

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EFECTO DE UN PROTOCOLO DE SINCRONIZACIÓN DE CELO
EN VACUNOS SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. MANUEL PFUÑO LAURA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO-PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

“Efecto de un protocolo de sincronización de celo en vacunos sobre la dinámica folicular”

PRESENTADA POR:

Bach. MANUEL PFUÑO LAURA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

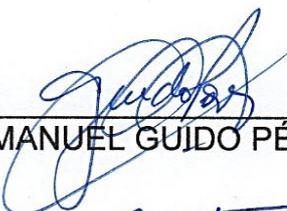
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 04 DE DICIEMBRE DEL 2017

APROBADA POR:

PRESIDENTE

:


Dr. MANUEL GÚIDO PÉREZ DURAND

PRIMER MIEMBRO

:


M.Sc. BILO WENCESLAO CALSÍN CALSÍN

SEGUNDO MIEMBRO

:


MVZ CIRIACO TEODORO ZUÑIGA ZUÑIGA

DIRECTOR

:


M.Sc. ROLANDO DANIEL ROJAS ESPINOZA

ASESOR

:


M.Sc. URI HAROLD PÉREZ GUERRA

Área : Reproducción animal

Tema : Sincronización celo en vacunos



ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	10
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
	2.1. CICLO ESTRAL	12
	2.1.1. Foliculogénesis	12
	2.1.2 Dinámica folicular.....	15
	2.1.3 Endocrinología por fases del ciclo estral	20
	2.2. CUERPO LÚTEO	24
	2.2.1 Formacion de cuerpo luteo	24
	2.3. PROGESTERONA EN VACAS	26
	2.3.1 Acción de la progesterona	26
	2.3.2 Importancia de progesterona	27
	2.4. SINCRONIZACIÓN DE ESTRO EN VACAS.....	27
	2.4.1 Progesterona o progestágenos sintéticos	28
	2.4.2 Estrógenos asociados con progesterona	29
	2.4.3. Prostaglandinas	30
	2.4.4 Aplicación de eCG	32
	2.5. ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN VACAS	34
	2.5.1 Ultrasonografía del ovario	35
	2.5.2 Morfología ultrasonografía del cuerpo lúteo	36
	2.6. MEDICIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE PROGESTERONA	37
	2.6.1 Inmunoquimioluminiscencia	38
	2.7. ANTECEDENTES	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	46
	3.1. LUGAR DE ESTUDIO	46
	3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	46
	3.2.1 Animales	46
	3.2.2 Manejo	47
	3.2.3 Instalaciones	48
	3.3. METODOLOGÍA.....	48
	3.3.1 Evaluación ultrasonográfica	48
	3.3.2 Determinación de dinámica folicular.....	52
	3.3.3 Determinación de diámetro de cuerpo lúteo	53
	3.3.4 Determinación de progesterona sérica.....	53
	3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56

4.1. Dinámica folicular	56
4.1.1 Estado ovárico del día cero del experimento.....	56
4.1.2 Tamaño folicular al día ocho de la sincronización de celo	57
4.1.3 Tamaño del folículo preovulatorio en vacas sincronizadas en distinto estado ovárico al día diez del tratamiento.	59
4.2. Tamaño de cuerpo lúteo en vacas y vaquillas, con distinto estado ovárico, sincronizadas con el protocolo, evaluado el día 20 del tratamiento.	61
4.3. Niveles séricos de progesterona en vacas y vaquillas, con estado ovárico ciclando y en anestro, sincronizadas con el protocolo.	63
V. CONCLUSIONES	67
VI. RECOMENDACIONES	68
VII. REFERENCIAS.....	69
VIII. ANEXOS	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1: evaluación de estado ovárico de vacas y vaquillas	50
Figura 2. Protocolo de Sincronización de celo en Vacas y Vaquillas (Bryan et al., 2013)	51
Figura 3: Esquema de evaluación ultrasonografía para determinar la dinámica folicular	52
Figura 4: Esquema de evaluación ultrasonografía	53
Figura 5: colección de muestras de sangre para determinar progesterona	54
Figura 6: alimentación de: animales seleccionados para el experimento	86
Figura 7: sujeción e inmovilización de los animales del experimento	86
Figura 8: preparación del animal para la evaluación ecográfica	87
Figura 9: evaluación ultrasonográfica del estado ovárico antes del experimento	87
Figura 10: colocación del dispositivo de liberación interna de progesterona CIDR	88
Figura 11: colocación de benzoato de estradiol	88
Figura 12: retiro del CIDR día 8 del experimento	89
Figura 13: administración de prostaglandina f2 alfa intramuscular profundo	89
Figura 14: administración de eCG intramuscular profundo.....	90
Figura 15: evaluación ecográfica de folículos día 8.....	90
Figura 16: administración intramuscular del GnRH día 10	91
Figura 17: evaluación ecográfica de folículos preovulatorios día 10.....	91
Figura 18: inseminación a tiempo fijo día 10	92
Figura 19: evaluación ecográfica día 20.....	92
Figura 20: obtención de muestra de sangre por la vena yugular	93
Figura 21: centrifugación de las muestras sanguíneas	93
Figura 22: preparación de plasma sanguíneo para la remisión al laboratorio...94	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de los animales en los dos tratamientos del estudio.	47
Tabla 2. Estado ovárico de los animales en el día cero del protocolo.	56
Tabla 3. Tamaño Folicular el día ocho de la sincronización de celo. (mm).....	57
Tabla 4. Tamaño folicular Preovulatorio en vacas y vaquillas sincronizadas con el protocolo en el día diez del tratamiento. (mm).....	59
Tabla 5. Diámetro de cuerpo lúteo obtenido en vacas sincronizadas con el protocolo, día 20 del tratamiento. (mm).....	62
Tabla 6. Niveles séricos de progesterona en vacas y vaquillas obtenidos el día diez post ovulación, sincronizadas con el protocolo, día 20 del tratamiento. (ng/mL)	64
Tabla 7. Estado ovárico de los animales en el día 0 del protocolo.	83
Tabla 8. Estado ovárico día 0 de iniciado los tratamientos, mediciones en milímetros (mm)	83
Tabla 9. Resultados de animales con estado ovárico en anestro.....	84
Tabla 10. Resultados de animales con estado ovárico ciclando.	84
Tabla 11 RESULTADOS DE PROGESTERONA ng/ml	96

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- Ac: Anticuerpo
Ag: Antígeno
AMPc: Adenosin monofosfato cíclico
BE: Benzoato de estradiol
CIDR: Dispositivo de liberación contralada
CIP: Centro de investigación y producción
CLIA: Quimioluminiscencia
eCG: Gonadotropina coriónica equina
ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
FSH: Hormona folículo estimulante
GAP: Unión de citoplasmas celulares
GnRH: Hormona liberadora de las gonadotropinas
IATF: Inseminación artificial a tiempo fijo
IFI: Inmunofluorescencia
IGF: Factores de crecimiento ligados a la insulina
LH: Hormona luteinizante
mRNA: Ácido ribonucleico mensajero
PGF2a: Prostaglandina f 2 alfa

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en CIP (Centro de Investigación y Producción) Chuquibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ubicado a 3970 metros de altitud; durante los meses de noviembre a diciembre del 2015, con el objetivo de describir el efecto de un protocolo de sincronización sobre la dinámica folicular, ovulación, área del cuerpo lúteo y niveles séricos sanguíneos de progesterona administrada en vaquillas y determinar si hay diferencia entre estatus ováricos (vacas en anestro y ciclando). Para lo cual se utilizó 18 (9 vaquillas, 9 vacas) animales para la evaluación ecográfica de los ovarios y sincronización a base de dispositivo de liberación lenta de progesterona (CIDR), benzoato de estradiol, prostaglandina, hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y gonadotrofina corionica equina (eCG). Los datos se analizaron mediante la prueba de t de student. El promedio de diámetro de folículos el día 8 en el grupo de animales con cuerpo luteo fue de 8.75 ± 2.19 mm y el diámetro de folículo pre-ovulatorio fue 12.53 ± 2.05 mm. Con una velocidad de crecimiento 0.95 ± 0.75 mm/12h. El promedio de diámetro de folículos el día 8 en vacas sin cuerpo lúteo fue de 8.42 ± 3.99 mm. Y el diámetro de folículo pre-ovulatorio fue 14.64 ± 2.11 mm. Con una velocidad de crecimiento 1.56 ± 0.87 mm/12 h. El promedio de diámetro de cuerpo lúteo para vacas y vaquillas con cuerpo lúteo fue de 9.36 ± 1.55 mm y para el grupo de animales sin cuerpo lúteo fue de 10.93 ± 1.54 mm. El promedio de niveles de progesterona sérica para las vacas con cuerpo lúteo fue de 1.12 ± 0.19 ng/mL y para el grupo de animales sin cuerpo lúteo se obtuvo un promedio de 1.31 ± 0.18 ng/mL. De acuerdo a los resultados podemos concluir que no hay diferencia de dinámica folicular tamaño, tamaño de cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona en animales con distinto estatus ovárico.

