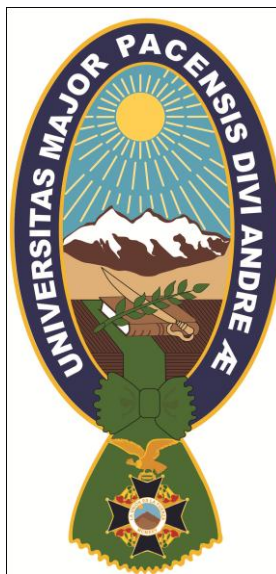


UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

FACULTAD DE AGRONOMÍA

POSTGRADO



TESIS DE MAESTRÍA

**“Efecto del uso de tres protocolos de sincronización sobre el desarrollo ovárica
y la tasa de fertilidad en vacas Brown Swiss”**

Ing. JOSÉ CARTAGENA CATA CORA

La Paz – Bolivia

2015

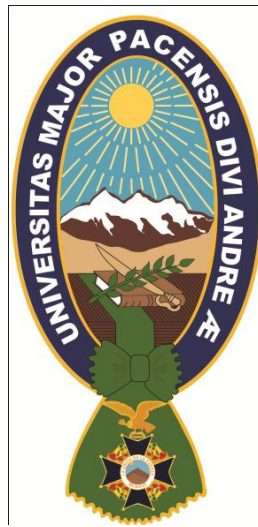
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

FACULTAD DE AGRONOMÍA

POSTGRADO

MAESTRIA EN CIENCIA ANIMAL

PRIMERA VERSIÓN



TESIS DE MAESTRÍA

**“Efecto del uso de tres protocolos de sincronización sobre el desarrollo ovárica
y la tasa de fertilidad en vacas Brown Swiss”**

Ing. JOSÉ CARTAGENA CATACTORA

La Paz – Bolivia

2015

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
POSTGRADO



*Tesis de Maestría como
requisito para optar el
Título de Maestro en
Ciencia Animal*

**“Efecto del uso de tres protocolos de sincronización sobre el desarrollo
ovárica y la tasa de fertilidad en vacas Brown Swiss ”**

Ing. José Cartagena Catacora

Asesor:

MVZ. M.Sc. Dr. Ciro Traverso Arguedas

Tribunal Examinador:

MVZ. M.Sc. Ph.D. Celso Ayala Vargas

MVZ. M.Sc. Martha Gutiérrez Vázquez

Ing. M.Sc. Héctor Cortes

Aprobado

Presidente Tribunal Examinador

Ing. M. Sc. Celia M. Fernández Chaves
COORDINADORA GENERAL
UNIDAD DE POSTGRADO
FACULTAD DE AGRONOMÍA - UMSA

La Paz – Bolivia

2015

AGRADECIMEINTO

A la Universidad Mayor de San Andrés de la facultad de Agronomía por brindarme la acogida durante mi estudio y así lograr el objetivo propuesto. A las autoridades, plantel docente, administrativos y a mis compañeros de estudio por que ellos apoyan a continuar en este trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla por su acogida y apoyar en el trabajo de Investigación.

A MVZ. MSc. Dr. Ciro Traverso Arguedas, por fungir como asesor, amigo y hospitalidad en esta etapa de formación tanto profesional y como personal.

Al MVZ. MSC. Hugo Wenceslao Deza Calsin como asesor y amigo de compartir sus experiencias en etapa de experimental y ampliar los conocimientos científicos.

Mis más sinceros agradecimientos a Dios por darme una oportunidad cada amanecer, a mi familia por el apoyo incondicional durante mis estudios, por no abanderarme, son mis pilares fundamentales de la lucha para alcanzar una meta. (Primitiva, Terry Joel, mi padre Teodosio, a mis hermanos/as María, Leonarda, Lucy, Moisés, Efraín, Walter y a mis sobrinos/as).

A los colegas que impulsaron de contribuir sus nobles y actitudes solidarias quien ha sabido compartir sus fortalezas.

José Cartagena Catacora

GLOSARIO

eCG = hormona coriónica equina

UI = unidades internacionales.

CE = ciclo estral.

CL = cuerpo lúteo.

P₄ = hormona progesterona. (CIDR)

FSH = hormona folículo estimulante.

LH = hormona luteinizante.

E₂ = hormona estradiol.

GnRH = hormona liberadora de gonadotropina.

PGF₂ α = hormona prostaglandina F₂ α

TSH = hormona estimulante tiroidea.

BE = hormona benzoato de estradiol.

IATF = Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.

mRNA = Acido Ribonucleico mensajero .

μ g = micro gramo

gr. = gramo.

T1 = tratamiento 1.

T2 = tratamiento 2.

T3 = tratamiento 3

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1. Ciclo estral en la vaca.....	3
2.1.1. Fase folicular o de regresión lútea (proestro)	3
2.1.2. Fase pro ovulatoria (estro y metaestro)	4
2.1.3. Fase formación de cuerpo lúteo amarillo (metaestro)	5
2.1.4. Fase lútea (Diestro)	5
2.2. Dinámica folicular	5
2.2.1. Reclutamiento.....	6
2.2.2. Selección.....	6
2.2.3. Dominancia.....	6
2.2.4. Atresia.....	7
2.2.5. Control endocrino del ciclo estral.....	7
2.2.6. Hipotálamo	8
2.2.7. Hipófisis.....	8
2.2.8. Ovarios.....	9
2.2.9. Fase folicular y ovulación.....	10
2.2.10. Pico de LH	10
2.2.11. Secreción FSH	11
2.2.12. Micro ambiente folicular	12
2.2.13. Fase lútea	12
2.2.14. Luteolisis	13
2.3. Efecto hormonal en el útero durante el ciclo estral	13

2.4. Dinámica folicular ovárica	13
2.5. Utilización dispositivos con progesterona.....	14
2.5.1. Dispositivo de liberación de progesterona.....	14
2.6. Sincronización de celo y ovulación	15
2.6.1. Prostaglandina F ₂ α	15
2.6.2. Protocolo con GnRH	16
2.6.3. Tratamiento Ovsynch (GnRH+PGF ₂ α +GnRH)	16
2.6.4. Tratamiento con dispositivo de liberación de progesterona, estradiol y eCG	16
2.7. Protocolos de sincronización.....	18
2.7.1. Ovsynch (GnRH+PGF ₂ α +GnRH).....	18
2.7.2. Progesterona P ₄ (GnRH+PGF ₂ α +GnRH)	18
2.7.3. Progesterona – GnRH+PGF ₂ α +GnRH-Synch	19
2.7.4. Pre – Synch Ovsynch.....	19
3. MATERIALES Y METODOS.....	20
3.1. Lugar de estudio	20
3.2. Material experimental.....	20
3.2.1. Animales.....	20
3.3. Metodología.....	21
3.3.1. Examen ginecológico por ecografía	21
3.3.2. Protocolo de sincronización.....	22
3.3.3. Aplicación del dispositivos intravaginal hormona progesterona CIDR	24
3.3.4. Retiro del CIDR.....	24
3.3.5. Aplicación de GnRH, PGF ₂ α , estradiol y la eCG	25
3.3.6. Inseminación artificial	25

3.3.7. Desarrollo folicular y luteal.....	25
3.3.8. Diagnóstico de gestación.....	26
3.3.9. Análisis estadísticos.....	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
4.1. Resultados.....	28
4.1.1. Diámetro folicular.....	28
4.1.2. Diámetro cuerpo lúteo	30
4.1.3. Tasa de Fertilidad/preñez.....	33
4.2. Discusiones.....	36
5. CONCLUSIONES	38
6. RECOMENDACIONES	39
7. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tiempo de onda folicular.....	17
Tabla 2. Tiempo de ovulación y características del folículo ovulatorio.....	17
Tabla 3. Distribución de animales según protocolo de sincronización	21
Tabla 4. Diámetro folicular en vacas Brown Swiss.....	28
Tabla 5. Diámetro de cuerpo lúteo en vacas Brown Swiss.....	31
Tabla 6. Tasa de fertilidad/preñez en vacas Brown Swiss.....	34
Anexo N° 1	
Tabla 7. Diámetro Folicular (mm)	1
Tabla 8. ANDEVA del diámetro folicular.....	1
Anexo N° 2	
Tabla 9. Diámetro de Cuerpo Lúteo (mm)	2

Tabla 10. ANDEVA del cuerpo lúteo.....	2
---	---

Anexo N° 3

Tabla 11. Numero de vacas preñadas y vacías	3
--	---

Tabla 12. % de Tasa de fertilidad/preñez	3
---	---

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Diámetro folicular	29
---	----

Fig. 2. Diámetro del cuerpo lúteo.....	33
---	----

Fig. 3. Tasa de fertilidad/preñez.....	35
---	----

RESUMEN

La presente Investigación se realizó en Centro Investigación y Producción Chuquibambilla, ubicado a 3 970 msnm. de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno Perú. Se evaluado tres tratamientos de sincronización sobre el desarrollo folicular, cuerpo lúteo y tasa de fertilidad/preñez; para ello se utilizó 41 vacas Brown Swiss. En T1 se aplicó el Día 0 P₄ 1,9 g + 100 µg GnRH, día 7 se retiró el dispositivo y se administró 25 mg PGF₂α + 400UIeCG y a los 60 h se inseminó. En T2 se aplicó día 0 P₄ 1,9 g + 2 mg (BE) durante 8 días, y se retiró el dispositivo, luego se administró 25 mg PGF₂α + 400UIeCG, el día 9 se aplicó 1 mg (BE), a 60 h la inseminación. En T3 día 0 se inyectó 100 µg GnRH, el días 7 se aplica 25 mg PGF₂α, a los 9 días se suministró 100 µg GnRH y a los 20 h se inseminó. Con la ecografía se determinó diámetro foliculo, cuerpo lúteo y el diagnostico preñez después de 30 días pos servicio. El diámetro folicular fue T1 14.53 ± 5.28 mm a T2 15.18 ± 6.31 mm y T3 15.00 ± 5.18 mm respectivamente. El cuerpo lúteo de gestación fue de 17.75 ± 4.02 mm, 15.91 ± 2.89 mm y 17.00 ± 1.65 mm continuamente. La tasa de preñez fue 66.67%, 68.75% y 70.00% respectivamente. El protocolo GnRH+PGF₂α+GnRH ha permitido un desarrollo adecuado del diámetro folicular, cuerpo lúteo y buena gestación de preñez.

Palabra clave: efecto de tres protocolos de sincronización y fertilidad

ABSTRACT

This research was carried out in research center and production Chuquibambilla, located at 3970 masl. of the National University of the Altiplano in Puno Peru. Is evaluated three treatments of synchronization on follicular development, corpus luteum and fertility/pregnancy rate; Brown Swiss 41 cows was used to do so. In T1 applied 0 day P₄ 1, 9 g 100 µg GnRH, day 7 withdrew the device and was administered 25 mg PGF₂ α + 400UI eCG and to the 60 h is inseminated. In T2 applied day 0 P₄ 1, 9 g 2 mg (EB) for 8 days, and withdrew the device, then he was administered 25 mg PGF₂ α + 400UI eCG, day 9 of 1 mg (EB), applied to 60 h insemination. In T3 day 0 were injected with 100 µg GnRH, the 7 applies 25 mg PGF₂ α , 9 days are supplied 100 µg GnRH and to the 20 h is inseminated. With the ultrasound determined diameter follicle, corpus luteum and the diagnosis of pregnancy after 30 days after service. The follicular diameter was T1 14. 53 \pm 5.28 mm T2 15. 18 \pm 6.31 mm and T3 15.00 \pm 5.18 mm respectively. The corpus luteum of pregnancy was 17. 75 \pm 4. 02 mm, 15. 91 \pm 2.89 mm and 17. 00 \pm 1. 65 mm continuously. The pregnancy rate was 66.67%, 68.75% and 70.00% respectively. The GnRH PGF₂ α GnRH Protocol has allowed a proper development of the follicular diameter, corpus luteum and good gestation pregnancy.

Keyword: effect of three synchronization protocols and fertility

1. INTRODUCCION.

En la actualidad existe diferentes métodos de sincronización de estro que se utilizan como herramientas del manejo reproductivo, esta técnica procura obtener animales en estro durante un tiempo corto lo que permite planear una adecuada tasa de fertilidad. De esta forma la sincronización ha permitido tener control sobre decisiones que afectan en forma directa la eficiencia productiva (Larocca et al., 2005).

