

DISCUSION DE RESULTADOS

Al comparar la progesterona (P4) para cada tratamiento, se considera que esta constituye un factor determinante para la manutención de la gestación, así después de producida la fecundación, esta hormona inhibe la actividad contráctil del útero y estimula el desarrollo de sus glándulas, concordando con lo que estima Hincapié et al. (2005). Así, en el estudio realizado en las hembras bovinas (T1, T2, T3 y T4) mediante el cual se aplicó el análogo sintético de GnRH al 4to, 8vo y 12vo día post inseminación, este determinó que no existen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) al comparar los niveles de progesterona pre y post tratamiento (GnRH) de cada uno de los grupos respectivamente. Sin embargo, se evidencio una diferencia numérica significativa de los niveles de concentración de progesterona sérica antes de la aplicación de GnRH respecto a su aplicación. Considerando que el aumento de la P4 sérica estaría influenciada por la edad, cantidad y calidad de cuerpos lúteos accesorios formados, cuerpos lúteos de gestación o cuerpos lúteos estrales y col., (1994). El análisis de los niveles de P4 sérica en el grupo testigo (T4) determina que podría existir diferencias en el tiempo de formación del cuerpo hemorrágico, y por ende del cuerpo lúteo; esto podría determinar la cantidad de células luteales presentes para la secreción de P4 y los diferentes niveles de concentración. . Kestalic y col. en 1990, demostraron en novillas que el área de tejido luteal, determinado por ultrasonografía, está correlacionado positivamente con las concentraciones de P4 circulante. Así, se ha reportado que el CL originado en un ciclo corto, es pequeño ($10 \pm 2,0$ mm) y con niveles de P4 de $2,75 \pm 0,55$ ng/ml mientras que los CL de ciclos normales subsecuentes presentan valores de P4 de $10,15 \pm 0,58$ ng/ml. Esto demuestra que los CL de ciclos cortos son funcionalmente similares a los de ciclo de duración normal, pero ellos producen menos P4 debido a su pequeño tamaño (Evans

Así mismo, al analizar los niveles de P4 sérica en los grupos de tratamientos (T1, T2, T3) se establecieron que podrían existir diferencias en el tiempo de formación del

cuerpo hemorrágico, y por ende del cuerpo lúteo; este factor estaría determinando la cantidad de células luteales presentes de manera cronológica, y que de acuerdo a la edad del C.L. las concentraciones de P4 sérica van en aumento y marcan diferencias en sus niveles. Se determinaron así los promedios de P4 sérica observando que el T1 presentaba 4,35 ng/ml a los 4 días post inseminación, el T2 16,50ng/ml a los 8 días post inseminación y el T3 42,92 ng/ml a los 12 días post inseminación. (SMITH et al. , 1973) comprobaron que el nivel de P4 sanguínea de la vaca gestante se mantiene más o menos constante en un nivel de 10 ng/mL en el transcurso de la preñez. Alrededor de 15 a 30 días antes del parto empieza su disminución y alcanza en el momento del parto solo 0.5 ng/mL-1 ng/mL de la sangre.

Respecto al análisis de P4 pre tratamiento (T1, T2, T3, T4) y al compararlos entre grupos. Se determinó que existe diferencia estadística significativa ($P < 0,05$), particularmente entre los grupos T1 A, T2 A y T4 A respecto al grupo T3 B. Por lo tanto, se considera que posterior a la inseminación en los animales que se produjo la fecundación la gestación prosigue y los niveles de progesterona aumentan ya que el cuerpo lúteo pasa de fase luteal estral a gestacional. Sin embargo, los animales que no se fecundaron los niveles de P4 se mantuvieron bajos, así mismo en los animales que se produjo pérdida embrionarias los niveles de P4 se mantuvieron constantes y luego descendieron. Estos resultados superan los encontrados por (PINTO y CHACON, 2009), quienes utilizando el dispositivo intravaginal CIDR® nuevo, obtuvieron una media de progesterona de 5.07 ng/mL al día 7 pos inseminación artificial.