PALABRAS CLAVE: anestro, ciclando, cuerpo lúteo, dinámica folicular, preovulatorio, progesterona sérica, vacas, vaquillas

ABSTRACT

The research work was carried out at the Chuquibambilla Research and Production Center of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the National University of the Altiplano - Puno, located at 3970 meters above sea level; During the months of November to December 2015, with the objective of describing the effect of a synchronization protocol on the follicular dynamics, ovulation, corpus luteum area and blood serum levels of progesterone administered in heifers and to determine if there is a difference between ovarian status (Cows in anestrous and cycling). For this purpose, 18 (9 heifers, 9 cows) were used for echographic evaluation of the ovaries and synchronization with the slow release progesterone device (CIDR), estradiol benzoate, prostaglandin, gonadotropin releasing hormone (GnRH), and Equine chorionic gonadotrophin (eCG). Data were analyzed using the student's t-test. The average diameter of follicles on day 8 in the group of animals with luteal body was 8.75 ± 2.19 mm and the pre-ovulatory follicle diameter was 12.53 ± 2.05 mm. With a speed of growth 0.95 ± 0.75 mm / 12h. The average diameter of follicles on day 8 in cows without luteal body was 8.42 ± 3.99 mm. And the pre-ovulatory follicle diameter was 14.64 ± 2.11 mm. With a growth rate of 1.56 ± 0.87 mm / 12 h. The mean corpus luteum diameter for cows and heifers with corpus luteum was 9.36 ± 1.55 mm and for the group of animals without luteal body was 10.93 ± 1.54 mm. The mean serum progesterone levels for luteal body cows were 1.12 ± 0.19 ng / mL and for the group of animals with no corpus luteum an average of 1.31 ± 0.18 ng / mL was obtained. According to the results we can conclude that there is no difference in follicular dynamics size, corpus luteum size and serum levels of progesterone in animals with distinct ovarian status.

Key words: anestrous body luteum, cows, cycling, follicular dynamics, heifers, preovulator, serum progesterone.

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería en el departamento de Puno es una de las actividades más importantes, de ellas la crianza de vacunos resalta por su sostenido incremento en la población, con preferencia por la crianza de vacunos de aptitud lechera, siendo la raza Brown Swiss la más criada (INEI, 2016). La inclusión del Perú a la economía mundial genera las posibilidades de integrar los alimentos de origen animal producidos en la región de Puno en los mercados nacionales e internacionales. (Gobierno Regional de Puno, 2016).

Actualmente en el departamento de Puno, la inseminación artificial de vacunos está ampliamente difundida, sin embargo; existe aún el problema asociado con la detección oportuna del celo debido al hecho de que los animales se encuentran al pastoreo; tal sistema de alimentación y crianza que hace muy difícil la observación de los signos del celo por parte del criador (Quispe, 2014). En consecuencia logran bajos índices de preñez, inadecuada planificación de partos cuando las condiciones medio ambientales son desfavorables (épocas de escasas de forraje) por lo tanto obtienen lotes heterogéneos de crías lo que se traduce finalmente en un aumento en los costos de producción (Choquepata, 2013).

Actualmente los programas de sincronización tienen un gran potencial para mejorar la eficiencia reproductiva, permite tener más vacas en estro al mismo tiempo, mejorando la manifestación de los celos y aumentando las tasas de preñez (Ávila *et al.*, 2005). El uso de esquemas de inseminación artificial a tiempo fijo, usando dispositivos de liberación controlada de progestágenos (CIDR) y GnRH mejora la detección del celo e incrementa las tasas de ovulación y preñez (Pursley *et al.*, 1997; Rhodes *et al.*, 1995), que pueden ser

mejoradas adicionando estradiol e inseminando las vacas a celo observado. Sin embargo, esta última hormona ha sido remplazada por la gonadotropina coriónica equina (eCG), la misma que tiene la tendencia de incrementar la tasa de concepción (Bryan *et al.*, 2013).

Por todo lo mencionado anteriormente y buscando mejorar el manejo reproductivo de la raza Brown Swiss se realizó este trabajo con los siguientes objetivos:

describir la dinámica folicular, diámetro del cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona durante el uso de un protocolo de sincronización usando benzoato de estradiol, dispositivo de liberación controlada de progesterona (CIDR), GnRH, prostaglandina F2 alfa y gonadotropina corionica equina (eCG) en vacas y vaquillas en un sistema de crianza de ganado lechero en condiciones del altiplano puneño.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CICLO ESTRAL

La hembra cuando alcanza la pubertad esta apta para reproducirse e iniciar su apetencia sexual por el sexo opuesto, la pubertad varía considerablemente de acuerdo con la raza, nutrición clima, manejo, etc., manifiesta cambios rítmicos en su conducta sexual, denominada celo o estro. Los acontecimientos que comienzan en su celo y finaliza en el siguiente, reciben el nombre del ciclo estral (Palma, 2008)

2.1.1. Foliculogénesis

La foliculogénesis es el proceso de formación de folículos maduros capaces de ovular a partir de los folículos primordiales que yacen estáticos en el ovario. Este proceso puede ser dividido, de acuerdo con las características fisiológicas de cada grupo de folículos, en las siguientes; (Fricke, 2007)

2.1.1.1 Folículos preantrales

Los folículos prenatales e dividen en:

- **Folículos primordiales.** Formados prenatalmente, no permanecen más allá de los 6 meses de vida postnatal. Están constituidos por ovocitos primarios rodeados de una única capa de células de la granulosa, aplanadas, sin zona pelúcida, rodeados por algunas células de la pre-granulosa y envueltos por la membrana basal (D`Occhio, 2000). Su evolución es independiente de las gonadotrofinas. Componen el stock de folículos formados durante la vida fetal que se van a desarrollar

durante la vida reproductiva de la hembra. Esos folículos en estado de que en esencia son caracterizados por un oocito en la profase de la primera división meiotica (Adams, 1993).

- **Folículo primario.** Aumenta el volumen del ovocito y las células epiteliales adquieren una morfología cúbica, que originan un halo translúcido alrededor del ovocito conocido como zona pelúcida, atravesada por procesos citoplasmáticos de las células de la granulosa, que la mantienen en contacto íntimo con el ovocito. El mecanismo determinante del paso del estadio de folículo primordial a folículo primario, en el cual las células de la granulosa crecen y se multiplican no es totalmente conocido, pero se cree que ocurre sin la participación de gonadotropinas (Colazo et al., 2000).
- **Folículo secundario.** Proliferan las células de la granulosa formando varias capas y uniéndose entre ellas mediante GAP (unión de citoplasmas celulares). En las áreas en que se pierde la unión entre las células de la granulosa se forman unas lagunas conocidas como cuerpos de Call-Exner (células de la granulosa dispuestas desordenadamente alrededor de un espacio lleno de fluido eosinofílico), previo a la formación del antro por su confluencia. Se diferencian e hipertrofian las células tecaes, las internas al final del estadio primario están separadas de la granulosa por una membrana basal impermeable y las externas formadas por compresión del estroma circundante ante la expansión folicular (Adams, 1993). La granulosa desarrolla

receptores para FSH, estrógenos y andrógenos. Con la teca el folículo adquiere un suministro sanguíneo (1 o 2 arteriolas que acaban en una red capilar adyacente a la membrana basal) y las células tecales desarrollan receptores para la LH (Ascoli et al., 1996). Estos folículos parecen abrirse paso hacia la superficie del ovario a través del cono de Strassmann (un penacho cónico que se forma en un polo de la teca) (Asprón, 2004). Los folículos estrogénicos también sobresalen por su habilidad para resistir la atresia y pasar a los estadios finales de maduración (Adams, 1993). Estos folículos tienen el potencial de tornarse ovulatorios cuando son expuestos a un ambiente endocrino adecuado, especialmente en la presencia de un patrón pulsátil de LH con alta frecuencia (Ascoli et al., 1996).

2.1.1.2 Folículos antrales, terciarios o madurantes

La propiedad de los cuerpos de Call–Exner (células de la granulosa dispuestas desordenadamente alrededor de un espacio lleno de fluido eosinofílico) para unirse o fundirse conduce a la formación del antro folicular, inicialmente semilunar, desplazando a las células de la granulosa que, rodeando el ovocito, permanecen íntegras formando el cumulus oophorus (cúmulo prolífero). El líquido folicular, está lleno de esteroides, péptidos y otras sustancias (Baird, 1978).

La formación del fluido que pre–llena la cavidad antral ocurre en folículos con diámetro alrededor de 0,2 – 0,4 mm (Turnbull et al., 1977). Luego, posterior a la formación del antro, los folículos entran

en un rápido periodo de crecimiento, marcado por la alta proliferación celular (granulosa y teca), en consecuencia los elevados índices mitóticos se observan en folículos entre 0,7 y 1,5 mm declinando cuando alcanzan los 2,2 mm (Echeverrías, 2006).

2.1.1.3 Folículos preovulatorios, ovulatorios o maduros

Los folículos preovulatorios, denominados también folículos estrogénicos, alcanzan un desarrollo máximo de 15 mm. El cumulus oophorus está arrinconado y constituido por la corona radiada (células de la granulosa que envuelven al ovocito), la zona pelúcida (microvellocidades en el espacio previtelino), la membrana vitelina (membrana del ovocito), la vesícula germinal (citoplasma del ovocito) y la mancha germinal (núcleo del ovocito) (Fricke, 2007).

2.1.2 Dinámica folicular

La actividad cíclica del ovario se da al inicio de la pubertad y el hipotálamo desempeña un papel fundamental para controlar la transición hacia la madurez sexual, ya que las neuronas del área pre-óptica, al madurar son menos sensibles al efecto inhibitor de los bajos niveles de estradiol segregados por los folículos. Como resultado es producida por el hipotálamo, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) la cual estimula la secreción de las hormonas gonadotrópicas (FSH y LH) de la glándula pituitaria. Los elevados niveles de la hormona folículo estimulante (FSH) en sangre inducen al desenvolvimiento de los folículos y en sinergismo la LH, estimula a su maduración. A medida que el folículo pre-ovulatorio se

desenvuelve aumenta la producción de estradiol por los folículos y después una determinada concentración de estradiol estimula la manifestación del estro (Noakes, 1999).

El desarrollo folicular en el ovario del ganado bovino es una sucesión dinámica de eventos organizados bajo control hormonal, que se lleva a cabo en ondas foliculares. La cual es definida como el desarrollo armónico y simultáneo de varios folículos de 4 a 5 mm de diámetro, pasando por diversas fases de reclutación, selección y dominancia, por parte del folículo dominante y la consecuente regresión de los folículos subordinados (Murugavel, 2003).