En actualidad la I.A. en vacunos está ampliamente difundida, sin embargo existe problemas de detección oportuna del celo, debido a que los animales se encuentran en áreas de pastoreo y sistemas de alimentación a campo, que hace muy difícil el manejo animal (Quispe, 2013). Los protocolos hormonales con el paso de los años han sido redefinidos, proporcionando respuestas satisfactorias en términos de reanudación de la actividad ovárica y mejora en los resultados reproductivos (Pérez, 2005). En el presente trabajo se utilizaron protocolos de sincronización de celo a fin de determinar el diámetro folicular, diámetro de cuerpo luteo y tasa de preñez en vacas Brow Swiss y establecer el mejor protocolo que permita su utilización en el campo de la reproducción.

El protocolo se basa en el conocimiento de las fases foliculares y luteales del ciclo estral. Así se puede utilizar la estrategia de acortar la fase luteal provocando la regresión del cuerpo lúteo, mediante la administración la prostaglandina o la estrategia de prolongar la fase luteal proporcionando progesterona exógena (Wildeus 2009).

Al disminuir el tiempo de los tratamientos se facilita el manejo, se reduce al mínimo el posible el flujo vaginal e infección y se incrementa la fertilidad. Por esto, cada vez más se practican tratamientos cortos de 5 – 12 días más la administración de una dosis de prostaglandina y eCG desde la 48 horas (Holtz W., 2005).

El uso de la ultrasonografía con base estudios morfológicos e histológicos de los ovarios en bovino se concluye que la actividad folicular durante el ciclo estral ocurre en dos y tres ondas de crecimiento folicular en el ciclo estral y la primera onda de crecimiento folicular se detecta en los ovarios como una cohorte de folículos de 4mm de diámetro que aparece en el ovario el día antes de la ovulación (Motta et al., 2011).

En razón a los antecedentes anteriormente planteados se realizó el presente trabajo de investigación con el objetivo principal de evaluar el efecto del uso de tres protocolos de sincronización sobre el desarrollo ovárico y la tasa de fertilidad en vacas Brown Swiss, con los objetivos específicos siguientes:

- Determinar el tamaño de folículo preovulatorio en vacas Brown Swiss sincronizadas bajo tres protocolos de inseminación a tiempo fijo.
- Determinar el tamaño del cuerpo lúteo de gestación en vacas Brown Swiss sincronizadas bajo tres protocolos de inseminación a tiempo fijo.
- Determinar la tasa de preñez en vacas Brown Swiss sincronizadas bajo tres protocolos de inseminación a tiempo fijo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

2.1. Ciclo estral en la vaca

El ciclo está determinado por una cadena de eventos fisiológicos que sucede en el periodo de tiempo entre un celo y otro. En vaquillonas una vez entrada la pubertad el ciclo estral tiene una duración promedio de 21 a 24 días y puede ser más corto o más largo dependiendo del número de ondas foliculares. Es controlado por una actividad, en la cual interviene el sistema nervioso, varias hormonas producidas en el hipotálamo, la hipófisis, el útero, y los ovarios (Virbac, 2008).

La actividad ovárica que ha descrito desencadena ciclo estral, también llamado ciclo ovárico durante este se observa cambios del comportamiento de la hembra así como en su actividad ovárica. Para el estudio del ciclo ovárico lo dividiremos en cuatro fases que son: Proestro, estro, Metaestro y Diestro (García, 2012).

El ciclo estral (CE) de la vaca tiene una extensión de media de 21 días. El celo dura aproximadamente 18 horas y la ovulación tiene 15 horas después de la finalización del mismo. El cuerpo lúteo (CL) se desarrolla y la secreción de hormona progesterona (P_4) aumenta entre el 4 y 12 días del ciclo y permanece constante hasta la luteólisis. La regresión del CL es variable y ocurre entre 15 y 20 días del CE. (Rivera, 2009).

2.1.1. Fase folicular o de regresión lútea (proestro)

Se caracteriza por el crecimiento folicular, comienza cuando la progesterona desciende sus niveles basadas como resultado de la luteólisis. Dura de 2 a 4 días y es el periodo de mayor transición endócrina la hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH).

Es durante éste etapa los folículos son reclutados para la ovulación y el tracto reproductivo de la hembra se prepara para la cópula (Laboratorio de Especialidades Veterinarias, 2005).

La fase del proestro es el periodo comprendido entre el comienzo de la luteólisis hasta el inicio del celo. Es el periodo que produce el desarrollo del folículo (Ramírez c., 2006).

Durante esta fase se observa la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, la secreción creciente de (FSH) con el consiguiente desarrollo en un nuevo folículo. Se inicia la secreción de estrógenos (García, 2012). En este periodo la hembra puede atraer al macho, pero no permite la monta (Bavera G., 2005).

2.1.2. Fase pre ovulatoria (estro y metaestro)

El útero es estimulado en grado suficiente, en la palpación rectal el miometrio revela un fuerte tono y el útero se encuentra ligeramente firme y erecto. Persiste la tumefacción de la vulva y vagina, en las que se advierte hiperemia. Por último, al acabo de 14 a 18 horas promedio el sistema nervioso de la hembra se torna refractario al estradiol y cesan en el animal todas las manifestaciones psíquicas del celo. Desaparecen las tentativas para montar otras vacas, al mismo tiempo las hembras como los toros suprimen su tendencia, antes manifiesta, en el sentido de una atención apasionada, incluida la monta de la vaca en celo (Bavera G., 2005).

El estro periodo de celo dura una 8 a 30 horas y el periodo receptividad sexual día 1 del ciclo. Es el único momento que la vaca se deja montar por el toro u otras vacas. Esta conducta es típico de vacas *Bos taurus* (ganado doméstico europeo), pero menos marcando en *Bos indicus* (ganado Brahman o ganado con jibá). El acto de aceptar la monta es el mejor indicador de que la vaca en celo. Durante el estro, el folículo y óvulo, alcanzan los estudios finales de maduración (Unión Ganadera Regional de Jalisco, 2009).

2.1.3. Fase formación de cuerpo lúteo amarillo (Metaestro)

Una vez producida la ovulación, las células de la teca y de la granulosa del folículo se hacen sensible a la (LH), y por su estímulo, forman el cuerpo lúteo o cuerpo amarillo, que empezará a producir progesterona. Esta hormona es la responsable de preparar el útero para la gestación y de inhibir la actividad cíclica estral (Ramírez C., 2006).

En este período la vaca no permite la monta y desaparecen los signos de celo. A diferencia de la monta natural, que se efectúa durante el celo, la inseminación artificial se debe efectuar en el metaestro. La razón es que el toro deposita el semen en el fondo de la vagina, y los espermatozoides demoran unas 7 horas en llegar desde ese lugar hasta el cuello uterino, con la gran pérdida de los mismos, y de allí unos 5 minutos hasta el tercio anterior al oviducto. En cambio, en la inseminación artificial el semen se deposita en el segundo anillo del cuello, por lo que solo tardan entre 2,5 a 5 minutos en llegar al tercio del anterior del oviducto (Bavera, 2005).

2.1.4. Fase luteal (Diestro)

El diestro ó periodo de la función del cuerpo amarillo es la más larga del ciclo estral y es el periodo de tiempo en que al CL, es totalmente funcional y la secreción de progesterona es alta; esta termina cuando el CL es destruido (luteólisis), altos niveles de progesterona preparan al útero para un temprano desarrollo embrionario y eventual implantación (Laboratorio de Especialidades Veterinarias, 2005).

2.2. Dinámica folicular

La dinámica folicular es el proceso de crecimiento y regresión de folículos que conducen al desarrollo de un folículo pre ovulatorio, en algunas especies el crecimiento folicular se caracteriza por un patrón de onda folicular y consta de cuatro etapas que son: Reclutamiento, Selección, Desviación, Dominancia, Atresia (Muñoz, 2013).

2.2.1. Reclutamiento

Un corte folicular de aproximadamente 3 mm de diámetro es estimulado por un aumento transitorio de la FSH. El pico de FSH ocurre cuando el futuro folículo dominante alcanza un tamaño 4mm y luego los niveles de FSH disminuyen. El proceso por el cual la FSH declina es desconocido (Rippe, 2009).

El crecimiento simultáneo de 8 a 41 folículos de 4 mm de diámetro en los 2 ovarios, es característico en bovinos. La FSH se une a sus receptores en la granulosa induciendo la transcripción para la producción de la aromatasa P_4 , la cual media la conversión a estrógenos de la testosterona proveniente de las células de la teca. El inicio de la actividad de la aromatasa en la célula granulosa es un indicador de madurez del folículo en la fase de reclutamiento (Vasquezet. al., 2010).

2.2.2. Selección

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 (Salinas, 2013).

2.2.3. Dominancia

Se refiere al desarrollo de un folículo mientras que los restantes sufren un proceso de atresia fisiológica. Este folículo dominante pertenece a un corte folicular de 4 a 6 mm que iniciaron el primer día del ciclo para alcanzar su máximo tamaño 13 a 16 mm del séptimo día al octavo pudieron permanecer estable hasta el día primero, momento en la que inicia la regresión hasta el día 16. El segundo folículo puede ser ovulatorio o no, en dependencia de ciclo de 2 a 3 ondas de maduración; si el ciclo es de dos ondas. La causa por la cual el folículo dominante de las primeras ondas regresiones es la baja pulsatilidad de LH, por los altos niveles de progesterona que provocaría una menor síntesis de andrógenos y en consecuencia una mejor síntesis de estrógeno que iniciaran la atresia folicular (Muñoz, 2013).

2.2.4. Atresia

La atresia se puede definir como la reabsorción de líquido del antro folicular con apoptosis de los componentes celulares del folículo (oocito, células del granuloso y de la teca). Estos coinciden con la disminución en las concentraciones de FSH, que ocurre de 3 - 4 días después del reclutamiento. Esta disminución es atribuida a la combinación entre la inhibina y el estradiol sobre la secreción hipofisaria del FSH que afecta el crecimiento de los folículos menores de 5 mm de diámetro, los cuales también reduce su sensibilidad a gonadotropinas (Vasquez et. al., 2010).

Es un proceso que causa la muerte y desaparición del 90% de los folículos que entran a la población de crecimiento. La atresia puede engendrar pérdida de la vascularidad de la teca, degeneración del ovocito y picnosis de la granulosa (Muñoz, 2013).

2.2.5. Control endócrino del ciclo estral.

El ciclo estral está regulado por la interacción de varios órganos: el eje hipotálamo, ovario, y útero. Las hormonas sirven como mensajero químicos que viajan por la sangre hacia órganos y tejidos específicos que contienen receptores para hormonas específicas y que regulan las fases de ciclo estral (Rippe, 2009).

El control hormonal del ciclo estral lleva implícito el control de la dinámica folicular. Durante cada ciclo estral los ovarios bovinos sintetizan y secretan hormona estradiol (E_2) y progesterona (P_4) entre otros productos, los cuales coordinan la función del sistema reproductor femenino. Cada ciclo estral componente dos fases: la fase folicular y la fase luteal. La fase folicular ó estrogénica se caracteriza por el desarrollo de un folículo pre – ovulatorio y la secreción de E_2 , por parte de ese folículo. El E_2 secretado tiene entre sus funciones, ejercer un efecto de retroalimentación positiva sobre la secreción de la (FSH) y (LH) con el objeto de la ovulación del mismo, respectivamente (Del Valle, 2008).

2.2.6. Hipotálamo

El hipotálamo es una estructura ubicada en la parte inferior del cerebro llamada di encéfalo, el contribuye a la formación de las parte inferior y lateral de una cavidad denominada tercer ventrículo sus dimensiones no se existen de más de 2 cm. y pesa unos 4 gramos (gr) (Ramírez L., 2006).

Produce la hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH); la GnRH se difunde a través de los capilares al sistema hipofisiario y de allí a las células de la hipófisis anterior, en donde su función es estimular la producción y secreción de las FSH y LH entre otras (Sintex., 2005).

Los estímulos del medio externo, actúan sobre estructuras nerviosas extra hipotalámicas como la glándula pineal que su vez ejercen un efecto de estímulo sobre el hipotálamo, el cual en sus neuronas se encarga de la producción de la (GnRH) que es liberadora en forma de pulsos. La GnRH en la eminencia media, difunde a los capilares de sistema portahipofisiario y de allí hasta las células de la adenohipófisis en donde estimula la síntesis de la FSH y FH hormonas relevantes en el control del ciclo estral (Motta et.al., 2011).

2.2.7. Hipófisis

Consta de una parte anterior y otra posterior. La hipófisis anterior o adenohipófisis produce varios tipos de hormonas de las cuales la FSH y la LH cumplen un papel relevante en el ciclo estral. La FSH es la encargada de proceso de esteroideogénesis ovárica, crecimiento y maduración folículo y la LH es la que interviene en el proceso de ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo. La hormona oxitócica, que también es producida en el hipotálamo, es almacenada en la adenohipófisis e intervendrá en los procesos de parto, bajada de la leche, transporte de espermias en el útero así como en el proceso de luteolisis o ruptura del cuerpo lúteo en el ovario (Rippe, 2009).