Respecto al análisis de P4 post tratamiento (T1, T2, T3, T4) y al compararlos entre grupos. Se determinó que no existe diferencia estadística significativa ($P < 0,05$). Sin embargo, de acuerdo al índice de gestación y comparando con los niveles de P4, se observó que el mejor tratamiento es aquel que mantiene la gestación efectiva determinando una correlación positiva entre la GnRH-P4 y gestación, es decir, niveles adecuados de P4 mantienen la gestación y evitan pérdidas embrionarias. Así,

el T1 presento una gestación efectiva del 40%, el T2 una gestación efectiva del 60%, el T3 una gestación efectiva del 40% y el T4 o grupo testigo una gestación efectiva del 40%. Es importante considerar que algunos autores manifiestan que durante los primeros 14 días se pierden cerca del 30% de las gestaciones, sin que clínicamente sean detectadas (Dunne et al., 2000). Dentro de este periodo la mayoría (80%) se pierden antes del octavo día considerando que la transición de mórula a blastocisto es un periodo crítico para la supervivencia del embrión. Entre los 14 y 19 días, un 5-10% se pierden alrededor del reconocimiento materno de preñez. Después viene el periodo de formación de la placenta, entre el día 18-28 y el 30 al 42 donde en cada uno de esos periodos también se pierden alrededor del 5-10% de los embriones (BonDurant, 2007; Diskin and Morris, 2008). Además, este número se basa en la probabilidad de fertilización (que se considera es de un 80-100%) sumado a la probabilidad de que el embrión sobreviva al reconocimiento materno. Dentro de los factores que han sido involucrados se tiene factores genéticos, de manejo, estrés, salud animal, entre otros (Diskin and Morris, 2008).

CONCLUSIONES

- ✓ Se concluye que la determinación de los niveles de concentración de progesterona sérica y el índice de gestación están directamente relacionados a la edad del cuerpo lúteo e influenciado por los análogos sintéticos de la hormona GnRH.
- ✓ Bajo las condiciones de este estudio, los niveles de progesterona de los diferentes grupos el control (T4) y tratamientos (T1, T2, T3) presentaron diferencias estadísticas significativas y numéricas al compararlos, respecto a la formación, edad y calidad de células luteales en el experimento.
- ✓ El mejor índice de gestación efectiva se observó en el tratamiento T2 (60%) respecto al T1, T2 y grupo control (T4).
- ✓ El menor costo por tratamiento y por vaca preñada se obtuvo en el tratamiento T2 respecto al T1, T3 y T4.

RECOMENDACIONES

- ✓ No se recomienda la aplicación del análogo sintético de GnRH en los días 4 o 12 post inseminación artificial en vacas lecheras.

- ✓ Se recomienda el empleo del análogo sintético de GnRH en el día 8 post-inseminación artificial para aumentar los niveles de progesterona, el índice de gestación y prevenir muertes embrionarias tempranas.

- ✓ Realizar estudios o réplicas del experimento en animales problemas, es decir con índices reproductivos bajos.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

1. **AGUILAR, Pablo. 2013.** *METODO EXPERIMENTAL*. Mexico : s.n., 2013.
2. **BARUSELLI, P.S., MARTINEZ, M.F and BO, G.A. 2014.** *DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA EN EL BOVINA*. Argentina : IRAC, 2014.
3. **BO, A,Gabriel. 2014.** *ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL, FOLICULOGENESIS Y DESARROLLO FOLICULAR EN EL BOVINO ADULTO Y PREPUBER*. Argentina : IRAC, 2014.
4. **CACCIA, Mariana and BO, Gabriel. 2014.** *PRINCIPIOS FUNDAMENTALES DE ENDOCRINOLOGÍA Y MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS HORMONAS*. Argentina : IRAC, 2014.
5. **CARCEDO, J and BO, Ga. 2003.** PORCENTAJES DE PREÑEZ EN VACAS Y VAQUILLONAS CRUZA CEBU TRATADAS CON DISPOSITIVOS TRIU- B NUEVOS O REUTILIZADOS EN INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO. Argentina : IRAC, 2003.
6. **FRANCO, Jackeline and URIBE, Luis. 2011.** 1, Colombia : Biosalud, 2011, Vol. 11. 1657-9550.
7. **GIRAUDO, Jose Angel. 2014.** *SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL*. Argentina : IRAC, 2014.
8. **GISPERT, Carlos. 2007.** *MANUAL MERCK DE VETERINARIA*. España : OCEANO/CENTRUM (MERIAL), 2007. 978-84-7841-081-8.
9. **HAFEZ, E.S.E and HAFEZ, B. 2000.** *REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES*. SOUTH CAROLINA, U.S.A. : Mc. Graw Hill, 2000. 0-683-30577-8.
10. **HERNANDEZ, FERNANDEZ and BAPTISTA. 2004.** *METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION*. Mexico : Mc Graw Hill, 2004.
11. **LUZBEL DE LA ZOTA, R, et al. 2011.** SYNTEX. *SYNTEX*. [Online] 2011. [Cited: MARZO 10, 2015.]