El Ciclo estral incluye de 2 a 3 ondas foliculares en la mayoría de las hembras bovinas. En caso de que sean 2 ondas foliculares éstas inician el día de la ovulación (Día 0) y en el 10 del ciclo estral. Asimismo, cuando son 3 ondas foliculares inician los días 0, 9 y 16 del ciclo estral (Ginther et al., 1987).

Las vacas presentan un periodo anovulatorio variable, el cual está en función de la regresión que sufra el cuerpo lúteo de la gestación. La longitud de este depende de numerosas factores como son: el nivel de nutrición, la condición corporal, distocia, raza, edad, época del año y patología uterina (Stangg *et al.*, 1995).

Aunque, el crecimiento folicular reinicia una vez que ha parido la vaca, la primera ovulación tiene lugar en la semana 3 o 5 posparto (Savio *et al.*, 1990). La ausencia de la ovulación del folículo dominante es común en el periodo de anestro en vacas posparto (Opsomer *et al.*, 2000), la causa puede ser la concentración

insuficiente de la hormona luteinizante (LH) por parte de la pituitaria o al periodo variable de acción del $17\text{-}\beta$ estradiol sobre la secreción de LH en el periodo temprano posparto. Más allá de la concentraciones bajas de progesterona relacionadas con la actividad sub luteal, se han asociado pulsos de LH bajos, lo que mantiene la síntesis de estradiol por parte del folículo dominante, el cual no ovula y se vuelve folículo ovárico persistente (Stock y Fortune, 1993).

2.1.2.1 Reclutamiento Folicular:

El reclutamiento se refiere a una oleada de desarrollo folicular caracterizada por la dependencia absoluta a la influencia de las gonadotropinas, especialmente a la FSH, y el diámetro de los folículos es de 4 a 5 mm. Del grupo grande de folículos que inician su desarrollo solamente un pequeño porcentaje logra su potencial completo (Endocrino y gametogénico), a lo que se denomina proceso de selección y crecimiento folicular (Adams, 1993).

El reclutamiento es un proceso por el que, bajo la responsabilidad de la FSH, un conjunto de folículos antrales tempranos (2-3 mm de diámetro) comienzan a crecer en un medio con suficiente soporte gonadotrófico que les permita progresar a la ovulación. La selección es un proceso por el cual un único folículo evade la atresia y adquiere competencia para alcanzar la ovulación. La dominancia es el medio por el cual el folículo seleccionado inhibe el reclutamiento de una nueva serie de folículos. Factores intraováricos estimulados por la FSH están involucrados en el proceso de reclutamiento folicular y los IGF (Factores de crecimiento ligados a la insulina) y

sus proteínas de enlace han sido implicados en la amplificación de la acción de la FSH (Fernández, 2003).

2.1.2.2 Selección Folicular.

La selección de un folículo dominante se refiere al mecanismo que determina cual folículo de la cohorte es seleccionado para continuar creciendo y convertirse en dominante (Webb *et al.*, 1999). El principal evento morfológico en el proceso de selección es la divergencia (Ginther *et al.*, 1996). La divergencia corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante y el subordinado más desarrollado crecen a tasas diferentes, antes de que el subordinado manifieste atresia (Sunderland *et al.*, 1996).

2.1.2.3 Dominancia.

La fase de dominancia, es el proceso por el cual el folículo seleccionado ejerce un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Para el establecimiento de esta dominancia se requiere que se presente divergencia o desviación, que corresponde al tiempo en el cual el folículo dominante y subordinado más desarrollados crecen en una tasa diferente, antes de que el subordinado manifieste atresia (Montaño y Ruiz, 2005).

El folículo dominante alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás (diámetro mayor de 10 mm) y es responsable de la secreción de estradiol (Belkys *et al.*, 2005). Esta actividad estrogénica está relacionada con el incremento en la expresión de genes para aromatasa (P450 arom y P450 17- α hidroxilasa), 3 β -

hidroxi-esteroide deshidrogenasa (3β HSD) y receptor de FSH, así como la adquisición de receptores para LH en las células de la granulosa (Menduri *et al.*, 2008)

2.1.2.4 Diámetro máximo de Folículo

El diámetro máximo del folículo dominante se refiere al mayor diámetro que toma el folículo dominante iniciarse su regresión u ovulación y se denomina folículo preovulatorio el cual presenta un gran grado de desarrollo tanto en la teca como en la granulosa, con gran cantidad de receptores para la LH en ambas, ya que el incremento de los pulsos de LH es el responsable de la maduración final del folículo y formación del folículo preovulatorio, ocurriendo la ovulación en caso de que se produzca la descarga preovulatoria de LH tras la luteólisis. En este momento el folículo preovulatorio produce la mayor parte de estradiol circulante; si no existe el aumento de LH, el folículo comienza a producir menos estrógenos y entrará en atresia (D'Enjoy *et al.*, 2012).

2.1.2.5 Atresia

La gran mayoría de los folículos presentes al nacimiento degeneran a través del proceso conocido como atresia (clausura u obliteración de un orificio o conducto del cuerpo), la cual ha sido descrita para diversas especies mamíferas (Huanca, 2001). La fase de atresia, consiste en la desaparición de los folículos que no son seleccionados como dominante, o del folículo dominante el cual no

llega a ser ovulatorio (cuando la lisis del cuerpo lúteo no coincide con la dominancia folicular) (Braw-Tal y Roth, 2005).

Se debe aclarar que a atresia se presenta en cualquier estadio del desarrollo folicular, aunque es más frecuente en folículos antrales y su incidencia está directamente relacionada con el tamaño de los folículos; los más grandes presentan un índice proliferativo mayor, que hace a sus células más susceptibles a la muerte por apoptosis y por lo tanto a la atresia (Ranferi *et al.*, 2010).

Cuando los folículos sufren atresia cesa la síntesis de estradiol y las concentraciones de progesterona intrafolicular aumentan. Igualmente durante este proceso, se destacan algunos cambios morfológicos e histológicos, como son: núcleos picnoticos y fragmentación nuclear en las células de la granulosa, desprendimiento de las células de la granulosa por la pérdida de la matriz intercelular, desprendimiento del complejo cumulus-ovocito y en algunos casos hipertrofia de las células de la teca (Sharma, 2000).

2.1.3 Endocrinología por fases del ciclo estral

Para Roberts (1971) y Arthur (1975), el ciclo estral consta de cuatro fases o periodos: diestro, proestro, estro y metaestro.

2.1.3.1 Diestro

El diestro, dura de 12 a 15 días, caracterizado principalmente por la presencia del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona es mucho

más que en la fase anterior (Rojas, 2007). Es el periodo de reposo sexual, en el cual se produce la lisis del cuerpo lúteo (Roberts, 1971). Se cumple la máxima función luteal. Para Duchens y De los Reyes (2011), se extiende entre los días 4 y 18 del ciclo, y comienza cuando el cuerpo lúteo secreta concentraciones significativa de progesterona, las que generalmente sobrepasan 1ng mL^{-1} (aprox $3,2\text{ nmol L}^{-1}$) hacia el día 4 del ciclo. Mientras el cuerpo lúteo esté en funcionalidad y se mantengan niveles altos de progesterona en circulación, no hay manifestación de estro, favoreciendo el feedback negativo para gonadotrofinas en la fase luteal, los patrones de secreción de LH se modifican nuevamente hacia una baja periodicidad pero con pulsos de mayor amplitud (Hafez, 1996).

2.1.3.2 Proestro

Dura aproximadamente 1 a 3 días, en esta fase disminuye la secreción de progesterona como consecuencia de la regresión del cuerpo lúteo. El folículo de Graff crece y aumenta los niveles de estrógenos en sangre, y continua con el estro (Rojas, 2007). Para Arthur (1975), es la fase inmediatamente anterior al estro, donde hay un marcado incremento de la actividad de los órganos reproductivos, se evidencia luteólisis, los folículos crecen rápidamente, el útero se amplía, su mucosa se vuelve congestionada y edematosa y sus glándulas activas, la mucosa vaginal se vuelve hiperémica y sus células epiteliales se cornifican y su secreción se incrementa.

Palma (2008), también expresa que este período, cuya duración es 3 días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y

finaliza con la manifestación de celo pues la PGF2a (prostaglandina F2a), de origen uterino, es el principal agente luteolítico que llega al ovario mediante un mecanismo de contracorriente establecido entre la vena uterina y la arteria ovárica.

2.1.3.3 Estro

Para Rojas (2007) la duración de la fase del estro en ganado bovino es variable, en promedio es de 18 horas la ovulación se produce a los 10 o 14 horas después del final del estro. Durante esta fase la hormona ovárica que predomina es el estrógeno (estradiol 17 beta). Bath et al. (1982), expresan que las señales de estro incluyen el ponerse en pie cuando la montan otras vacas, montar a otras vacas, el flujo claro de moco de la vulva, la vulva dilatada, la inquietud y, a veces, los mugidos y el estrógeno es la hormona ovárica predominante durante esta fase del ciclo. Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan el umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH (Roberts, 1971). Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del feedback negativo estrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se produce el pico preovulatorio de LH, en que puede aparecer un pico de FSH (Sintex, 2005). Posteriormente, 4 a 12 horas después de la onda de LH, se incrementan la concentración basal y la amplitud de los pulsos de FSH, relacionándose esto con la primera onda de crecimiento folicular (Bath et al. 1982).

2.1.3.4 Metaestro

El metaestro es el período post – estrual que dura entre 3 a 4 días, disminuye los niveles de estrógeno y el cuerpo lúteo comienza a desarrollarse. En esta fase hay secreción de la hormona progesterona con un incremento progresivo durante este tiempo, además se puede observar descarga de sangre por la vagina en un 50 % en las vacas adultas y un 90 % en vaquillas, sin que este sangrado se relacione con la fertilidad, es útil este sangrado porque hace 2 a 4 días estuvo en celo y que no se observó por lo que es inútil realizar la monta natural o inseminar artificialmente (Rojas, 2007).