2.2.8. Ovarios.

El ovario es un órgano dinámico, que provee un ambiente adecuado para la producción de sustancias como las hormonas, factores de crecimiento y liberación de gametos viables, estos últimos son contenidos desde el periodo fetal en los folículos (Motta et. al., 2001).

Son glándulas que tienen básicamente dos funciones: una exocrina, que es la liberación de óvulo, y la otra endocrina, que es la producción y secreción de hormonas. Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar los estrógenos o estradiol, la progesterona y la inhibina. Los estrógenos son hormonas esteroideas producidas en el folículo ovárico y son los responsables de estimular la conducta sexual o de celo actuando sobre el sistema nervioso central del animal; además tienen acción sobre otros órganos del aparato reproductivo como son las trompas de Falopio, el útero, la vagina y la vulva (Rippe, 2009).

Los estrógenos tienen un efecto de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo produciendo la liberación de GnRH que a su vez inducirá de FSH y LH en la hipófisis. La progesterona es también una hormona esteroide producida en el cuerpo lúteo por acción de la LH; es responsable de la preparación del útero para permitir la implantación del embrión y de mantener la gestación. Produce un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo (Rippe, 2009).

La inhibina es una hormona proteica producida en el folículo que interviene en el mecanismo de regulación de la secreción FSH y tiene un efecto de retroalimentación sobre hipófisis anterior produciendo una menor secreción de FSH (Rippe, 2009).

Produce la Prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) al cual interviene en la regulación del ciclo estral mediante su efecto de luteólisis o regresión del cuerpo lúteo. También interviene en los procesos de ovulación y de parto (Sagbay, 2012).

2.2.9. Fase folicular y ovulación.

Esta fase se extiende desde la regresión de CL hasta la ovulación. Durante la misma se produce el desarrollo folicular final, la ovulación y comienza la organización del folículo que ovuló en un nuevo CL. El folículo ovárico es la unidad estructural y funcional del ovario, proporcionando un ambiente adecuado para el crecimiento, eventual del ovocito que contiene y formación de un embrión a partir de la fecundación. La folículo génesis es un proceso altamente selectivo donde usualmente solo un folículo asume dominancia y el destino del resto de los folículos en la atresia mediana por apoptosis; el mayor tipo de células que sufren este proceso son las células de la granulosa (Motta et. al., 2011).

2.2.10. Pico de Hormona Luteinizante (LH).

El pico del LH tiene lugar después de iniciando el celo (periodo en el cual la vaca es receptiva a la monta de otra vaca). El pico de LH inicia los mecanismos que lleva a la ovulación. El momento de celo en relación al pico de LH es importante debido a que la LH causa la diferenciación celular del folículo y un descenso en la concentración del estradiol. Si el pico de LH ocurriera antes del celo, el estradiol originado en el folículo podría disminuir antes de la expresión del celo. Las vacas continúan con la expresión del celo luego del pico de LH y están en celo por un periodo de 30 minutos a 30 horas. La ovulación ocurre aproximadamente a 30 horas después del pico de LH. El momento de la ovulación está más relacionado con el momento del pico de LH que con el momento de la expresión del celo (Matthew., 2009).

Ante cada pulso de GnRH la hipófisis responde con un pulso de LH; y el folículo responde a la LH secretando estrógeno. Los estrógenos determinan que se produzca nuevamente un nuevo pulso de LH, que inducirá un nuevo incremento de estrógeno. Se considera que los estrógenos ejercen su efecto estimulador en ambos niveles, tanto en el hipotálamo estimulando la secreción de GnRH, como en la hipófisis estimulando directamente la secreción de LH. Finalmente el pico de LH determina la ruptura y luteinización del folículo, de forma que caen los niveles de estrógeno (Raimez y Gaitan, 2011).

La LH se secreta en una serie de pulso y esa frecuencia de pulsos está determinado por pulsos individuales de GnRH que secreta el hipotálamo en los vasos portales hipofisarios. Durante la fase luteal (domina la progesterona), los pulsos de LH son baja frecuencia (1 cada 4 horas o menos), mientras la fase folicular, antes del pico de LH, (en ausencia de progesterona) y tienden a ser de menor amplitud (Raimez y Gaitan, 2011).

El aumento en las concentraciones de LH después de la luteólisis, y antes del pico pre- ovulatorio refleja un aumento de los niveles basales y una aumento de la frecuencia de los pulsos. El pico de LH consiste en la sumatoria del pulso de LH y se requiere una continua generación de pulsos hipotalámicos de GnRH endógeno durante el pico para llevarlo a su conclusión normal (González, 2006).

2.2.11. Secreción de hormona folículo estimulante (FSH).

La glicoproteína compuesto por 2 subunidades, α común a la FSH, LH y hormona estimulante tiroidea (TSH), y la β específica en su actividad biológica. El periodo de vida media es de +/- 2.5 horas FSH regula el desarrollo, el crecimiento, la maduración pubertad, y los procesos reproductivos del cuerpo. FSH y LH actúan de forma sinérgica en la reproducción (Pascual, 2005).

La FSH secreta en ondas a lo largo del ciclo estral desempeña un papel fundamental para el crecimiento de un grupo de folículo. Las hembras *Bos Taurus* *Bos indicus* presentan generalmente 2 a 3 ondas de crecimiento folicular en su ciclo estrual (Cárdena, 2009).

El crecimiento de los niveles pre- ovulatorios de FSH está gobernado por los mismos mecanismos que determina el pico de LH, es decir un estímulo de la secreción de GnRH provoca por un retrocontrol positivo con los estrógenos ováricos. De todas formas el crecimiento de los niveles de FSH es anterior al de la LH. Se produce un segundo incremento en los niveles de FSH alrededor de 24 horas luego del pico de LH. Se ha vinculado éste incremento con el crecimiento de los primeros folículos del ciclo siguiente (Soria, 2013).

La Hormona Coriónica equina (eCG) es utilizada para mejorar la concentración de los celos, la maduración folicular, la fertilidad y la tasa ovulatoria, en dosis que varían de 200 a 600 unidades internacionales (UI). Según raza, peso de la animal, época del año, lactancia, efecto de macho y otros factores ambientales (Boscos C.M. y cols., 2002).

2.2.12. Micro ambiente folicular.

Inmediatamente antes de la ovulación cambia en el folículo que determine las células de la granulosa pierden su capacidad de secretar estrógeno y comienzan a producir y libera progesterona, al mismo tiempo que se debilita la pared del folículo de forma de forma que está se rompa y puede producirse la liberación de oocito. A partir del pico de LH, aun antes de que ocurra la ovulación, las células de la granulosa comienzan a transformarse en tejido luteal (Durán, 2013).

La elasticidad del folículo permite que a pesar de que aumente el volumen de líquido folicular durante el crecimiento, la presión intra folicular, se mantenga estable. Esto se puede atribuir a que consecuencia de un edema invasivo, disminuye la cohesión entre las células de la teca externa. La ruptura final de folículo se origina en la desintegración del tejido conectivo del mismo, producto de enzimas proteolíticas capaces de romper las uniones de las fibra colágenos del tejido conectivo que ha sido detectado en los fibroblastos tecalis que cubren la pared del folículo (Soria, 2013).

2.2.13. Fase luteal.

En la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se produce una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permite que las células foliculares se transforman en células luteales cambios que finalizan al 7 día con un cuerpo funcional (Brito M., 2013).

Esta fase se caracteriza por el dominio del cuerpo lúteo. El mantenimiento del cuerpo lúteo, así como la síntesis de progesterona está ligado a la hormona LH que es progesterotrofica y luteotrofica (Mendoza et. al., 2012).

2.2.14. Luteolisis.

La secreción de $\text{PGF2}\alpha$ por el útero causa la regresión del CL y consecuentemente finaliza la fase lútea. Después de aproximadamente 14 días baja la influencia de la progesterona secretada por el CL, el endometrio secreta pulsos de $\text{PGF2}\alpha$, tiene una duración de 6 a 36 horas aproximadamente. En los rumiantes la $\text{PGF2}\alpha$ llega al ovario a través de una difusión local anterior venosa también llamado mecanismo de contra corriente. Específicamente la $\text{PGF2}\alpha$ pasa a la vena útero – ovárica, hacia la arteria ovárica con la cual se encuentra en íntima relación (Ginther O., 1989).

2.3. Efecto hormonales en el útero durante el ciclo estral.

La estructura dominante en el ovario es el CL, por consiguiente la hormona reproductiva principal es la progesterona. El útero se prepara una posible gestación, por ello disminuye su motilidad, a través de un efecto hiper polarización de las fibras miometriales y de disminuir la cantidad de unión es estrechas entre ellas, dificultándose la difusión de los estímulos eléctrico; mantiene cerrado el cérvix, con formación del tapón mucoso; estimula el desarrollo de las glándulas endometriales y la síntesis de la llamada leche uterina, por lo contrario la fase folicular es el periodo desde la regresión del CL hasta la ovulación (Borges et. al., 2003).

2.4. Dinámica folicular ovárica.

Una onda de crecimiento folicular lo involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículo, 2 a 3 días son detectados por ultrasonografía a un diámetro de 3 a 4 mm. La velocidad de crecimiento es similar a dos días, está caracterizado por el desarrollo de un gran folículo dominante, el cual no ovula todo si ocurre la fase luteal (Rivadeneira, 2013).

El folículo dominante de la primera onda será anovulatorio, porque se desarrolla durante la fase lútea. En las vaquillas la desviación de la tasa de crecimiento de los dos folículos de mayor diámetro del futuro folículo dominante 8,5mm y del subordinados 7,7mm respectivamente, 2 a 3 días después de iniciada la oleada (Borges et. al., 2003)

La segunda onda comenzará día 9 o 10 para los ciclos de 2 ondas y el día 8 ó 9 para los ciclos de tres ondas. En estos últimos la tercera onda emergen en el día 15 ó 16, pero la segunda onda emerge 1 o 2 días más temprano en los animales con tres ondas que en los 2 ondas. Además existe una gran variabilidad individual en cuanto al día de emergencia en la segunda onda que comenzar entre los días 6 a 12 (Borges et. al., 2003).

La maduración del ciclo estral de la vaca depende principalmente de su patrón de desarrollo folicular para ser de 18 a 20 días (dos ondas) o de 21 a 23 días (tres ondas). En ambos casos, el folículo dominante en el momento que ocurre la luteólisis, no hay diferencia de fertilidad entre las vaquillonas de dos ondas y tres ondas (Borges et. al., 2003).

2.5. Utilización de Dispositivos con progesterona

La incorporación de técnicas diseñadas para el control de la dinámica folicular y la ovulación en los últimos años ha reducido los problemas asociados con la detección de celo y permite sintetizar en gran medida los trabajos reproductivos (Bó, G.A.; Col 2002).

Es posible optar por distintos tratamientos de sincronización de los que van desde los más simples, que utilizan inyecciones periódicas de $PGF2\alpha$, a los más complejos, que utilizan además GnRH dispositivos no progesterona. La adición de gonadotropina coriónica equina (eCG) a los tratamientos con dispositivos con progesterona y estradiol ha brindado la posibilidad de aplicar la IATF con altas tasas de preñez (Bó, G.A.; Col 2002).

2.5.1. Dispositivo de liberación de Progesterona (CIDR)

El tratamiento con 1,38 g de progesterona (CIDR) resulto en perfiles menos de concentración de progesterona en plasma durante 21 días, lo que indica que los dispositivos que poseen mayor cantidad de progesterona liberaron por un periodo más prolongado que los dispositivos con menor cantidad de progesterona. Los tratamientos consisten en la inserción de un dispositivo de liberación de progesterona y en el administración de estradiol el día 0 (para sincronizar la emergencia de la onda folicular y evitar el desarrollo de folículos persistentes), PGF2 α al momento de la remoción del dispositivo los días 7 u 8 (para asegurar la luteólisis) y la subsecuente aplicación de una dosis menor de estradiol a los 24 horas más tarde o GnRH/LH 48 a 54 horas más tarde para sincronizar la ovulación. Utilizando este protocolo y obtuvieron tasas entre 35 y 55%. Las tasa de preñez estuvieron principalmente influenciado por el score de condición corporal de los animales sincronizados (Martínez, col. 2002).

2.6. SINCRONIZACIÓN DE CELO Y OVULACIÓN

2.6.1. Hormona Prostaglandina F2 α (PGF2 α)

La prostaglandina F2 α (PGF2 α) ha sido el tratamiento comúnmente para la sincronización del celo en bovinos. Los primeros estudios mostraron que la madurez del cuerpo lúteo (CL) en los momentos del tratamiento con PGF2 α tenía influencia luteolítica y que la PGF2 α no inducía la luteólisis de manera efectiva durante los primeros 5 a 6 días del celo (Momont, H.W, Seguin, B.E. 1984).