12. **RAMIREZ, Alberto. 2003. *METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA*. s.l. : PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA, 2003.**
13. **ROA, Noris, et al. 2000. DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA PLASMÁTICA POR EL MÉTODO DE ELISA EN RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS. Venezuela : F.C.V.-LUZ, 2000, Vol. II.**
14. **RODRIGUEZ, David. 2008. *METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN*. s.l. : FUOC, 2008. PID-00148555.**
15. **VIDELA, Ignacio. 2015. *VADEMECUM VETERINARIO*. s.l. : VADEMECUM SANI, 2015.**

INTERNET

- a) **GASQUE, Ramón. 2009. Enciclopedia Bovina. UNAM. [Online] 2009. [Cited: Junio 15, 2015.] http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/10ReproduccionBovina.pdf.**
- b) **MARANA, David. 2015. Inseminación Artificial a tiempo fijo en bovinos. *Pecuarios .com*. [Online] Marzo 09, 2015. [Cited: Junio 01, 2015.] http://www.ganaderia.com.mx/ganaderia/home/articulos_int.asp?cve_art=1311.**
- c) **MENDIBURU, F. 2012. DISEÑO DE BLOQUES COMPLETOS AL AZAR : DBCA. *DISEÑO DE BLOQUES COMPLETOS AL AZAR : DBCA*. [Online] 2012. [Cited: MARZO 2015, 2015.] <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu/index-filer/academic/metodos1/Bloques.pdf>.**
- d) **RIPPE, Christian. 2009. [Online] 2009. <http://www.dercouncil.org/media/Public/Rippe%20DCRCH%202009.pdf>.**

ANEXOS

Fotografía 1. Identificación de los animales y clasificación de los mismos.



Fotografía 2. Chequeo ginecológico pre sincronización.



Fotografía 3. Sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo (I.A.T.F.)



Fotografía 4. Extracción de sangre al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación.



Fotografía 5. Envió al Laboratorio.



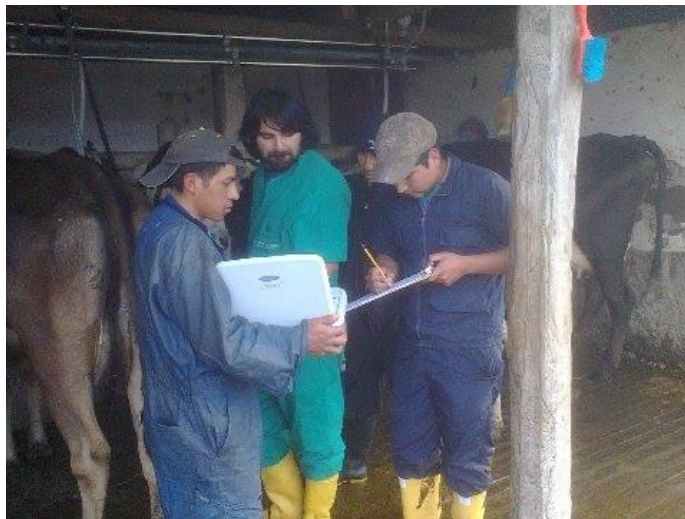
Fotografía 6. Aplicación de GnRH (2500 U.I) al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación.



Fotografía 7. Monitorear mediante ultrasonografía al cuarto, octavo y doceavo día post inseminación.



Fotografía 8. Control ginecológico a los 30 días post- inseminación artificial.