Hay ciertas características internas que suceden durante esta fase como son: el folículo se rompe y se produce la ovulación, el útero presenta un tono erecto, mientras el endometrio se prepara para recibir el posible embrión, a la vez se estimula el crecimiento inicial del cuerpo lúteo (Roberts, 1971).

El ciclo estrual consta de 4 fases: estro, metaestro, diestro y proestro. Las fases de proestro y estro se le denomina como la fase folicular ó estrogénica y las fase de metaestro y diestro se le conoce como la fase luteal o pro gestacional (Rojas, 2007). Sin embargo hay autores que clasifican el ciclo estral en forma diferente a la clasificación tradicional así, según Callejas (1995), el ciclo estral se puede dividir en tres fases: fase folicular o de regresión lútea

(proestro), fase preovulatorio (estro y metaestro), fase luteal (diestro).

La conducta sexual de manera rítmica en las vacas se manifiesta o se inicia durante la pubertad y continúa en la vaca por el resto de su vida reproductiva a intervalos regulares, interrumpiéndose en la concepción (Rojas, 2007). Bajo condiciones normales, el ciclo estral tiene una duración de 20 días en novillas y 21 días en vacas, el rango normal es de 18 a 22 y 18 a 24 días, respectivamente (Arthur, 1975), Según Roberts (1971), la duración del ciclo estral es de 18 a 24 días con una media de 21 días, la duración del estro para zonas templadas es de 18 horas en promedio con variación entre 12 a 28 horas, la ovulación ocurre de 10 a 15 horas después de finalizado el estro.

2.2. CUERPO LÚTEO

2.2.1 Formación de cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo se forma por una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que sufren las células granulosas y tecales del folículo colapsado, en respuesta al pico preovulatorio de la hormona luteinizante que induce la ruptura folicular (Hung, 2006). Poco antes de la ovulación la presión intrafolicular disminuye por lo que su consistencia se torna turgente y flácida, sobre el folículo un área avascular y translúcida se hace aparente y recibe el nombre de estigma o punto de ovulación (Polanco, 1982). Posterior a la ovulación las paredes del folículo se colapsan y en su interior

quedan restos de linfa y un coagulo de sangre, a partir de las células de la granulosa y capas internas de la teca del folículo ovárico se forma un cuerpo lúteo. Las células de la teca y la granulosa se diferencian (luteinizan) en células luteales que forman el cuerpo lúteo (Polanco, 1982; Hung, 2006).

Durante la formación del cuerpo lúteo se inicia cambios anatómicos durante los días del ciclo, así entre el 1al 4 día del folículo roto reciente tiene un diámetro de 0.5 a 1.5 cm de superficie roja llamado cuerpo hemorrágico; del día 5 al 10 el punto de ruptura es cubierto, el color del cuerpo lúteo es rojiza o café con 1.6 a 2 cm de diámetro y vasculatura visible sobre el cuerpo lúteo; el día 11 al 17 el cuerpo lúteo es de color amarillo o anaranjado sin reminiscencias de coloración rojiza o café, con vasculatura prominente; el día 18 al 20 vasculatura ausente en el cuerpo lúteo y aparece un folículo grande de >10mm de diámetro (Polanco, 1982).

Zemjanis (1997) menciona que el cuerpo lúteo totalmente desarrollado mide de 2.5 a 3.5 cm de diámetro, duplica el tamaño del ovario además causa una distorsión de la forma del ovario, existe una línea clara que delimita el cuerpo lúteo del ovario, la que se nota claramente con la palpación.

La función del cuerpo lúteo es el reloj biológico que controla la duración del ciclo estral. (Gonzales, 2001). Pero este produce, además: andrógenos; estrógenos; prostaglandinas y hormonas peptídicas como la relaxina, oxitocina y la inhibina. (Hung, 2006). Las células de la teca se convierten en células de menor tamaño

(<15mm), conocidas como células luteales pequeñas que segregan progesterona y responden a la hormona luteinizante (LH). Las células de la granulosa se convierten en células luteales de mayor tamaño (>15mm) también llamadas células luteales grandes que segregan progesterona y oxitocina y responden a la prostaglandina E (Polanco 1982; Fitz et al 1982; Gordon 1999).

2.3. PROGESTERONA EN VACAS

Las células luteales previamente han incrementado la síntesis de mRNA que codifica los receptores de LH (LHr), para así poder ser estimulados por esta molécula; al llegar la LH y unirse a sus receptores ubicados en la membrana plasmática de las células luteales, inician la biosíntesis a progesterona (Niswender, 2000)

2.3.1 Acción de la progesterona

La progesterona tiene como blanco, principalmente, el eje hipotálamo-hipofisario y el tracto reproductivo (Mann, 2009), donde actúa después de unirse a su receptor intracelular específico (Shimizu, 2007). En los tejidos ováricos se han reportado receptor específico, donde la progesterona contribuye con la angiogénesis folicular esencial para el desarrollo del folículo preovulatorio (Morris, 2008). En el útero, induce la quietud del miometrio, bloqueando el efecto inductor de receptores α -adrenérgicos del estradiol, cuya estimulación causa contracciones (Mann, 2009) (Lüttgenau *et al.*, 2011).

2.3.2 Importancia de progesterona

La progesterona también promueve la proliferación de las células del endometrio para soportar la implantación del embrión y el desarrollo a término del feto (Spencer *et al*, 2004; , Basu *et al*, 2006 ; Igwebuiké, 2009, Fatet *et al*, 2011). Este último, al elongarse, secreta interferón-tau (IFNt), lo que impide la expresión de receptores de estradiol y oxitocina, y por lo tanto, interfiere con los pulsos endometriales de PGF2a (prostaglandina f2 alfa) responsables de desencadenar la luteólisis (Spencer *et al*, 2004).

El cuerpo lúteo secreta Progesterona en cantidades máximas (1 ng/mL) desde el día 7 hasta el día 15 (Gonzales, 2001).

Kastelic en un estudio realizado en 1990 reporta que el tejido luteal y los niveles plasmáticos de progesterona están altamente correlacionados, afirmando que el análisis del tamaño del cuerpo lúteo es una herramienta viable para predecir las concentraciones en sangre de progesterona.

2.4. SINCRONIZACIÓN DE ESTRO EN VACAS.

La sincronización de estro es una de las herramientas con mayor desarrollo en la actualidad (Ramírez y Miller, 2004). Es un método hormonal que agrupa la presentación de estros en 2 o 3 d, con el objetivo de lograr mayor número de hembras gestantes al final del periodo de empadre (Hafez, 2002)

La mayoría de los estudios realizados en los años 60 para controlar el ciclo estral en ganado bovino estuvieron basados en el uso de esteroides naturales, como lo es la progesterona (Murugavel, 2003). Aunque era

claro el control del estro y la ovulación, el porcentaje de concepción con sincronización de estros era bajo. En los años 70 se desarrollaron métodos con mejores resultados con el uso de las PGF2a y sus análogos en combinación con tratamientos cortos de progesterona (Gordon, 1996).

2.4.1 Progesterona o progestágenos sintéticos

El progestágeno o progesterona tiene como misión producir un bloqueo del hipotálamo, de manera que impedirá, independientemente de la existencia de un cuerpo lúteo, que se produzcan ovulaciones mientras que los animales conserven el dispositivo. Además provoca una repleción de gonadotropinas hipofisarias que se liberan bruscamente al retirarlo, de este modo, se mimetiza la acción de un cuerpo lúteo durante 9-10 días, tiempo muy similar a la duración del cuerpo lúteo del ciclo (Bavera, 2005).

Este método se basa en la aplicación de CIDR (dispositivos liberadores de progestágenos o progesterona) que contiene progesterona natural, esta progesterona se libera por difusión desde una cápsula de silicón sobre una espina de nylon, la cual está adaptada para retener el dispositivo dentro de la vagina. La progesterona del dispositivo, se absorbe a través de la mucosa vaginal, dando como resultando niveles en plasma suficientes para suprimir la liberación de LH y FSH de la adenohipófisis, previniendo el estro y la ovulación. Al remover el dispositivo la LH aumenta, lo que resulta en estro y ovulación del folículo dominante (Pfizer, 2005).

Este es el principal motivo que explica la sincronización tan perfecta que se obtiene mediante estos tratamientos, ya que se consigue manipular las ondas de desarrollo folicular de manera que en todos los animales tratados se inicia una nueva onda prácticamente el mismo día. Así, al retirar la fuente de progesterona el día 9-10 del tratamiento, el folículo dominante de la onda que se inició a los 5 días de iniciado el mismo se encuentra siempre en una fase óptima de desarrollo folicular (día 4-5 de la fase de crecimiento) al retirarlos los animales presentan celo entre las 36 y 48 horas siguientes (Fernández, 2003) y la ovulación se producirá de un modo casi simultáneo en todos los animales alrededor de las 60 horas permitiendo entonces realizar inseminación a tiempo fijo sin control de celos (Diskin *et al.*, 2002).

2.4.2 Estrógenos asociados con progesterona

Algunos tratamientos con progestágenos para inducir el celo de los bovinos se utilizan el combinación con estrógenos como es el benzoato de estradiol (valerato de estradiol, 17 β estradiol) se aplica el primer o segundo día del tratamiento y tiene como misión producir la regresión de un posible cuerpo lúteo en formación (los estrógenos son potentes agentes antiluteotróficos en los primeros días del ciclo) y al mismo tiempo, provoca la atresia del folículo dominante de la onda de desarrollo folicular en curso (independientemente que éste se encuentre en fase de crecimiento, dominancia o meseta) e induce una nueva onda folicular entre 4 y 5 días más tarde (Bavera, 2005). Esto se debe a la retroalimentación negativa, ya que los valores de

estrógenos inhiben la secreción de la hormona folículo estimulante de la hipófisis y de GnRH del hipotálamo (Hafez, 1996). Es importante resaltar que estos hechos se producen con independencia del día del ciclo estral en que se inicie el tratamiento, ya que el estrógeno siempre induce la atresia del folículo dominante y retrasa 5 días la aparición de la siguiente onda. Por otra parte, el progestágeno superpone su acción a la de la progesterona del cuerpo lúteo impidiendo ovulaciones durante los días del tratamiento, independientemente de la presencia de un cuerpo lúteo. En resumen, esta metodología puede ser aplicada a todo tipo de animales (cíclicos y en anestro, en fase folicular o luteínica) permitiendo inseminar los animales a tiempo prefijado con total independencia de la detección de celos (Fernández, 2003).