Los estudios en los que se utiliza la ecografía en tiempo real revelaron que el intervalo desde el tratamiento con PGF2 α hasta la manifestación del celo y la ovulación está determinado por las fases de desarrollo del folículo dominante en el momento del tratamiento (Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1991). Este intervalo refleja el tiempo necesario para que el folículo dominante de la onda nueva crezca y se desarrolle con un tamaño preovulatorio y afirma que la detección eficaz de celo es esencial para la lograr altas tasa de preñez en programas de sincronización utilizando PGF2 α .

2.6.2. Protocolo con hormona liberadora gonadotropina (GnRH)

Este protocolo de tratamiento consiste de una inyección de GnRH seguida de PGF2 α a 7 días más tarde y una segunda inyección de GnRH a 48 horas después de tratamiento con PGF2 α en los protocolos de Ovsynch (GnRH+PGF2 α +GnH), las vacas inseminadas a tiempo fijo al momento de la segunda GnRH, mientras que en los protocolos, las vacas son inseminadas a tiempo fijo a 16 horas después de la segunda GnRH. (Pursley, J.R., Mee, M.O. (Wildeus., 2012).

2.6.3. Tratamiento Ovsynch (GnRH+PGF2 α +GnRH)

Se ha demostrado que la fase del ciclo estral en el momento en el que se administra la GnRH afecta los resultados del programa (GnRH + PGF2 α + GnRH). Si se administró GnRH durante la primera fase de crecimiento del folículo dominante. Los bovinos responden de manera más consistente a los protocolos con GnRH, si esto se inicia entre los días 5 y 12 del ciclo; esto se puede lograr con la pre sincronización antes de la primera inyección de GnRH. Se ha demostrado que la pre sincronización con 1 o 2 dosis de PGF2 α (con una diferencia de 14 días), mejora la tasa de preñez en los protocolos de IATF con GnRH (Moreira y otros 2001).

2.6.4. Tratamiento con Dispositivos de liberación de progesterona, estradiol y eCG.

La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de progesterona dio como resultado un aumento en la concentración de progesterona en plasma y en la tasa de preñez. Ver tabla 1 y 2.

Tabla 1. Tiempo de onda folicular.

Efectos	Vacas con una onda folicular nueva	Emergencia de la onda folicular (día)	Rango (días)
BE	15/20 (75%)	3,8 ± 0,2 ^a	3 a 6
GnRH	18/20 (90%)	1,6 ± 0,2 ^b	1 a 4

Fuente: (Moreno, D., y otros 2001).

Tiempo de emergencia de la onda folicular, tratados con dispositivos de liberación de progesterona y 2 mg hormona benzoato de estradiol (EB) ó 50 mg de Lecirelina (GnRH) en día 0. a, b las medias diferentes significativamente (P < 0,01).

Tabla 2. Tiempo de ovulación y características del folículo ovulatorio.

Efectos principales	Vacas que ovularon	Intervalo desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación (h)	Diámetro del folículo al momento de la remoción del dispositivo (mm)	Diámetro del folículo al momento de la ovulación (mm)	Crecimiento del folículo desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación
BE	17/20 (85%)	71,3 ± 1,3 ^a	12,6 ± 1,0	15,5 ± 0,9	0,8 ± 0,2
GnRH	19/20 (95%)	75,2 ± 1,6 ^b	13,1 ± 1,5	15,6 ± 0,5	0,8 ± 0,1
eCG	18/20 (90%)	73,3 ± 1,8	12,2 ± 0,5	15,0 ± 0,7	0,9 ± 0,1
Sin eCG	18/20 (90%)	73,3 ± 1,8	13,5 ± 1,0	16,2 ± 0,7	0,7 ± 0,1

Fuente: (Moreno, D., y otros 2001).a. b. de las media tendieron a diferir (P< 0,09).

En las vacas tratadas con un dispositivo de liberación de progesterona y BE ó 50 - 1,9 mg de Lecirelina (GnRH) al momento de la inserción del dispositivo y luego de la remoción del mismo con o sin la adición de eCG al momento de la remoción del dispositivo. Estos resultados demuestran entre 90 y 105 días diferencia más notoria en las vacas tratadas con BE presentaron una onda folicular nueva, que emergió entre 2 y 5 días más tarde (Moreno, D., y otros 2001).

2.7. Protocolos de Sincronización

2.7.1. Ovsynch (GnRH+PGF2 α +GnH)

La base de este protocolo es sincronizar la onda folicular con GnRH (100 μ g) al inicio del tratamiento, lo cual provoca la ovulación o luteinizante del folículo dominante con la independencia de la existencia del cuerpo lúteo, desarrollándose una nueva onda folicular 2 a 3 días más tarde (Thatcher W., 1996). Luego 7 a 9 días después provoca la luteólisis mediante la aplicación de PGF2 α (25 mg). Utilizando la según dosis de GnRH (100 μ g), después de la aplicación de PGF2 α se demostró una alta sincronización de la ovulación en un periodo de 8 horas. Inseminar a las vacas tratadas con el método GPG a tiempo prefijo, sin necesidad de detectar celo; tiempo optimo 16 a 18 horas (Pursley J., 1997).

GnRH	PGF2α	GnRH	IATF
0.....	7.....	9.....	10
	Días	Días	16 horas.

2.7.2. PROGESTERONA (P₄) – (GnRH+PGF2 α +GnRH)

Las vacas tiene el dispositivo de P₄ colocado a la vagina en el momento que se coloca la primera GnRH (100 μ g) y el dispositivo se retira durante el tratamiento con PGF2 α (25 mg), se aplica la segunda GnRH (100 μ g) a las 48 horas de la PGF2 α , realizando IATF 16 horas de la segunda GnRH.

GnRH	PGF2α	GnRH	IATF
0.....	CIDR.....	7.....	9.....
	Días	Días	16 horas.

La combinación de un progesterona colocada entre la primera GnRH y PGF2 α mejora la tasas de preñez (55,2% vs 34,7%; n=182) para las vacas tratadas y no tratadas con dispositivos de liberación progesterona en el momento de la primera GnRH (Pursley J., 2001).

2.7.3. Progesterona - GnRH + PGF2 α + GnRH

La combinación del progesterona con el método GnRH + PGF2 α + GnRH con una IATF a las 56 horas de la retirada del progesterona, coincidiendo con la aplicación del GnRH, se revela como un método de elección en el manejo reproductivo de vaquillonas, mejorando la tasa de preñez de 39%, en animales de control tratados con GnRH al 68% en vaquillonas tratadas con GnRH/P₄ (Martínez M. 2002).

GnRH	PGF2α	GnRH
0.....CIDR.....7.....9		
	Días	Días IATF

2.7.4. Pre – Synch Ovsynch

Consta de dos inyecciones de PGF2 α 25mg., administradas cada 14 días siendo la segunda inyección administrada 12 días antes del inicio del protocolo Ovsynch.

PGF	PGF	GnRH	PGF	GnRH	IATF
0.....14.....28.....35.....37.....38					
14 días	11 – 14 días.	7 días	48 horas	16 horas.	

Este protocolo se inicia entre los días 5 – 12 del ciclo estral, el diámetro folículo ovulatorio es menor, pero las tasa de preñez tienden a ser mayor que en otros estudio del ciclo, la tasa de preñez de vacas se incrementan en un 13% con una inyección de PGF2 α antes del protocolo Ovsynch (Cartmill J., 2000).

3. MATERIALES Y METODOS.

3.1. LUGAR DE ESTUDIO.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, propiedad de la Universidad Nacional del Altiplano, conducido por la Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el distrito Umachiri, provincia Melgar del Departamento Puno Perú. El mismo que se encuentra ubicado a 3 970 msnm. a $14^{\circ} 47' 37''$ latitud sur y $70^{\circ} 47' 50''$, longitud oeste.; con una precipitación pluvial promedio de 254,9 mm (enero a mayo 2012) y 129,9 mm (junio a diciembre) y una media anual 659 mm; con una temperatura máxima de 20,04°C en el mes de Diciembre y una mínima de -18,4°C en el mes de Junio, con un promedio anual de 8°C y una humedad relativa de 53% como promedio anual (máxima 81% y mínima 18%); 12,79 horas de radiación solar anual promedio, 41% de evaporación anual promedio (SENAMHI, 2012).

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL.

3.2.1 Animales

Para el presente trabajo se utilizó 41 vacas de la raza Brown Swiss, no gestantes a las que se les practico un examen ginecológico completo haciendo uso de la ecografía transrectal, determinado estructuras ováricas sugerentes de actividad cíclica, y sin alteraciones fisiológicas que puede afectar su fertilidad, las vacas seleccionadas presentaban una condición corporal de 3,3 a 3,5 puntos en una escala de 1 a 5 (1= extremadamente delgado; 5 = muy obeso).

Los animales del experimento se mantuvieron en condiciones de pastoreo en pradera de pastos cultivados de asociación de alfalfa – dactiles por un tiempo de 6 horas diarias, el acceso al agua *ad libitum*. Además del manejo pastoril se les ofreció ensilado de avena antes del ordeño y se les suplemento con una alimentación balanceada con 14% de proteína; el ordeño se realizó dos veces por día con un intervalo entre ordeños de 12 horas. El manejo reproductivo se apoya en la técnica de la inseminación artificial, la cual se realizó 12 horas después de detección de celo.

La distribución de animales para cada protocolo fue al azar el mismo que se muestra en el cuadro siguiente:

Tabla 3. Distribución de animales según protocolo de sincronización

Protocolo de sincronización	P ₄ + GnRH + eCG	P ₄ + Benzoato de estradiol + eCG	Ovsynch GnRH+PGF2 α +GnRH
Nº de vacas	15	16	10

Elaboración propia

3.3. METODOLOGIA.

3.3.1 Examen ginecológico por ecografía.

Se evaluó y realizó un descarte de enfermedades reproductivas son: brucelosis, leptospirosis, tricomoniasis, campilobacteriosis, rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), diarrea viral bovina (BVD), mediante el registro de los bovinos del centro experimental de Chuquibambilla. Se determinó las características de las estructuras ováricas folículos y cuerpos lúteo (Townson D.H., 2002).

Se inicia con el armado del ecógrafo, (conexión del transductor a el monitor del ecógrafo), seguidamente la conexión del equipo al afluyente eléctrico. La protección del transductor se realizó colocando el mismo dentro de una funda plástica conteniendo gel ecográfico.

Se realizó la eliminación de las heces por estímulo a mano enguantada, para facilitar el trabajo.

Se realizó una limpieza de la región perianal con agua tibia, una vez limpio el recto y la zona perianal del animal se introdujo el transductor lineal protegido y se realizó la ecografía transrectal.

3.3.2. Protocolo de sincronización.

Protocolo 1: Protocolo Progesterona (P₄) – GnRH - eCG (Bryan et. al. 2013)

- El día de aplicación del Progesterona 1,9 g se le denominó como día 0, en la que se le administro 100 µg de GnRH por vía intramuscular.
- El día 7 se retiró el P₄, realizando una suave tracción del cabo que queda libre, además se le administró 25 mg de PGF₂α más 400UI de eCG, ambos por vía intramuscular.
- La inseminación se realizó 60 horas después de la aplicación de eCG.

Protocolo 2: Protocolo Progesterona (P₄) – Benzoato – eCG (Bryan et. Al. 2010)

- El día 0, se colocó el P₄ 1,9 g con ayuda de un aplicador específico para el mismo, junto a ello se le administró 2 mg de Benzoato de Estradiol por vía intramuscular.
- El día 8 se retiró el P₄, realizando una suave tracción del cabo que queda libre, además se le administro 25 mg de PGF₂α más 400UI de eCG, ambos por vía intramuscular.
- El día 9 se administró 1 mg de Benzoato de Estradiol por vía intramuscular.
- La inseminación se realizó 60 horas después de la aplicación de eCG.

Protocolo 3: Protocolo GnRH+PGF₂α+GnRH (Pursley et. al. 1997).

- El día 0, se aplicó una inyección de 100 µg de GnRH por vía intramuscular.
- El día 7, se aplicó 25 mg de PGF₂α, por vía intramuscular.
- El día 9 se administró 100 µg de GnRH, por vía intramuscular.
- La inseminación se realizó 20 horas después de la aplicación de la segunda inyección GnRH.