EXÁMENES DEL LABORATORIO



REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 15-1818

Fecha de recepción: 2015-07-10
Fecha de reporte: 2015-07-21

Hora de recolección: 17:00 (2015-07-09)
Hora de recepción: 12:14

Temp. de las muestras: 6° C

Propietario: Dr. Enrique Collaguazo
Hacienda: El Madrugador
Dirección: El Chaupi
Provincia: Pichincha Cantón: Mejía Parroquia: El Chaupi
Remite: Dr. Mauricio Collaguazo
Muestras tomadas por: Dr. Mauricio Collaguazo

Teléfono: 0990 610 092

Número de muestras: 10 sueros

Especie: Bovina
Raza: Holstein
Sexo: Hembras
Edad: Varias

RESULTADOS

Examen Solicitado: Progesterona

Técnica: Elisa

Código	Identificación	Resultado (ng/ml)
Tratamiento 3 día 12		
1	Noche Buena	21.26
2	268	51.66
3	345	61.84
4	Morocha	59.64
5	Huesos	20.22
Grupo Testigo día 12		
6	Payasa	5.10
7	Agujeta	6.01
8	Gringa	25.84
9	Piña	8.32
10	Paula	17.08

Valores de Referencia para Progesterona:

ESTRO (F. Folicular):	0,2 - 1,5 ng/ml
METAESTRO (F. Ovulatoria):	0,9 - 3,2 ng/ml
DIESTRO (F. Luteínica):	3,8 - 16,5 ng/ml
PROESTRO:	1,4 - 2,8 ng/ml

✓ El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.



M. J. Sánchez Ayala
M. J. Sánchez Ayala
Jefe de Laboratorio

* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.

REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 15-1825

Fecha de recepción: 2015-07-13
Fecha de reporte: 2015-09-29

Hora de recolección: 17:00 (2015-07-12)
Hora de recepción: 11:48

Temp. de las muestras: 4° C

Propietario: Sr. Enrique Collaguazo
Hacienda: El Madrugador
Dirección: El Chaupi
Provincia: Pichincha Cantón: Mejía Parroquia: El Chaupi
Remite: Dr. Mauricio Collaguazo
Muestras tomadas por: Dr. Mauricio Collaguazo

Teléfono: 0990 610 092

Número de muestras: 5 sueros

Especie: Bovina
Raza: Holstein
Sexo: Hembras
Edad: Varias

RESULTADOS

Examen Solicitado: Progesterona

Técnica: Elisa

Código	Identificación	Resultado (ng/ml)
Tratamiento 2 día 15		
1	273	47.33
2	248	55.03
3	352	27.73

Código	Identificación	Resultado (ng/ml)
Tratamiento 2 día 15		
4	338	55.60
5	85	2.66

Valores de Referencia para Progesterona:

ESTRO (F. Folicular): 0,2 - 1,5 ng/ml
METAESTRO (F. Ovulatoria): 0,9 - 3,2 ng/ml
DIESTRO (F. Luteínica): 3,8 - 16,5 ng/ml
PROESTRO: 1,4 - 2,8 ng/ml

✓ El cliente manifiesta que las muestras se mantuvieron en refrigeración

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.



Mrb. María José Sánchez Ayala
Jefe de Laboratorio

* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.

REPORTE DE RESULTADOS

Caso: 15-1859

Fecha de recepción: 2015-07-16
Fecha de reporte: 2015-09-29

Hora de recolección: 16:00
Hora de recepción: 16:54

Temp. de las muestras: Ambiente

Propietario: Sr. Enrique Collaguazo
Hacienda: El Madrugador
Dirección: El Chaupi
Provincia: Pichincha Cantón: Mejía
Remite: Dr. Mauricio Collaguazo
Muestras tomadas por: Dr. Mauricio Collaguazo

Teléfono: 0990 610 092

Parroquia: El Chaupi

Número de muestras: 5 sueros

Especie: Bovina
Raza: Holstein
Sexo: Hembras
Edad: Varias

RESULTADOS

Examen Solicitado: Progesterona

Técnica: Elisa

Código	Identificación	Resultado (ng/ml)
Tratamiento 3 día 19		
1	Huesos	2.49
2	268	12.88
3	Noche Buena	34.62
4	345	38.62
5	295 (Morocha)	0.11

Valores de Referencia para Progesterona:

ESTRO (F. Folicular): 0,2 - 1,5 ng/ml
METAESTRO (F. Ovulatoria): 0,9 - 3,2 ng/ml
DIESTRO (F. Luteínica): 3,8 - 16,5 ng/ml
PROESTRO: 1,4 - 2,8 ng/ml

NOTA: Los resultados son válidos unicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.



M. José Sánchez Ayala
Jefe de Laboratorio

* Prohibida la reproducción total o parcial del presente reporte sin la autorización escrita de Vetelab Cía. Ltda.