2.4.3. Prostaglandinas

Las prostaglandinas son sustancias orgánicas extremadamente potentes que aparecen naturalmente en una gran variedad de tejidos y situaciones biológicas. Desde el punto de vista químico, derivan del ácido prostanoíco, que es un ácido graso de 20 átomos de carbono con un núcleo ciclopentano (Lane *et al.*, 2001).

Su mecanismo de acción se halla estrechamente relacionado con receptores específicos de membrana que activan una proteína G específica desencadenando la cascada de AMPc (Adenosín monofosfato cíclico) y la correspondiente liberación de calcio por medio del fosfatidil inositol. El órgano de expresión de receptores para PGF (prostaglandina) más abundante es el cuerpo lúteo. Es

importante resaltar que la cantidad de receptores presentes varía con el momento del ciclo (Botana *et.al.*, 2002)

En reproducción la más importante es la PGF2a secretada por el útero, que provoca la ruptura o lisis de una estructura presente normalmente en el ovario luego de la ovulación denominada cuerpo lúteo, frenando la secreción de progesterona al final de un ciclo estral no fértil (Ramírez y Miller, 2004). El cuerpo lúteo es el factor de regulación del ciclo estral, determinando su duración. La prostaglandina segregada por el útero, solo producirá su efecto ante la presencia de un cuerpo lúteo funcional, y por esta razón, en un ciclo normal de 21 días (Lane *et al.*, 2001).

Existen períodos durante los cuales la aplicación de un agente luteolítico no produce ningún efecto (Lane *et al.*, 2001). A pesar de que la PGF2a es el tratamiento más utilizado para la sincronización de celo en bovinos (Larson and Ball, 1992), tiene algunas limitaciones importantes. Los animales deben estar ciclando y en un estadio apropiado de su ciclo estral. La PGF2a no es efectiva para la inducción de la luteólisis hasta unos 5 ó 6 días después del celo y si el tratamiento se administra cuando el ciclo estral está avanzado, puede que la luteólisis ya haya comenzado por la acción de la PGF2a endógena (Seguin, 1987).

Prostaglandina y GnRH

La GnRH se difunde a través de los capilares al sistema hipofisiario de allí a las células de las células de hipófisis anterior, en donde su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisiarias Hormona

foliculoestimulante (FSH), Hormona luteinizante (LH) y entre otras (Rippe, 2009).

El tratamiento a base de PGF2a y GnRH, conocido con el nombre de ovsynch, es uno de los protocolos desarrollados para controlar el desarrollo folicular y la ovulación, el tratamiento consiste en la administración de un análogo a la GnRH (para controlar al desarrollo folicular), seguido de una inyección de PGF2 α 7 días más tarde (para inducir la luteólisis), una inyección de GnRH 36 - 48 horas después de la PGF2a (para sincronizar la ovulación) e IATF, a las 15 horas de la segunda GnRH. El uso de la primera GnRH se basa en la inducción de un pico de LH y consecuentemente la ovulación de un folículo dominante, que a su vez resulta una nueva onda de crecimiento folicular 2 o 3 días después (Galina y Valencia, 2008)

2.4.4 Aplicación de eCG

La Gonadotrofina coriónica equina (eCG), hormona placentaria, es secretada en las copas endometriales que se han formado alrededor del día 40 en las yeguas gestantes; es una hormona glicoproteica con un peso molecular aproximadamente de 70.000 Daltons, por lo que no aparece en la orina y circula en la sangre (Sumano, 2006), contiene subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH pero con mayor contenido de carbohidratos (45% de su masa), especialmente ácido siálico, hecho que le confiere características propias desde el punto de vista farmacocinético, como una vida media prolongada (Bo y Caccia, 2000; Hafez, 2002; Sumano, 2006) aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea (Bo y Caccia, 2000).

La gonadotropina coriónica equina administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular debido a que tiene la capacidad de unirse e incrementar el número de receptores de FSH y LH de los folículos, aumentando el tamaño del folículo preovulatorio, incrementando las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez (De Los Reyes, 2011; De Rensis, 2014).

Siendo su efecto dosis dependiente (mayor respuesta ovárica con dosis elevadas). Se ha observado que al aumentar el tamaño del folículo preovulatorio, el cuerpo lúteo que se desarrolla posteriormente es de mayor tamaño, produciéndose una mayor concentración de progesterona (De Rensis, 2014).

En este caso, la eCG no aumenta el diámetro del cuerpo lúteo sino que actúa sobre las células luteales grandes aumentando su capacidad de secreción. En ambos casos, ya se aplique pre o postovulación, se produce un aumento de progesterona en sangre durante la fase luteal (De Rensis, 2014).

Aunque los protocolos de sincronización a tiempo fijo que combinan GnRH, progesterona, y prostaglandinas normalmente alcanzan resultados reproductivos óptimos, en casos de animales comprometidos metabólicamente estos resultados pueden verse alterados. El impacto de factores externos (estrés por calor) o momentos fisiológicos concretos, como pueden ser el posparto temprano, una nutrición deficiente, una baja condición corporal, el

anestro o incluso su uso en vacas primíparas, pueden reducir drásticamente las tasas de preñez de estos animales sincronizados. Es en este tipo de situaciones donde la administración de eCG ha cobrado especial importancia a nivel de explotación (De Rensis, 2014)

Algunos de estos efectos pueden tener utilidad en vacas con ciclicidad normal, pero son de especial utilidad en hembras cuya secreción endógena de LH y actividad ovárica se ha visto comprometida. (De Los Reyes, 2011; De Rensis, 2014).

La gonadotrofina coriónica equina no aumentó el diámetro del folículo ovulatorio, según se reportó en determinados experimentos realizados en bovinos para carne. Sin embargo, otro experimento que se realizó recientemente en Brasil reveló que los tratamientos con eCG producen niveles superiores de progesterona sérica en la fase luteal siguiente, lo que sugiere que eCG estimula el desarrollo de un cuerpo lúteo más competente. Esto, a su vez, puede producir un incremento en la tasa de preñez (Bo y Caccia, 2000).

2.5. ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN VACAS

La técnica de ecografía es una valiosa tecnología que es ampliamente utilizada para estudiar y evaluar el estado funcional del aparato reproductivo de los Bovinos y de otras especies. Tiene como propiedad de permitir observar los órganos genitales en forma rápida sin ocasionar algún daño. Como resultado de este mecanismo se forma una imagen dinámica en la pantalla del monitor del equipo que muestra una delgada y

profunda área de la estructura o tejido que se está evaluando (Perea, 2005).

2.5.1 Ultrasonografía del ovario

El estudio ecográfico de los ovarios resulta una importante ayuda en el manejo reproductivo de los bovinos por la posibilidad de evaluar las características de la dinámica folicular, la presencia de folículos ovulatorios y a través de un seguimiento, estimar el momento de la ovulación. Además se pueden ver cuerpos lúteos y estructuras patológicas en ovario (neoplasias y quistes) (Sánchez *et.al*, 2000).

El examen ecográfico de los ovarios se realiza habitualmente por vía transrectal previa evacuación completa del recto (Tejero, 2008). Los ovarios se localizan siguiendo los cuernos uterinos (Quintela *et al.*, 2006). La movilidad de los ovarios hace que esta exploración sea más difícil que la del útero (Díaz *et al.*, 1998).

2.5.1.1 Identificación y medición del folículo

El diámetro se determina colocando las marcas ecográficas de medida sobre la pared interna y por lo tanto se mide la cavidad folicular y no el folículo en sí. Se tiene forma irregular el diámetro folicular será la media entre el diámetro mayor y menor (Pierson y Ginther, 1987)

Estudios demostraron la eficacia del ultrasonido mostraron que cuando se comparó el número de folículos identificados por ultrasonografía y por corte de los ovarios no hubo diferencia significativa entre las técnicas, demostrando que el diagnóstico

mediante ultrasonografía es un método confiable para identificación y medición de los folículos en la vaquillonas (Pierson y Ginther, 1987).

2.5.1.2 Determinación de la dinámica folicular

Para evaluar la dinámica folicular se monitorea los cambios individuales de los folículos ≥ 4 mm presentes en cada ovario (Bo, 2008). Esta identificación individual de los folículos requiere de gran coordinación entre los ojos y los movimientos de la mano para permitir una visualización directa y más detallada de todas las estructuras y muchas veces se debe realizar un escaneo minucioso para encontrar un folículo, ya que las sombras u otras interferencias pueden ocultarlo (Quintela et al, 2006).

2.5.1.3 Determinación mediante ultrasonografía del momento de la ovulación.

La ovulación en la vaca se detecta fácilmente. Si se realiza un seguimiento del animal se observa la desaparición del folículo preovulatorio (mucho más grande que los demás folículos del ovario; alrededor de 15-17 mm) y esto se corrobora con la posterior formación del cuerpo lúteo (Bo y Caccia, 2000).