-

Protocolo 1: (P₄ – GnRH – eCG)

1,9 g.P ₄	Retiró P ₄	IATF
100 µg.GnRH	25 mg.PGF2α+400UI.eCG	Después de eCG
0.....	7.....	60.....
Día	Día	horas

Protocolo 2: (P₄ – Benzoato – eCG)

1,9 g.P ₄	Retiro P ₄	1 mg. BE	IATF
2 mg.BE	25 mg. PGF2α +400UI.eCG		Después de eCG
0.....	8.....	9.....	60.....
Día	Día	Día	hora

Protocolo 3: (GnRH+PGF2α+GnRH)

			IATF
100 µg.GnRH	25 mg.PGF2α	100 µg.GnRH	Después de GnRH
0.....	7.....	9.....	20.....
Día	Día	Día	horas

3.3.3. Aplicación del dispositivo intravaginal hormona progesterona (CIDR)

- Se sujetaron e inmovilizaron a las vacas seleccionadas para el trabajo.
- Se usaron guantes de látex como protección para manipular el dispositivo y se preparó un recipiente de agua limpia con solución desinfectantes (Dodigen), donde se lavó el aplicador entre una aplicación y la siguiente.
- Se apartó la cola del animal hacia un lado y se realizó la limpieza de la parte externa del tracto reproductivo de la vaca con agua, jabón y se secó el área con papel toalla.
- Se colocó el dispositivo intravaginal dentro del aplicador, con el cabo trasero a lo largo de la ranura. Las dos aletas se juntaron y sobresalieron unos dos centímetros y medio por encima del aplicador.
- Se aplicó abundante cantidad de lubricante en la punta del aplicador y 4ml de antibióticos, Se abrieron los labios vulvares y se deslizó el aplicador, induciéndolo con un suave ángulo hacia arriba, realizando movimientos rotatorios, por encima de la pelvis y empujando hasta llegar a tocar el fondo de la vagina o sentir un poco de resistencia.
- Se depositó el dispositivo intravaginal apretando el émbolo del aplicador y luego retirando lentamente el cuerpo del aplicador.

3.3.4. Retiro del CIDR (Pharmacia y Upjohncompany, 2002)

- Se usó guantes de protección para manipular el dispositivo.
- Para retirar el dispositivo intravaginal, basto con tirar del cabo en forma suave pero firme.
- Se colocó los dispositivos intravaginales usados en un recipiente de plástico con agua para su limpieza.

3.3.5. Aplicación de GnRH, PG F2 α , estradiol y la eCG (Sumano, y Ocampo, 2006).

- Se sujetó a las vacas seleccionadas para el trabajo.
- Se cargó las hormonas en las jeringas descartables sin exponerlas al sol, y se usó una jeringa para cada vaca y para cada hormona.
- Antes de inyectar las hormonas se desinfecto la zona, con una torunda impregnada de alcohol yodado, la aguja se introdujo formando un ángulo de 90° (por lo que es indiferente hacia dónde mire el bisel) con un movimiento firme y seguro, en un solo acto. Antes de introducir la hormona se aspiró para ver si hemos conectado con un vaso.
- Se colocó la torunda con el antiséptico justo sobre el punto de la inyección y retiramos la aguja con suavidad y rapidez.
- Se realizó una suave presión mientras se fricciónó ligeramente la zona para evitar que la hormona se acumule y así favorecer su absorción.

3.3.6. Inseminación artificial.

La inseminación artificial se realizó a tiempo fijo según lo establecido en cada protocolo de sincronización. Se inició con la preparación de la vaca, haciendo la higiene cuidadosa y meticulosa de los órganos reproductivos externos los que se secaron con papel toalla; a continuación se descongeló el semen a 37°C por 30 segundos, se secó la pajilla y se procedió con el armado del aplicador de Cassou que previamente se temperó a 37°C, finalmente con la mano enguantada se realizó la fijación de la cérvix y el semen fue depositado en el cuerpo del útero (Holy, 1999).

3.3.7. Desarrollo folicular y lúteal.

El desarrolló folicular se monitoreo con un ecógrafo veterinario (Medisonsystems), usando el modo B en tiempo real; el que contó con un transductor lineal multe frecuencia de 3,5 a 7,5 MHz de potencia. Antes de iniciar con el procedimiento de la ecografía el transductor se protegió con una funda plástica que contenía gel ecográfico en su interior (carboximethylcelulosa), seguidamente se calibro la potencia del transductor a 7,5 MHz, con la mano derecha enguantada

se sostuvo el transductor y se lubricaron ambos con aceite mineral, a continuación se introdujo la mano más el transductor al recto del animal, el cual se encontraba sujeto en una manga de trabajo construida para este fin (Perea et al., 1998).

Los ovarios fueron examinados dorso – ventralmente y latero – lateralmente, para ello se fijó el ovario debajo del transductor en cada una de estas posiciones, las imágenes proyectadas fueron congeladas para realizar el recuento y la medición de las estructuras ováricas que fueron contados por observación directa de la imagen proyectada, para ello se utilizó la opción *measure* del ecógrafo y se midió el diámetro ya sea de los folículos o del cuerpo lúteo, finalmente las medidas fueron registradas en los formatos estructurados para éste fin.

La medición del diámetro, ya sea folículo o cuerpo lúteo se determinó ubicando los puntos de medición en los bordes más extremos de las estructuras; por la potencia utilizada (7,5 MHz) se pudo distinguir folículos con un diámetro \geq a 3 mm. La evaluación por ultrasonografía se realizó al inicio de los protocolos de sincronización y el día de inseminación (Perea et al., 1998).

3.3.8. Diagnóstico de gestación

Se realizó el diagnóstico de gestación a los 30 días post servicio, en todas las vacas que fueron servidas y en las que no mostraron retorno de celo, para ello se utilizó el ecógrafo veterinario con un transductor lineal de 7,5 MHz de potencia, el cual fue colocado por vía rectal con la misma técnica descrita para el examen ginecológico por ecografía. Con el diagnóstico de gestación de las vacas se determinó la tasa de preñez a los 30 días post servicio con la fórmula siguiente (Johnson G.A., 1999).

Fórmula 1.

Determinación de la tasa de fertilidad/preñez se realizó a los 30 días post servicio.

$$\text{Tasa de fertilidad/preñez} = \frac{\text{Número de vacas fértiles/preñadas}}{\text{Número total de vacas inseminadas}} \times 100$$

3.3.9. Análisis estadístico

Para las variables diámetro folicular y tamaño de cuerpo lúteo, se determinó el promedio y desviación estándar, se hizo la comparación de medias de ambos tratamientos haciendo uso de un diseño completo al azar, cuya fórmula es la siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Para evaluar las diferencias en la tasa de fertilidad, se utilizó una prueba de Chi – Cuadrado, cuyo modelo es el siguiente:

$$X_c^2 = \frac{(O_i - O_e)^2}{O_e}$$

$X_c^2 =$	chi cuadrada calculada
$O_i =$	valores observados de la tasa de preñez.
$O_e =$	Valores esperados de la tasa de preñez.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1. Resultados

4.1.1. Diámetro folicular.

En la tabla 4, se muestran los resultados de diámetro folicular en el que no se observa diferencia significativa ($P>0,05$), sin embargo hay una ligera ventaja numérica en el diámetro folicular de vacas sincronizadas con Ovsynch (GnRH+PGF 2α +GnRH) que obtuvieron en promedio $15,00 \pm 5,18$ mm de diámetro folicular el día de la inseminación de las vacas, seguido por el diámetro obtenido por las vacas sincronizadas con P $_4$ más GnRH que obtuvieron $14,53 \pm 5,28$ mm de diámetro folicular y el mayor diámetro folicular lo mostraron las vacas sincronizadas con P $_4$ mas benzoato de estradiol que obtuvieron $15,18 \pm 6,31$ mm de diámetro folicular.

Tabla 4. Diámetro folicular en vacas Brown Swiss

Detalle	T1	T2	T3
N	15	16	10
Diámetro (mm)	$14,53 \pm 5,28$	$15,18 \pm 6,31$	$15,00 \pm 5,18$
Val. Máximos	30	24	23
Val. Mínimos	9	7	8

Los resultados encontrados son similares a los reportados por Sartori (2004), el diámetro folicular de $16,8 \pm 0,5$ mm en la función ovárica y los niveles sanguíneos hormonales en las vacas.

La diferencia folicular por el uso de GnRH que tiene al propiedad de causar la ovulación, generando una nueva onda folicular pues el uso de ésta hormona en los protocolos de sincronización, produce un incremento en los niveles de FSH, generando la emergencia de una nueva onda folicular con la emergencia de un folículo dominante como lo mencionaron Pursley et al., (1997) y Macmillan et al., (1996).

Por otro lado la disminución en el tamaño de los folículos también puede ser debido a la aplicación del dispositivo intravaginal de liberación controlada por progesterona, el mismo que minutos después de ser introducido incrementa los niveles de progesterona en la sangre a valores supraluteales, conllevando a que el folículo dominante a la regresión; como consecuencia de ello se origina un cese de la secreción de productos foliculares como son estrógeno e inhibina principalmente, además de un aumento de los niveles de FSH que van ser los responsables del comienzo de la emergencia de una nueva onda folicular y crecimiento de la cohorte de folicular tal como lo afirma (Ginther et al., 1989).

De otra parte la tendencia de crecimiento de los folículos en los protocolos de sincronización sería debido al uso del benzoato de estradiol más los dispositivos de progesterona, tal como señala (Fricke P.M., 1999).

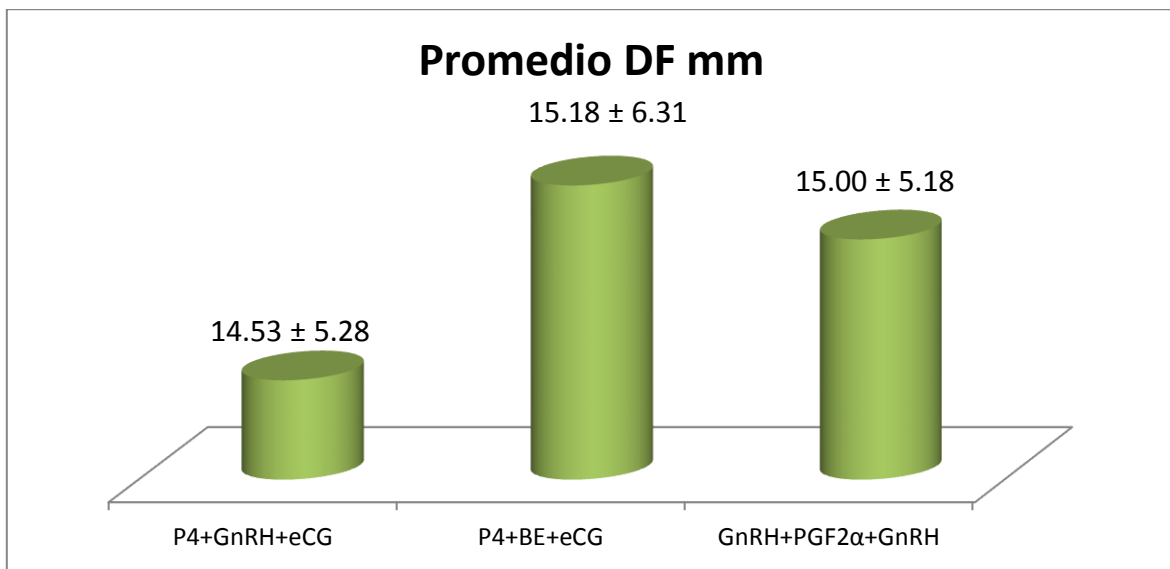


Fig. 1. Diámetro folicular.

Figura No 1. Indica con el tratamiento progesterona – Benzoato – eCG obtuvo $15,18 \pm 6,31$ mm y $15,00 \pm 5,18$ mm son similares con Ovsynch (GnRH+PGF2α +GnRH) e inferior $14,53 \pm 28$ mm del tratamiento P₄ – GnRH – eCG respectivamente. Probablemente debido al desarrollo de los folículos por los protocolos que asimila cada animal.

En T1 la disminución diámetro folicular a la aplicación del dispositivo libera P_4 probablemente se debería a un incremento en la concentraciones plasmáticas de P_4 y con ello un aumento de en la frecuencia de pulso de LH lo que provoca la regresión del folículo (Lucy, et al., 1992). Permite pensar que se indujo la regresión de los folículos en crecimiento (FSH-dependiente) y no se permitió el fenómeno de la ovulación en los folículos dominantes (LH- dependiente) (Bó G. A. y Tribulo, 2002).

Del T2 lo que indica la tendencia de crecimiento folicular debido a la BE + P_4 hormonas que permiten un aumento uniforme de la nueva cohorte de foliculos (Fernández 2003). Con la aplicación de eCG, favorece el desarrollo folicular, esta hormona interviene en la síntesis de mRNA que codifica para los receptores de hormonas gonadotropina a nivel folicular (Sartori 2004).