2.5.2 Morfología ultrasonografía del cuerpo lúteo

La ultrasonografía también ha sido usada para caracterizar el cuerpo lúteo bovino durante el intervalo interovulatorio. Su ecotextura es diferente a la del estroma ovárico e identificable por ultrasonografía en la mayoría de las vaquillonas a partir del día de la ovulación

(promedio: día 0,5) y a partir del día 3 con bordes bien definidos. Normalmente se distingue a lo largo de casi todo el ciclo estral e inclusive hasta cerca de la siguiente ovulación (en promedio: 1,4 días antes de que la misma). En algunos casos el cuerpo albicans se distingue hasta 2 o 3 días post ovulación (Pierson y Ginther, 1987).

2.6. MEDICIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE PROGESTERONA

En los últimos cuarenta años, la evaluación de la función endocrina ha presentado un avance extraordinario. La introducción del radioinmunoensayo y técnicas relacionadas (Enzima inmunoanálisis, Quimioluminiscencia y Electroquimioluminiscencia) han permitido medios altamente específicos y sensitivos para medir hormonas en suero, plasma, leche y otros líquidos corporales. Los inmunoensayos han ayudado a aumentar el conocimiento de eventos endocrinos y metabólicos que ocurren durante el estrés, enfermedades, ciclos reproductivos, crecimiento y desarrollo (Engelking, 2000)

El inmunoensayo es un conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que tienen en común el usar complejos inmunes, es decir los resultantes de la conjugación de anticuerpos y antígenos, como referencias de cuantificación de un analito (sustancia objeto de análisis) determinado, que puede ser el Ac (anticuerpo) o un Ag (antígeno), usando para la medición una molécula como marcador que hace parte de la reacción con el complejo inmune en la prueba o ensayo químico (Andrade, 2006).

Actualmente ha surgido una alternativa diferente a los métodos de IFI (inmunofluorescencia) y ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), es un inmunoensayo basado en el principio de quimioluminiscencia (CLIA), el cual está experimentando un creciente interés, ya que es un método simple, barato, que maneja coeficientes de variación de alrededor de 10%, presenta una sensibilidad y especificidad analíticas excelentes, además de que permite la resolución y cuantificación de varios analitos en mezclas relativamente complejas (García *et.al*, 2001).

2.6.1 Inmunoquimioluminiscencia

Es una variante del método de inmunoanálisis en el que se utiliza como marcador una sustancia quimioluminiscente, es decir, una sustancia que produce luz cuando es excitada por la energía química. Las emisiones de luz de la sustancia marcada se miden con un detector de luz. La marca es en general una enzima capaz de catalizar una reacción quimioluminiscente. Son tanto o más sensibles que los radioinmunoensayos, y no presentan riesgos de manipulación de sustancias radioactivas. En contraposición están poco desarrollados y no siempre es posible aplicarlos (Castieiras *et al*, 1997).

La técnica se basan en la gran especificidad y afinidad de los anticuerpos por sus antígenos específicos y se usan los anticuerpos monoclonales (obtenidos en el laboratorio) o de sueros policlonales (obtenidos de animales), siendo más específicos los monoclonales (Andrade, 2006).

La técnica de medición es competitiva y el medio usado es homogéneo;

- **Competitivo:** el Ag objeto de la medición compete con un antígeno marcado por un Ac. Se mide por la cantidad del antígeno marcado sin conjugado que se considera es inversamente proporcional al analito (Castieiras et al, 1997).

- **Homogéneo:** En este tipo de ensayo la señal generada por la unión del antígeno y el anticuerpo se mide directamente en el mismo medio que se utiliza para favorecer la formación del complejo inmune (Castieiras et al, 1997).

Su gran sensibilidad y especificidad permite la cuantificación de compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentración reducida, del orden de nanogramos/ml o de picogramos/ml.

El desarrollo del inmunoensayo ha tenido gran impacto en el campo del diagnóstico médico mediante pruebas de laboratorio o química clínica (Andrade, 2006).

2.7. ANTECEDENTES

Adco, (2017), realizó la investigación: “Efecto de dos protocolos de sincronización de celo en vacas de la raza Aberdeen Angus en el altiplano peruano” realizado en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla – Universidad Nacional del Altiplano, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Con 20 vacas no gestantes sometidas a dos protocolos de sincronización de celo:

TI (Ovsynch):

- Día 0, constituido por una inyección de GnRH 100ug
- Día 7, es administrada PGF2a 25mg
- Día 9, GnRH 100ug 48 horas más tarde para inducir una nueva ovulación sincronizada 28–32 horas. La inseminación artificial en tiempo fijo es realizada 12h post segunda inyección de GnRH

TII (CIDR – SYNCH):

- Día 0, inyección de GnRH 100ug más la aplicación del CIDR mantiene los niveles de progesterona estable y el cuerpo lúteo se encuentra presente.
- Día 7, se retira el CIDR además de administrar PGF2a 25mg.
- Día 9, inyección de GnRH 100ug para inducir una nueva ovulación. La inseminación artificial en tiempo fijo es realizada 12h post segunda inyección de GnRH.

La investigación llegó a las siguientes conclusiones:

- Diámetro Máximo del Folículo Ovulatorio tratamiento I el promedio del diámetro máximo es 8.09 ± 3.23 mm y para el tratamiento II el promedio fue de 10.2 ± 3.11 mm.

Callo, (2016), realizó la investigación: “Evaluación de la reutilización del DIB (dispositivo intravaginal bovino) sobre la dinámica folicular y tasa de preñez en vacas y vaquillas sometidas a un protocolo de sincronización de celo” en los meses de setiembre y octubre del año 2015, en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla–Universidad Nacional del Altiplano, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia donde se evaluaron 37 vacunos entre Vacas y Vaquillas de la Raza Brown Swiss sometidas a un protocolo de sincronización siguiente:

- Día 0: Se Inició la Sincronización de celo con la aplicación intramuscular de Benzoato de estradiol (2 mg) previa desinfección de la zona a aplicar y colocación del CIDR (1 g de Progesterona) por vía intravaginal.
- Día 8: Se Aplicó intramuscular de Prostaglandina (500 ug) y Gonadotropina Coriónica Equina (400 UI) previa desinfección de la zona a aplicar.
- Día 10: Se Aplicó por vía intramuscular de Hormona Liberadora de las Gonadotropinas por la mañana, mientras que por la tarde se hizo la Inseminación Artificial según lo recomendado por Galina & Valencia (2008), realizada a las 48 horas posteriores del retiro del CIDR

La investigación llego a las siguientes conclusiones:

- El tamaño folicular el día ocho de la sincronización fue de 8.82 ± 0.68 mm para el Primer uso de CIDR y de 14.42 ± 1.13 mm para el Segundo uso de DIB como promedio tanto en vacas como en vaquillas. Comparando la dinámica folicular en vacas y vaquillas fue de 12.42 ± 1.12 y 10.18 ± 1.03 mm respectivamente.
- El tamaño folicular preovulatorio fue de 13.41 ± 0.52 mm para el primer uso de CIDR y de 11.62 ± 0.64 mm de segundo uso de CIDR como promedio tanto en vacas como en vaquillas Brown Swiss.

Quispe (2014), realizó la investigación: “Determinación ultrasonográfica de estructuras ováricas y gestación en vacas Brown Swiss sometidas a dos protocolos de sincronización” en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, ubicado en la provincia de Melgar – Puno donde se utilizó 31 vacas multíparas de la raza Brown Swiss (15 para el protocolo CIDR-GnRh-eCG y 16 para el protocolo CIDR-benzoato de

estradiol-eCG), cíclicas y clínicamente sanas, con condición corporal entre 3,3 a 3,5 (escala del 1al 5).

La investigación llevo a las siguientes conclusiones:

Resultados de diámetros foliculares, ovulatorios y tamaño de cuerpo lúteo (Quispe, 2014).

Variables	Tratamientos	
	CIDR-GnRh-eCG	CIDR-BE-eCG
Diámetro folicular al inicio dela sincronización (mm)	7.93 ± 3.52	8.08 ± 3.23
Diámetro del folículo dominante, mm	11.23 ± 5.00	11.11 ± 1.45
Diámetro del folículo ovulatorio, mm	16.60 ± 4.55	16.56 ± 2.73
Tamaño de cuerpo lúteo de gestación, mm	24.15 ± 4.91	23.73 ± 4.31

- El uso de la combinación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) o el Benzoato de Estradiol con un dispositivo interno de liberación controlada de progestágenos aunado al uso de la gonadotropina coriónica equina (eCG), permiten un adecuado desarrollo folicular, un buen tamaño de folículo ovulatorio en vacas Brown Swiss en condiciones medio ambientales de altura.

Quispe (2013), realizo la investigación: ESTUDIO ULTRASONOGRÁFICO DE LA DINÁMICA FOLICULAR EN VACAS BROWN SWISS EN EL ALTIPLANO PERUANO, el experimento fue realizado en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, Universidad Nacional del Altiplano, Melgar; Puno. Se utilizaron 6 vacas

Brown Swiss (evaluación de 3 ciclos estrales consecutivos) de edad promedio 4.8 ± 1.1 años, 3.2 ± 1.2 partos, las cuales fueron divididas en dos grupos: Grupo I con vacas aparentemente normales y el Grupo II vacas denominadas como “repetidoras”

La investigación llego a las siguientes conclusiones:

Resultados de diámetros folicular dominante, día de evaluación de cuerpo lúteo y diámetro de cuerpo lúteo (Quispe, 2013).(mm)

Característica	Grupo I	Grupo II
Folículo dominante	15.8 ± 2.2	10.1 ± 3.3
Días de evaluación de cuerpo lúteo	10.8 ± 3.7	9.3 ± 0.6
Diámetro de cuerpo lúteo	26.8 ± 3.0	27.0 ± 7.0

Baruselli et. al. (2001), en su investigación: “Aumento de las tasas de embarazo en los receptores de embriones tratados con dispositivos CIDR-B y eCG.” realizado en el facultad de medicina veterinaria Universidad de São Paulo, con vacas bos Taurus e indicus. La investigación llego a las siguientes conclusiones:

- determino un tamaño promedio de cuerpo luteo de 1.68cm con un protocolo basado en CIDR y eCG 800 UI

- Diámetro de cuerpo lúteo y niveles séricos de progesterona (ng/mL) con un protocolo basado en CIDR y eCG 800 UI. (Baruselli et.al., 2001)

Relación entre diámetro de cuerpo lúteo y niveles de progesterona en sangre (Baruselli et.al, 2001).

CUERPO LUTEO	PROGESTERONA EN SANGRE
2 cm	2.44 ng/mL
1.55 cm	1.75 ng/mL
<1.5	1.19ng/mL

Spell, *et. al* (2001) realizó la investigación: Evaluación de los factores receptores y embrionarios que afectan las tasas de embarazo de la transferencia de embriones en el ganado vacuno, se sincronizaron 763 receptores potenciales con un protocolo de sincronización a base de un implante de norgestomet durante 7 días con una dosis de PGF2a (25 mg i.m.) 24 horas antes de la remoción del implante.

La investigación llegó a las siguientes conclusiones:

- Determino un nivel de progesterona sérica de 4.2 ng/mL.
- Obtuvo 2.36 cm de diámetro de cuerpo lúteo en trabajos con hembras bovinas receptoras.

Kastelic (1990) realizó la investigación: "Morfología ultrasónica del cuerpo lúteo y cavidades lúteas centrales durante el ciclo estral y embarazo temprano en novillas" con 14 novillas nulíparas de Holstein sin ningún tratamiento. La investigación llegó a las siguientes conclusiones:

- el día 7 del ciclo estral el cuerpo lúteo mide 5 milímetros de diámetro
- el día 14 el mismo cuerpo lúteo mide 6 milímetros de diámetro.

Ginther et al, (1996), realizaron la investigación: “Selección del folículo dominante en el ganado” en el Departamento de ciencias lecheras, Universidad de Wisconsin- Madison donde evaluaron 28 ondas foliculares de y determino niveles de progesterona en vacas lecheras por la técnica de radioinmunoensayo. Llego a las siguientes conclusiones:

Intervalos de concentración de progesterona / días del ciclo estral

(Ginther et al, 1996).

Especie	Intervalos de concentración de progesterona (ng/mL)/ días del ciclo estral				
	0 - 2	3 - 5	6 - 12	13 - 16	17 - 21
Bovinos	0,5 - 2		3 - 6	7 - 12	1 - 5

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El estudio se realizó durante los meses de setiembre y octubre del año 2015, en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, de la, ubicado en el distrito de Umachiri, Provincia de Melgar, Región Puno, teniendo una extensión total de 4, 316 Has. A una distancia de 156 Km. de la Ciudad de Puno, Geográficamente se encuentra entre las coordenadas latitud Sur 14° 47' 37", longitud Oeste 70° 47' 50", Altitud de 3974 msnm, presenta un clima Templado – Frío la mayor parte del año, con una temperatura promedio anual de 8.6°C (máxima de 17.8°C en Abril y mínima de - 16°C en Julio), una humedad relativa promedio anual de 47.58% y una precipitación pluvial promedio anual de 628 mm/año (SENAMHI, 2016).

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1 Animales

Para el estudio se evaluaron 18 animales entre vacas y vaquillas de la Raza Brown Swiss, con edad de 20 meses a 4.8 años evaluados al examen ecográfico que se encontraban con un útero aparentemente normal, los cuales fueron distribuidos de la siguiente forma:

Tabla 1. Distribución de los animales en los dos tratamientos del estudio.

GRUPOS	n
vacas y vaquillas en anestro	6
vacas y vaquillas ciclando	12
total	18

3.2.2 Manejo

Durante el periodo experimental las vacas seleccionadas tuvieron el manejo que se da a todas las demás vacas en producción. Las vacas ingresaban a las 3.30 a.m. provenientes del corral de descanso a la sala de espera en donde recibían una alimentación a base de ensilado de avena. Terminando el ordeño los animales salen al pastoreo, el cual está compuesto de pastos naturales y pastos cultivados de las asociaciones *Rye grass*, *Medicago sativa* y *Dactylis glomerata* en un sistema de rotación con cerco eléctrico hasta aproximadamente hasta el mediodía, en horas de la tarde las vacas son alimentadas con ensilado de avena. Al momento del ordeño se les proporciona suplementación a base de concentrado, también se suplemento con sales minerales en bloquetas. En cuanto al alojamiento los animales se mantuvieron en un establo y un corral de descanso que poseían cobertizos.

3.2.3 Instalaciones

Se utilizaron las pertenecientes al CIP – Chuquibambila, siendo estas:

- Establo Lechero
- Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1 Evaluación ultrasonográfica

La evaluación ultrasonográfica se realizó de la siguiente forma.

- Primeramente, se realizó toda la conexión con el equipo apagado, y para la introducción por vía transrectal del transductor, se aplicó un gel transmisor entre la funda protectora del transductor (guante obstétrico) y la membrana sensible de este para facilitar el paso de los ultrasonidos, asimismo para una mejor preservación de la parte más delicada del equipo, y como forma de no “contaminar” el transductor y poder así vehicular algún microorganismo a otras zonas de trabajo.
- Se realizó una buena sujeción del animal en el brete
- Se efectuó el lavado de toda la región perineal y órganos genitales externos con agua tibia.
- Se insertó suavemente una mano enguantada y lubricada en el recto en forma de cuña.
- Se removió las heces de la ampolla rectal con una suave estimulación del reflejo normal de defecación, tomando en cuenta lo mencionado por Tejero (2008) que el examen ecográfico de los

ovarios se realiza habitualmente por vía transrectal previa evacuación completa del recto.

- Se ubicó las partes del tracto reproductivo, se ubica la cervix como guía para ir hacia delante hasta los cuernos uterinos tanto derecho e izquierdo, guiarse hasta llegar a los ovarios, se colocó encima del ovario derecho e izquierdo) luego introducimos el transductor para observar sus estructuras (tamaño, forma y diámetro) (Sánchez *et.al*, 2000). Cada imagen seleccionada en la pantalla del monitor fue congelada obteniéndose imágenes estáticas, y utilizando el calibre electrónico del ecógrafo para realizar las mediciones de las estructuras ováricas, anotadas en una hoja Excel que se muestra en anexos A1(cuadro de datos y resultados)
- Después de haber observado las estructuras se retiró el transductor, también el brazo y la mano hasta la palma.
- Liberar al animal de la sujeción, quitarse los guantes y desecharlos.

Se empleó un ecógrafo Medison SA-600 V, modo-β en tiempo real (Medison Co, LTD, Korea), equipado con una sonda transductora lineal con doble frecuencia de onda (5.0 – 7.5 MHz), indicada para el examen transrectal de grandes animales.

3.3.1.1 Clasificación de animales por estado ovárico

Antes de la aplicación de los tratamientos (día 0) se realizó la evaluación ultrasonográfica para determinar los grupos de estudio; se clasificó a las vacas y vaquillas según su estatus ovárico (hembras ciclando y hembras en anestro), (ver anexo A1 cuadro 11

y 12) tomando en cuenta lo mencionado por Menchaca *et al.* (2013) quienes proponen la siguiente clasificación según las siguientes características:

- Hembras Ciclando : Presencia de cuerpo lúteo en alguno de los ovarios
- Anestro Superficial : Ausencia de cuerpo lúteo en alguno de los ovarios, pero con presencia de folículos entre 8 y 13 mm de diámetro.
- Anestro Profundo : Ausencia de cuerpo lúteo en alguno de los ovarios y presencia de folículos menores a 5 mm.

Figura1: evaluación de estado ovárico de vacas y vaquillas

INICIO DE TRATAMIENTO



0.....	7	8	...	10.....	14	15	16	17	18	19	20
--------	---	---	-----	---------	----	----	----	----	----	----	----

DIAS

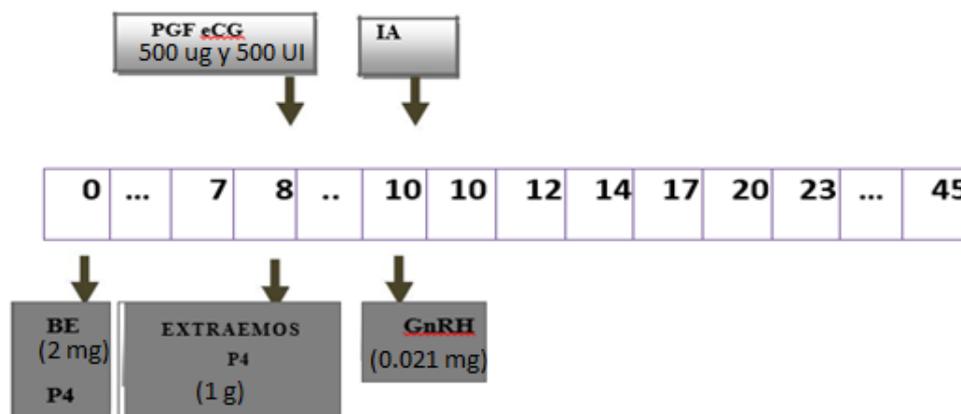


ECOGRAFIA

3.3.1.2 Sincronización de celo

Para la sincronización del celo se utilizó un protocolo de sincronización en base las siguientes hormonas: Progestágeno (CIDR), Benzoato de Estradiol, Prostaglandina F2 alfa, GnRH (acetato de Buserelina), Gonadotropina Coriónica Equina los cuales fueron administrados en distintos días como se observa en el siguiente ilustración.