Una de las diferencias foliculares en T3 por el uso de GnRH que tiene la propiedad de causar la ovulación, que producen incremento de los niveles de FSH generando el Folículo dominante (Pursley, et al., 1997).

Los resultado obtenidos son similares reportado por Quispe (2013), $15,8 \pm 2,2$ mm diámetro folicular debido a la presentación quistes foliculares los cuales pueden inhibir el crecimiento de otro folículo (Pérez et al., 2001).

4.1.2. Diámetro Cuerpo Lúteo.

En la tabla 5, se muestran los resultados de diámetro de cuerpo lúteo, en el que no se pudo observar diferencia significativa, sin embargo; hay una ligera ventaja numérica en el diámetro cuerpo luteo de vacas sincronizadas con progesterona - Benzoato de estradiol – eCG que obtuvieron en promedio $17,75 \pm 4,02$ mm de diámetro de cuerpo lúteo, similar al diámetro obtenido por las vacas sincronizadas con GnRH+PGF 2α +GnRH ($17,00 \pm 1,65$ mm de diámetro del cuerpo lúteo) y el menor diámetro del cuerpo lúteo lo mostraron las vacas sincronizadas con progesterona más benzoato de estradiol que obtuvieron $15,91 \pm 2,89$ mm de diámetro respectivamente.

En el Tratamiento uno del diámetro del cuerpo lúteo se aplicó GnRH provocando un incremento de liberación de LH y este tipo provoca la elevación rápida de esteroides (estradiol y progesterona), a mayor desarrollo de CL produce niveles de progesterona plasmática, que se espera una condición favorable uterina para el desarrollo embrionario (Kastelic, 1991).

La aplicación eCG tiene acción luteinizante, manteniendo el crecimiento de los folículos e incrementa el número final de ovulación, y esta acción luteinizante promueve la formación de un mejor cuerpo lúteo que genera concentraciones plasmáticas de progesterona (Shendon y Dobson, 2000).

Así al ser usado en vacas destinadas a ser reproductoras en un programa de transferencia de embriones demostró forma de un cuerpo lúteo más voluminoso y con mejores niveles séricos de progesterona (Bó et al., 2002).

Respecto del tamaño de los mismos, existe reportes que indican que su tamaño es de $24,1 \pm 0,4$ mm en vacas que tiene una ovulación simple disminuye en la medida que se produce más ovulaciones, así para las vacas que tiene dos ovulaciones el promedio es de $20,3 \pm 0,2$ mm y en vacas con ovulaciones triple es de $18,1 \pm 0,3$ mm (Echtenkamp et al., 2009).

Tabla 5. Diámetro de cuerpo lúteo en vacas Brown Swiss

Detalle	T1	T2	T3
N	15	16	10
Promedio (mm)	$17,75 \pm 4,02$	$15,91 \pm 2,89$	$17,00 \pm 1,65$
Val. Máximos	24	19,5	19,5
Val. Mínimos	12	11,5	14,5

Estudio realizados en tabla 5 son datos similares en comparación del cuerpo lúteo que obtuvo $16,5 \pm 3,8$ mm de diámetro reportadas por (Perea et al 1998).

A mayor desarrollo de cuerpo lúteo produce niveles de progesterona plasmática de 1,22 ng/ml, pasado los 14 días el cuerpo lúteo mide 9 mm de diámetro y genera una concentración sanguínea de 3,05 ng/ml. Al haber una mayor producción de progesterona plasmática se esperaría unas condiciones uterinas favorables para el desarrollo embrionario temprano (Kastelic, 1990). Se confirmó la ovulación por la ausencia del folículo preovulatorio y el desarrollo de un cuerpo lúteo a los siete días después del estro con 16,5 mm de diámetro (A. de Ondiz 2002).

Con la aplicación 25 mg PGF₂ α causa la rápida regresión del CL. Una rápida declinación en la producción de progesterona y cumple un rol importante en interior de la ovulación. Al inicio de la luteinización las células de la teca folicular sufre un proceso hiperplasia e hipertrofia, para generar células luteales pequeñas (Acosta, 2004).

Del tratamiento tres los niveles de concentración del hormona GnRH, está influenciado por el efecto individual, medio ambiente y la época del año (Palma G., 2001). El uso de 2 mg de Benzoato de Estradiol al momento de la aplicación del dispositivo intravaginal lo considera como día 0, provoca el inicio nueva onda folicular mientras que la aplicación del 1 mg de Benzoato de Estradiol a las 24 horas de la extracción del dispositivo intravaginal produce la luteólisis, induce un pico preovulatorio de LH a través del feed back positivo sobre la secreción de GnRH y consecuentemente de LH, lo que induce a las 70 horas de extraído el dispositivo intravaginal.

Debido al incremento en la síntesis de mRNA que codifica para receptores de FSH y LH, aumenta la densidad de células granulosas especializadas para el desarrollo del cuerpo lúteo (Smith, et al., 1994). La caída de del tamaño de cuerpos lúteos después del día del dispositivo intravaginal se produce por el efecto de la caída de los niveles supra luteales de progesterona sinergisados con la aplicación de 25 mg de PGF₂ α ; causando la rápida regresión del cuerpo lúteo, con una rápida declinación en la producción de progesterona

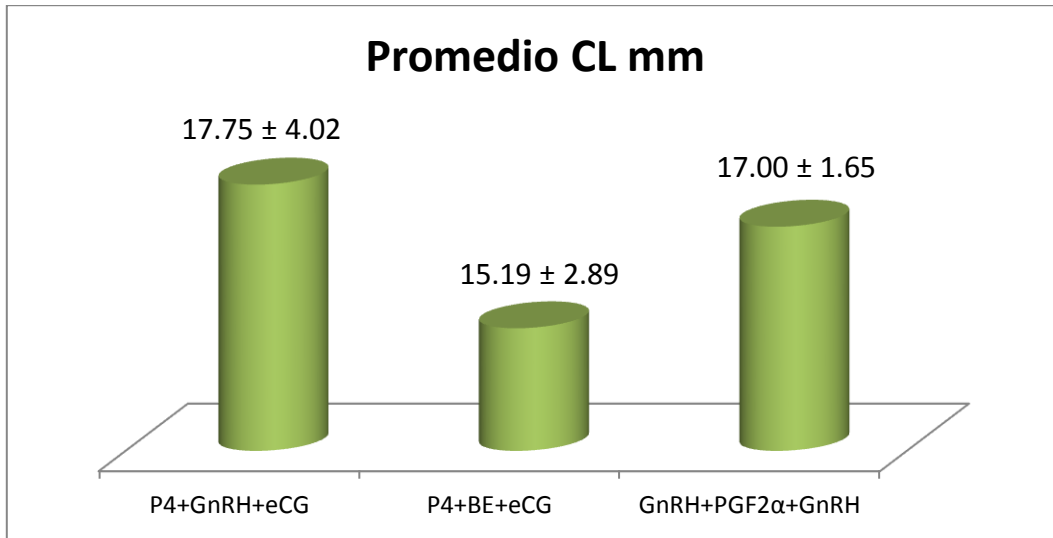


Fig. 2. Diámetro del cuerpo lúteo.

Figura No 2. Señala el tratamiento P₄ – GnRH – eCG 17,75 ± 4,02 mm de diámetro mayor diámetro del cuerpo lúteo que al comparación con GnRH+PGF2α+GnRH 17,00 ± 1,65 mm e inferior con progesterona – Benzoato – eCG 15,19 ± 2,89 mm de cuerpo lúteo respectivamente.

El primer y tercer protocolo (T1, T3) de sincronización existe un aumento probablemente provocando la liberación inmediata de LH, incrementando en la circulación de periférica a 30 minutos después de la aplicación de GnRH y persiste hasta 240 minutos de la misma, este tipo de LH provoca la elevación de rápida de esteroides gonadales (estradiol y progesterona) y de prostaglandina en el líquido folicular desempeñando en esta ultima un rol primordial en el interior de la ovulación, según (Hernández y Zarco, 1998).

4.1.3. Tasa de Fertilidad/preñez.

En la tabla 6, se muestran los resultados de tasa de fertilidad/preñez en el que no se pudo observar diferencia significativa al ($p > 0,05$), con el tratamiento GnRH+PGF2α+GnRH se ha obtenido 70,00% (7/10) de tasa de preñez y sin embargo hay una ligera similitud con progesterona - Benzoato-eCG que obtuvieron 68,75% (11/16) de tasa de preñez, seguido del tratamiento P4+GnRH+eCG se ha obtenido 66,67% (10/15) de tasa de preñez.

Tabla 6. Tasa de fertilidad/preñez en vacas Brown Swiss

Detalle	T1	T2	T3
Inseminadas	15	16	10
Preñadas	10	11	7
Tasa de fertilidad/preñez %	66.67	68.75	70.00

Los resultados obtenidos superan los reportados por Fricke y Wiltbank (1999) quienes concluyeron que incorporar el progesterona con el protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH puede ser una solución para las vacas que no han ovulado al final del periodo voluntario de espera. El efecto con GnRH+PGF2 α +GnRH en la tasa de concepción a los 28 días posteriores a la (IATF) fue variable en vacas ciclando (49,1%) y en vacas con anestro (50,8%). los resultados de la aplicación del protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH fueron 43.5% para las vacas ciclando y para las vacas en anestro un 40,9% de concepción. Los resultados encontrados del presente estudio son superiores a lo reportados por (Purley et al., 1997).

Quienes usando una combinación GnRH mas prostaglandina obtuvo una tasa de preñez del 53% a los 100 días de gestación, a los reportado por Bryan et al., (2013), quienes usando progesterona (CIDR) más eCG, obtuvieron una tasa de preñez de 58.6% evaluada a los 28 días post servicio reportando una tasa de preñez 35% a los 41 días post inseminación usando progesterona con GnRH, ciprionato de estradiol y PG, reportado por Leboeuf et al., (2003), quienes usando protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH más progesterona obtuvieron el 54% de gestación.

Los resultados se pueden ver afectados por la presencia de un cuerpo lúteo funcional y en definitiva según el periodo de baja respuesta que el animal no manifieste ni ovule luego de inyectada la PGF2 α (Fortín, 1989).

Los estudios reportado por Days Grum (2007), supera al administrar GnRH al momento de introducir el implante. Este autor obtuvo un índice de gestación promedio 53,5%, con un rango de 49,1% a 57,35% quien incluyó IATF para vaquillonas con estro no detectado.

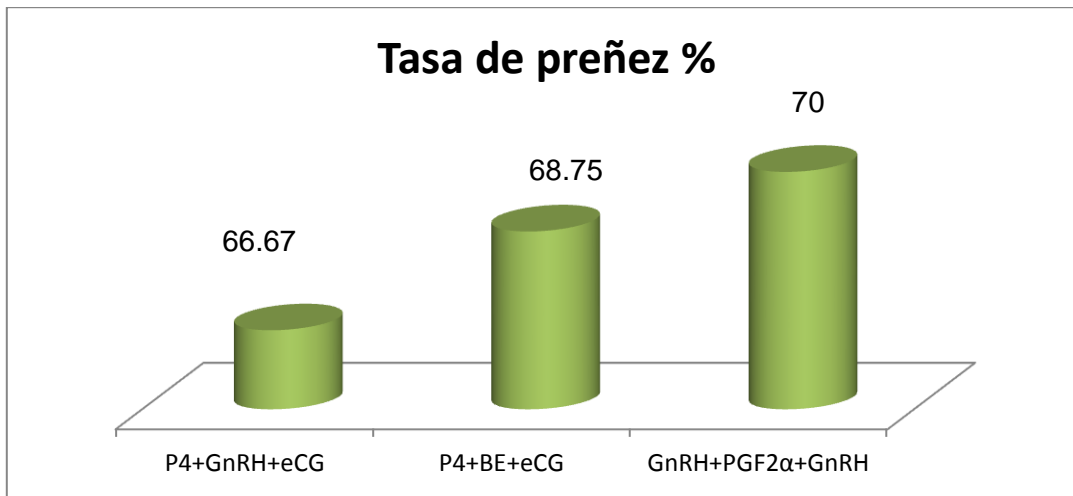


Fig. 3. Tasa de fertilidad/preñez.

Figura No 3. Demuestra el porcentaje tasa de preñez con el tratamiento P_4 – GnRH – eCG es inferior 66,67% al comparación P_4 – Benzoato – eCG 68,75% y inferior 70,00% del tratamiento GnRH+PGF2 α +GnRH, respectivamente. En el presente estudio los resultado encontrados son superiores a lo reportado por (Pursley et al., (1997) que usando GnRH mas prostaglandina obtuvo una tasa de fertilidad/preñez del 53% a los 100 días de gestación, a lo reportado por (Bryan et. al., 2013).

Quien usando P_4 + eCG, obtuvo una tasa de preñez 58,6% evaluando a los 28 días pos servicio, Galvao et al., (2004), reporta una taza de preñez del 35% a los 41 días inseminación usando P_4 con GnRH, cipronato de estradiol y PG, y a lo reportado por (Lucy et al., 1992).

Quien usando un protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH mas P_4 obtuvieron el 54% de gestación, mientras que es similar a lo reportado por (Martinez et al., 1999).

Usando un protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH mas progesterona obtuvieron 62,7% de preñez, y Chenault et al., (2003), reportado un 63% de gestación en vacas cíclicas y 59% de gestaciones en vacas anestricas tras usar un protocolo de sincronización basado en un esquema GnRH+PGF2 α +GnRH mas P_4 . (Sheldon y Dobson, 2000).

La Tasas de fertilidad/preñez del segundo tratamiento por el efecto de eCG debido a la acción de LH de la misma que permite una mayor tasa de ovulación y como se pudo apreciar un mayor crecimiento de cuerpo lúteo, hecho que recae en mayores concentraciones séricas sanguíneas de progesterona (Bó et al., 2002; Souza et al., 2009). Actualmente se utiliza dispositivos intravaginales y benzoato de estradiol estimula la secreción de inhibina, pero genera un déficit de los niveles folistatina, lo cual genera una disminución de la secreción FSH.

La buena tasa de preñez logrado, utilizando el protocolo GnRH+PGF2 α +GnRH, tiene el efecto sobre el desarrollo y madures del folículo y ovulación, lo que explica mejores concentraciones en la sangre de GnRH (Bryan et al., 2013).

4.2. Discusión.

La disminución del diámetro folicular promedio de las cavas sometidas a los protocolos aplicados del dispositivo de liberación controlada progesterona (P₄), probablemente debería a un incremento en las concentraciones plasmáticas de progesterona y con ello un incremento en la frecuencia de pulso de la LH, lo que provoca la regresión del folículo y el inicio del nuevo folículo (Lucy et al, 1992).

El hecho no observar diferencias en la respuesta ovárica lo que se refiere al diámetro folicular, se debería a que cuando se usa una combinación de la aplicación de 1,9 g de progesterona por 8 días con 2,0 mg de benzoato de estradiol al momento de la aplicación del dispositivo, genera la emergencia del nuevo folicular y después el uso del benzoato de estradiol ha demostrado ser muy efectivo en la sincronización debido a su acción sobre la secreción de la LH por la glándula pituitaria (Sagbay C. F., 2012).

La aplicación de 1 mg de benzoato de estradiol después del retiro del dispositivo reduce que la proporción de vacas que demuestre el celo espontáneamente y aumenta significativamente a la proporción de las vacas que ovulan, debido a que la última aplicación de benzoato de estradiol genera una mejor madures folicular (Verkerk et al, 1998).

Mientras que la combinación del dispositivo CIDR, o progesterona más el uso de la GnRH al momento de la aplicación del dispositivo incrementa las concentraciones séricas de progesterona y FSH, además incrementa su frecuencia de pulso, disminuye las concentraciones de LH en sangre pero no tiene efecto sobre la frecuencia de pulso de esta hormona, lo que genera la regresión o la ovulación de un folículo nuevo (Mee MO, 1993).

Las buenas tasa de preñez logradas con los protocolos de sincronización, serían consecuencia del uso de los GnRH y progestágenos que generan una sincronía en el desarrollo folicular y ovulación, propiciada en el protocolo P₄ - GnRH - eCG por la adición de la GnRH, en protocolo P₄ – BE- eCG, y en protocolo GnRH- PGF2 α – GnRH, por la aplicación del benzoato de estradiol al inicio y fin de tratamiento, lográndose obtener un tamaño adecuado de diámetro folicular (mayor 11 mm), que indica su madurez y en concentración logran tener mayor tasa de ovulación, además de ello el uso de la GnRH tiene el efecto sobre el desarrollo y madurez del folículo y ovulación, lo que explica su mejora en el desempeño reproductivo, al propiciar mejores concentraciones de la progesterona en la sangre que optimiza la tasa de concentración y la sobrevivencia de embrionarias tempranas (Bryan et al., 2013).

5. CONCLUSIÓN.

El uso de los protocolos de sincronización de celo implementados en los diferentes grupos de estudio, se llegó a las siguientes conclusiones:

- La ecografía ha permitido determinar el tamaño folicular durante el proceso de sincronización siendo para T1 (P₄+GnRH+eCG) fue $14,53 \pm 5,28$ mm, para T2 (P₄+BE+eCG) es de $15,18 \pm 6,31$ mm, y $15,00 \pm 5,18$ mm del T3 (GnRH+PGF2 α +GnRH).
- Los cuerpos lúteos de gestación tuvieron un diámetro de $17,75 \pm 4,02$ mm, $15,91 \pm 2,89$ mm, $17,00 \pm 1,65$ mm para T1, T2 y T3 respectivamente. La presentación de celo fue del 100%
- La Tasa de preñez de T1 fue 66,67%, T2: 68,75% y T3:70,00%.

6. RECOMENDACIONES.

- Es factible utilizar cualquiera de los 3 protocolos de sincronización utilizados del presente estudio, sin embargo en protocolo (GnRH+PGF2 α +GnRH) ha permitido obtener mayores tasas de preñez.
- Es importante el monitoreo ecográfico en vacas sincronizadas que permite un trabajo mucho más eficiente.
- Realizar investigaciones usando diferentes protocolos de sincronización en los diferentes pisos ecológicos y en mayor número de animales.
- Es importante evitar cualquier estrés a los animales durante el tratamiento ya que estos afectan significativamente a los resultados, debido a las grandes cantidades de cortisol secretadas.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- Acosta, T. and Miyamoto, A. 2004. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science* 82–83: 127-140.
- A. de Ondiz 2002, Sánchez,F. Perea Ganchou1,* , R. Cruz Arámbulo, G. Portillo Martínez y E. Soto Belloso. Facultad de Ciencias Veterinarias, La Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
- Bavera, G. (2005) <http://www.producción-animal.com.ar/>.Obteniendo de http://www.Producción-animal.com.ar/información_tecnica/cria/03-ciclo-estrua.pdf.
- Borges et. al., A. (2003).Follicular dynamic and luteal regression in Gir and Nelore cows after treatment with cloprostenolsodic.32(1).
- Bó, G. A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia M., Tribulo, R., Tribulo, H., Mapletoft, R., J., 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*; 57: 53-72.
- Bó, G. A. Cutaia L., Tribulo,R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda parte. *Taurus*; 15:17-32.
- Bó, G.A.¹; Cutaia, L.E¹; Souza, A. H.² y Baruselli, E. S². 2009. *Taurus*, Bs.As. 11(41):20-34. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). Zona rural, Estación Gral. Paz (5145), General Paz Córdoba, Argentina. gabrielbo@iracbiogen.com.ar . Departamento de Reproducao Animal, FMVZ- USP, Brasil.
- Boscos, C.M., Samartzi, F.C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A., Krambovitis, E., 2002. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology* 58: 1261-1272.
- Bryan MA, Bó G, Mapletoft RJ, Emslie FR. The use of equine chorionic gonadotropin in the treatment of anestrous dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. *J. Dairy Sci.*2013; 96:122–131.
- Brito, M. (2013). <http://dspace.ucuenca.edu.ec/>. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/404/1/TESIS.pdf>.

- Cárdenas, F. (2009). <http://cdigital.uv.mx/>. Obtenido de [http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/157/1/FRANCISCO 20CARDENAS 20RUIZ.pdf](http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/157/1/FRANCISCO%20CARDENAS%20RUIZ.pdf).
- Cartmill J., El-Zarkouny S., Hensley B., Lamb G., Stevenson J., 2000. Stage of cycle, incidence and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J DairySci*; 83 (suppl. 1): 216 abstr..
- Days, M; Grum, D. 2007 Estrategias de apareamiento para obtener la eficiencia reproductiva en hatos de ganado de carne. Universidad del Estado Ohio. 11p.
- Del Valle, T. (2008). Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito Recuperado el 15 de noviembre de 2012, de [http://www.avpa.ula.ve / libro desarrollo sost/pdf /capitulo 4.pdf](http://www.avpa.ula.ve/libro%20desarrollo%20sost/pdf/capitulo%204.pdf).
- Echtenkamp S. E. R. A. Cushman, and M. F. Allan. 2009. Size of ovulatory follicles in cattle expressing multiple ovulations naturally and its influence on corpus luteum development and fertility *J Animsci* 87 (II); 3556-68.
- Fortín M. 1989. Sincronización de celos en bovinos con prostaglandinas. *Aspectopráctico CABIA* 15: 29-39.
- Fricke P.M; Wiltbank, M.C. 1999. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows *Theriogenology*. 52:1133-1143.
- Dután, J. (2013). <http://dspace.ucuenca.edu.ec>. Recuperado el 2013, de [http:// dspace.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/525/1/TESIS.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/525/1/TESIS.pdf).
- Gonzalez, I. M. (Mayo de 2006). <http://www.galeon.com/>. Obtenido de <http://www.galeon.com/cursoiatfvirtual/Descargar.pdf>.
- Ginther, O. J., J. P. Kastelic, y L. Knopf. 1989b. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim.Reprod.Sci*. 20:187-200.
- Garnica, P. (2012). <http://dspace.ucuenca.edu.ec>. Recuperado el 2013, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/406/1/TESIS.pdf>.
- Hernández Cerón, J. y Zarco, L. 1998. Función del cuerpo lúteo y muerte embrionaria en rumiantes. *Ciencia Veterinaria Mexico* 8:1-28.
- Holy, L. D. 1999. *Biología de la reproducción bovina*. Ed. La Habana. Edit. Científico - técnico p. 17. La Habana - Cuba.
- Holtz W. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Ruminant.Res*. 60:95 -110.

- Kastelic, J., Bergfelt, D and Ginther, O. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*. 33.6: 1269-1278.
- Kastelic, J.P., Ginther, O.J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim Reprod Sci* 26, 13-24, 1991.
- Larocca, C., L. Lago., A. Fernández., G. Rosés., R. Lanza., P.U. Armad., J. C. D. Boggio. 2005. Alternativas para la sincronización del estro en vaquillonas holstein uruguayo. *Revista científica, FCV-LUZ/Vol.XV, No 6, 512 - 516.*
- Laboratorio de Especialidades Veterinarias. (2005) www.produccion-animal.com.ar. (Sintex) Recuperado el Octubre de 2011.
- Leboeuf, B., Forgerit, Y., Bernelas, D., Pougard, J.L., Senty, E., Driancourt, M.A., 2003. Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology* 50, 1371–1380.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, 1992; 70:3615.
- Martinez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim Reprod Sci*; 57:23-33.
- Martínez, M.E. Kastelic JE Adams GP, Mapletoft RJ. The use of a progesterone – releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed – time AI in beef heifers. *J Anim Sci* 1746 – 1751, 2002.
- Matthew, L. (27 de Marzo de 2009). www.produccion-animal.com.ar Obteniendo de http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/161celobiologia.pdf
- Mendoza et. al, C. (2012) <http://repositorio.utm.edu.ec/>. Obtenido de <http://repositorio.utm.edu.ec/retrieve/764/FCVTGMVZ2012-0358.pdf>.
- Mee MO, Stevenson JS, Alexander BM, Sasser RG. Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol - 17 B, pregnancy -

- especific protein B, and progesterone, proportion o luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 1993; 71:185 – 198.
- Moreira, E, Orlandi, C., Risco, C.A, Mattos, R., Lopes, E, Thatcher, W.W. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 84, 1646-1659, 2001.
- Moreno, D., Cutaia, L., Villata, M.L., Ortisi, E, Bó, G.A. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 55, 408, 2001.
- Momont, H.W, Seguin, B.E. Influence of the day of estrous cycle on response to PGF2? products: Implications for AI programs for dairy cattle. 10th International Congress on Animal Reproduction 3, 336, 1984.
- Motta et. al., P. (2011). *vet.zootec*. Obtenido de [http://200.21.104.25/vet_zootec/downloads/MVZ5\(2\)_8.pdf](http://200.21.104.25/vet_zootec/downloads/MVZ5(2)_8.pdf).
- Muñoz, R. (2013). <http://dspace.ucuenca.edu.ec/>. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec:8080/bitstream/123456789/507/1/TESIS.pdf>.
- Palma, G. 2001. *Biología de la reproducción*. Buenos Aires, Argentina. Ed. INTA, Balcaré.
- Pascual, I. (2005). <http://www.produccion-animal.com.ar/>. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/informaciontecnica/inseminacion_artificial/186,Reprodcompendio.pdf
- Perea G., F., R. González F., R. Cruz A., E. Soto B., E. Rincón U., y P. Vi-llamediana M. 1998. Evaluación ultrasonográfica de la dinámica fo-licular en vacas y en novillas mestizas. *Rev. Cien. FCV-LUZ*.VIII(1):14.
- Pérez C, Rodríguez I, Dorado J, Hidalgo M, Corral S, Sanz J. 2005. *Arch Zootec* 53:35–40.
- Pursley J., Wiltbank M., Stevenson J., Ottobre J., Garverich H., Anderson L., 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated ay a synchronized ovulation or synchroniezed estrus. *J Dairy Si* 80, 295-300.
- Pursley J., Fricke P., Garverick H., Kesler, Otttobre J., Stevenson J., Wiltbank M., 2001. NC-113 Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated

- with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA Meeting, des Moines. IA; 63 abstr.
- Quispe A., Pérez U., Luque N., Pérez M., (2013). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno - Perú
- Ramírez, C. (2006). <http://dspace.esPOCH.edu.ec/>. Recuperado el 2013, de <http://dSPACE.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1662/1/17T0776.pdf>
- Ramirez Gaitan, M. (Septiembre de 2011). <http://mauricioraga.blogspot.com/Obteniendo> de <http://mauricioraga.blogspot.com/2011/09/cuando-se-presenta-el-celo-en-la-vaca.html>
- Rivadeneira, V. (Enero de 2013). <http://veterinaria.unmsm.edu.pe/>. Obtenido de <http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo ciclo estral bovino rivadeneira.pdf>.
- Rivera, G. (2009) www.rwprobiotec.com. Recuperado el 15 de noviembre de 2012, de http://www.reprobiotec.com/libro_rojo/capitulo_04.pdf
- Rippe, C. (2009). <http://www.drcouncil.org/>. Obtenido de <http://www.drcouncil.org/media/Public/Rippe%20DCRCH%202009.pdf>.
- Sartori, R., Haughian, J., Shaver, R., Rosa, G., Wiltbank, M. 2004. Comparison of Ovarian Function and Circulating Steroids in Estrous Cycles of Holstein Heifers and Lactating Cows. *Journal of Dairy Science* 87:905-920.
- Sagbay, C. F. (2012). <http://dSPACE.ups.edu.ec/>. Obtenido de <http://dSPACE.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2419/15/UPS-CT002426.pdf>
- Salinas, D. (2013). <http://dSPACE.ucuenca.edu.ec/>. Recuperado el 2013, de <http://dSPACE.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3410/1/tesis.pdf>.
- Soria, M. E. (2013). <http://dSPACE.ucuenca.edu.ec/>. Obtenido de <http://dSPACE.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/529/1/TESIS.pdf>.
- Sintex, L. d. (2005). www.produccion-animal.com.ar. Recuperado el 2012, de [http://www.Produccion_animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminación, manejo_farmacologico_ciclo estral bovino.pdf](http://www.Produccion_animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_manejo_farmacologico_ciclo_estrал_bovino.pdf)

- Shedon, I. M., and H Dobson 2000. Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to the previously gravid uterine horn and uterine involution. *Journal of reproduction and Fertility* 119, 157- 163.
- Smith M. F. E. W. McIntush, and G. W. Smith. 1994. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J. Anim. Sci*, 72: 1857 - 1872.
- Townson D.H, Tsang P.C, Butler W.R, Frajblat M, Griel L.C Jr, Johnson C.J, Milvae R.A, Niksic G.M, Pate J.L. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *Journal Animal Sciences*, 80: 1053-1058.
- Unión Ganadera Regional de Jalisco. (2009).<http://www.ugrj.org.mx>. Recuperado el 15 de noviembre de 2012, de http://www.ugrj.org.mx/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=474
- Wildeus S Uribe et. al., L. (21 de OCTUBRE de 2009). Biosalud. Recuperado el 2012 de noviembre de 15, de http://200.21.104.25/biosalud/downloads/Revista_208_14.pdf. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *J. Anim. Sci*. 77:1-14.
- Vasquez et. al. (31 de Agosto de 2010). <http://www.scielo.org.co/>. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v14n2/v14n2a08.pdf>.
- Verkerk GA, Taufa VK, Morgan S, Clark BA, Macmillan KL. Effects of oestradiol by injection of CIDR insertion for the treatment of postpartum anovulatory oestrus in dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 1998;58: 82–84.
- Virbac. (2008). *Biología de la Reproducción (Virbac)* Recuperado el 2 de 2012, de www.virbac.com.mx

ANEXO

Anexo 1.

Tabla 7. Diámetro Folicular (mm)

No	Tamaño Diámetro de folículos		
	T1	T2	T3
	P ₄ -GnRH-eCG	P ₄ -BE-eCG	Ovsynch GnRH-PGF2 α -GnRH
1	14	15	17
2	14	21	11.5
3	20	7	8
4	24	12	21
5	20	13	15
6	15	21	18.5
7	11	11	9
8	10	10	23
9	30	21	12
10	15	8	12
11	10	17	
12	12	14	
13	27	22	
14	13	24	
15	9	14	
16		9	

Tabla 8. ANDEVA del diámetro folicular

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>
Tratamiento	2	3.38229167	1.69114583	0.0904424	0.95219917
Error	38	1310.31771	34.482045		
Total	40	1313.701			

ANEXO 2.

Tabla 9. Diámetro de Cuerpo Lúteo (mm)

No	Cuerpo lúteo		
	T1	T2	T3
	P ₄ -GnRH-eCG	P ₄ -BE-eCG	GnRH-PGF2 α -GnRH
1	15	19.5	17
2	21	14	15.5
3	13	19	14
4	18	18	19
5	13	19.5	15
6	21	15	18.5
7	12	11.5	19.5
8	17	13	19
9	21	19	18
10	21	15	14.5
11	16	18.5	
12	14	14	
13	22	11.5	
14	24	14	
15	18	15	
16		18	

Tabla 10. ANDEVA del cuerpo lúteo.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>
Tratamiento	2	26.7157307	13.3578653	1.40187108	0.25857614
Error	38	362.086708	9.5285759		
Total	40	388.802439			

ANEXO 3.

Tabla 11. Numero de vacas preñadas y vacías

No	T1		T2		T3	
	P ₄ -GnRH-eCG		P ₄ - BE-eCG		GnRH+PGF2 α +GnRH	
	No Arete	Tasa Preñez	No Arete	Tasa Preñez	Nombre de carabana	Tasa Preñez
1	649	Preñada	841	Vacía	Urpi	Preñada
2	964	Preñada	926	Preñada	María milagro	Vacía
3	934	Vacía	835	Preñada	Roberta	Preñada
4	725	Preñada	678	Vacía	Carolina	Preñada
5	677	Preñada	699	Preñada	Cherly	Preñada
6	833	Preñada	925	Preñada	Esmeralda	Preñada
7	834	Vacía	667	Vacía	Mikaela	Preñada
8	888	Preñada	956	Preñada	Wara	Vacía
9	924	Preñada	966	Preñada	Verosca	Vacía
10	927	Preñada	998	Preñada	Sani	Preñada
11	1008	Vacía	1023	Preñada		
12	730	Vacía	729	Preñada		
13	742	Preñada	808	Vacía		
14	762	Vacía	856	Vacía		
15	858	Preñada	968	Preñada		
16			973	Preñada		

Tabla 12. % de Tasa de fertilidad/preñez.

Detalle	T1	T2	T3
	P ₄ - GnRH-eCG	P ₄ - BE-eCG	GnRH-PGF2 α -GnRH
No vacas Inseminadas	15	16	10
No vacas Preñadas	10	11	7
Tasa de preñez %	66,67	68,75	70,00



Foto No 1 Centro de Investigación y producción de Chuquimabilla a 3970msnm. de la Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno Perú.



Foto No 2 Materiales y proceso de aplicación de sincronización de celo: CIDR, hormonas, aplicador, jeringas.

Tratamientos de 3 protocolos:

T1: P4 – GnHR - eCG;

T2: P4 – Benzoato – eCG,

T3: Ovsynch (GnRH - PGF2 α - GnRh)

Las vacas demuestran el celo 100%





Foto No 3 Materiales de Inseminación Artificial (Termo, pajuelas, guantes, termo de des congeladora, cortadoras de pajuela, papel de toalla, termómetro de descongelador, aplicador)

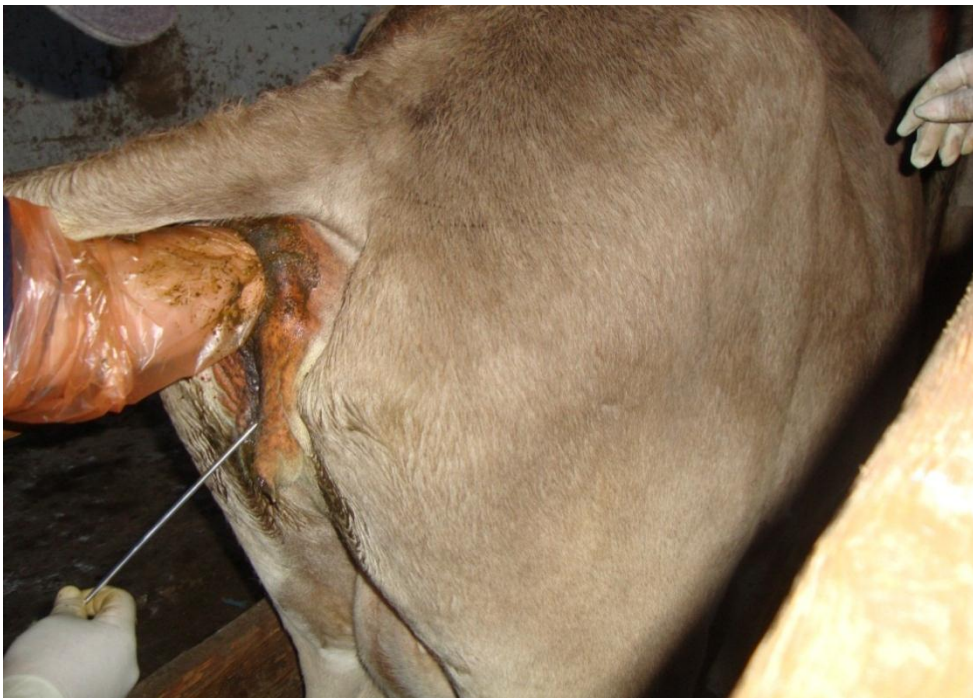


Foto No 4 Proceso de inseminación Artificial a tiempo fijo después de aplicar los protocolos del T1y T2 a los 60 horas, T3 a los 20 hora.

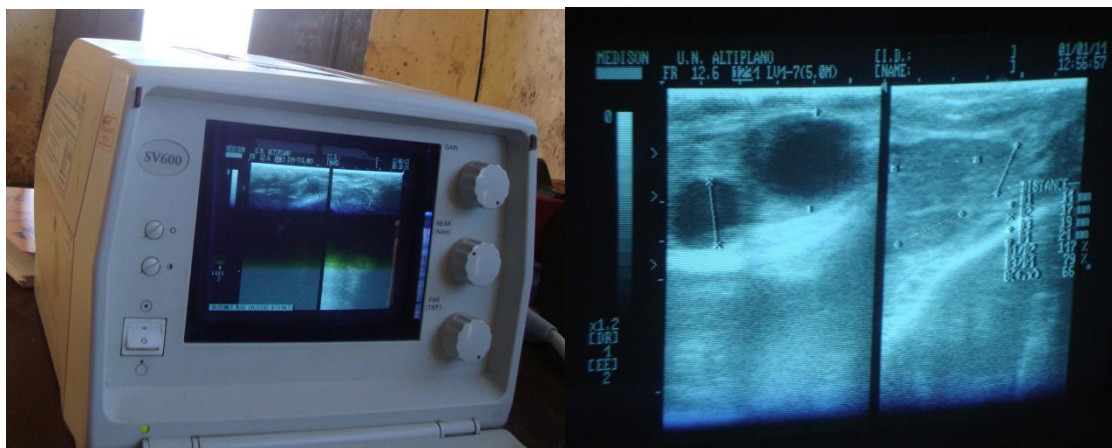


Foto No 5 Utilización de ecografía para determinar el diámetro folicular, cuerpo lúteo y tasa de preñes.



Foto No 6 Se utilizó el ecógrafo veterinario con un transductor lineal de 7,5 MHz de potencia. Se realizó el diagnóstico de gestación a los 30 días pos servicio



Foto No 7 Demuestran los resultados de terneros de raza Brown Swiss del efecto de protocolo de sincronización sobre determinación de diámetro folicular, cuerpo lúteo y tasa de preñez.