Figura 2. Protocolo de Sincronización de celo en Vacas y Vaquillas (Bryan et al., 2013)



Donde:

P4: Progestágeno (DIB)

BE: Benzoato de Estradiol

PGF2 α : Prostaglandina F2 alfa

GnRH: Acetato de Buserelina

ECG: Gonadotropina Coriónica Equina

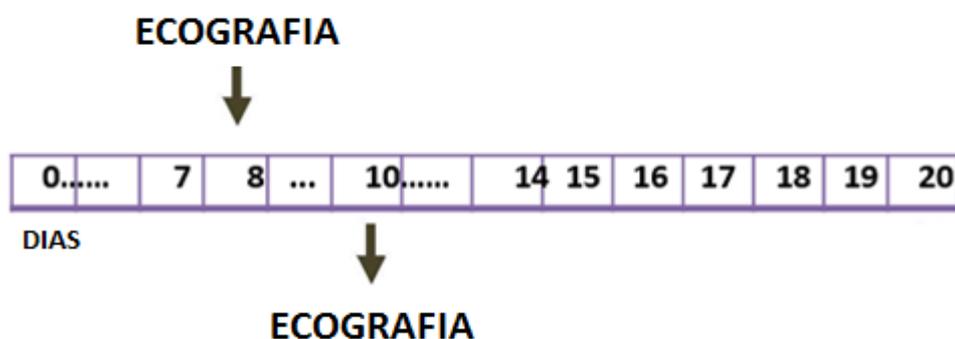
- Día 0: Se Inició la Sincronización de celo con la aplicación intramuscular de Benzoato de Estradiol (2 mg) previa desinfección de la zona a aplicar y colocación del CIDR (1 g de Progesterona) por vía intravaginal.
- Día 8: Se retiró el CIDR y se aplicó intramuscular de Prostaglandina (500 ug) y Gonadotropina Coriónica Equina (400 UI) previa desinfección de la zona a aplicar.
- Día 10: Se Aplicó por vía intramuscular de Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH) por la mañana, mientras que por la tarde se hizo la Inseminación Artificial según lo recomendado por

Galina & Valencia (2008), realizada a las 48 horas posteriores del retiro del CIDR (Ver anexo A2 ilustración 18).

3.3.2 Determinación de dinámica folicular

Para determinar la dinámica folicular de los animales en estudio se evaluaron mediante ecografía los días 8 y 10 después de iniciado el tratamiento, como se muestra en la siguiente ilustración.

Figura 3: Esquema de evaluación ultrasonografía para determinar la dinámica folicular

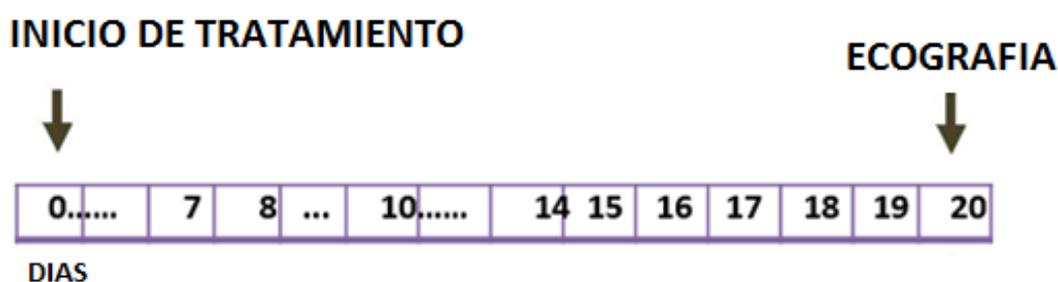


- Día 8: Se realizó la evaluación al mismo tiempo de la aplicación de la eCG y extracción de CIDR con la finalidad de evaluar al folículo de mayor tamaño de ambos ovarios.
- Día 10: De la misma forma la evaluación se realizó para evaluar el crecimiento folicular (tasa de crecimiento) del folículo de mayor tamaño evaluado el día 8.

3.3.3 Determinación de diámetro de cuerpo lúteo

Para la determinar el diámetro del cuerpo lúteo en los animales sincronizados se evaluaron ecográficamente según se detalla en la ilustración siguiente:

Figura 4: Esquema de evaluación ultrasonografía

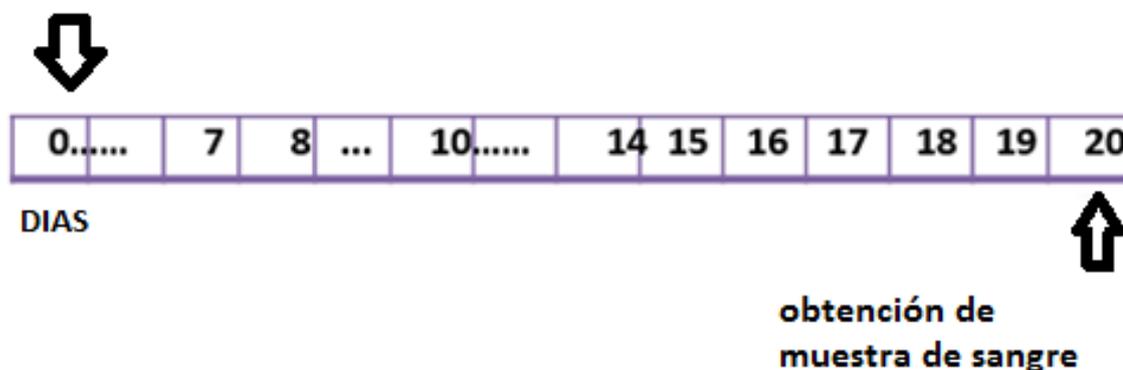


- Día 20: Se realizó evaluación de tamaño de cuerpos lúteos en las vacas y vaquillas.

3.3.4 Determinación de progesterona sérica

Para la determinación de los niveles de progesterona sérica durante el experimento se recolectaron muestras como se observa en la siguiente ilustración:

Figura 5: colección de muestras de sangre para determinar progesterona

INICIO DE TRATAMIENTO

- Día 20: se realizó punción de la vena yugular para obtener muestras de sangre

La sangre fue centrifugada para conservar el plasma en congelación para su evaluación en el laboratorio

Evaluación del plasma se remitió al laboratorio LABORATORIO'S PUNO en la ciudad de Puno, para que sean evaluadas con el Equipo Lumax: INMUNO-QUIMIOLUMINISCENCIA

Los resultados se muestran en el anexo A3.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los variables de diámetro folicular en el día 8, preovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona sérica, donde se determinaron el promedio y desviación estándar se comparó a través de la prueba de T; para lo cual de aplico la siguiente fórmula:

$$t = \frac{x - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

Dónde:

X: Media Muestral

S: Desviación Estándar Corregida

n: Tamaño Muestral

T: T De Student

μ : Valor Cualquiera

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Dinámica folicular

4.1.1 Estado ovárico del día cero del experimento.

En la tabla 2 muestra el estatus ovárico clasificado según lo recomendado por Menchaca *et, al* (2013) quien clasifica al grupo de hembras en tres categorías que son hembras ciclando, anestro superficial y anestro profundo.

Tabla 2. Estado ovárico de los animales en el día cero del protocolo.

estado ovárico	Número de animales	Cuerpo Lúteo regresión	Cuerpo Lúteo crecimiento
ciclando	12	8	4
anestro superficial	3	-	-
anestro profundo	3	-	-
total	18	-	-

En la clasificación de hembras ciclando se encontró al examen ginecológico por ultrasonografía la presencia de cuerpos lúteos, observándose que 8 animales mostraron cuerpo lúteo en crecimiento y 4 animales un cuerpo lúteo en regresión esto se debe que en este último grupo de animales se observó el ovario contrario la presencia de folículos mayores a 13 mm que podrían ser folículos pre-ovulatorios y el primer grupo folículos menores a 5 mm.

Las hembras en anestro superficial fueron 3 las cuales mostraron a la ecografía folículos de 12 a 15 mm lo que indica que existe producción de gonadotropinas (cabe resaltar que no se encontró cuerpo lúteo) y finalmente 3 animales se clasifican en anestro profundo ya que se hallaron folículos menores a 5 mm (Ver anexo cuadro 12).

4.1.2 Tamaño folicular al día ocho de la sincronización de celo

En la tabla 3 se muestra los resultados del tamaño folicular el día 8 de la sincronización de celo después de retirado el dispositivo intravaginal bovino (CIDR) en vacas y vaquillas Brown Swiss en distinto estatus ovárico, observándose que no existe diferencia estadística ($p>0.05$)

Tabla 3. Tamaño Folicular el día ocho de la sincronización de celo. (mm)

GRUPO	N	promedio \pm DS	Valores extremos	
			Max	Min
Animales con cuerpo lúteo	12	8.75 \pm 2.19	15.54	5.47
Animales sin cuerpo lúteo	6	8.42 \pm 3.99	12	4.69

Durante la evaluación ecográfica del día 8 se evaluaron los folículos de una onda folicular distinta al día cero, ya que Bavera, (2005), menciona que la administración de benzoato de estradiol (BE) provoca la atresia del folículo dominante de la onda de desarrollo folicular en curso

(independientemente que éste se encuentre en fase de crecimiento, dominancia o meseta) e induce una nueva onda folicular entre 4 y 5 días más tarde, podría deberse a lo mencionado por Hafez, (1996), que por retroalimentación negativa, los estrógenos inhiben la secreción de la hormona folículo estimulante de la hipófisis y de GnRH del hipotálamo.

Cabe mencionar que el día ocho no se evaluó la presencia de cuerpo lúteo en el grupo de animales ciclando ya que el día cero se administró benzoato de estradiol (BE) y Bavera, (2005), menciona que produce la regresión del cuerpo lúteo en formación.

Los valores del grupo de animales ciclando en la sincronización de celo al día 8 en el que se retira el CIDR los folículos tienen un tamaño promedio de 8.75 ± 2.2 mm de diámetro, mientras que en el grupo de animales en anestro tienen un promedio de 8.42 ± 3.99 mm al día 8 del retiro del dispositivo.

Resultados similares menciona Callo (2015) quien obtuvo un diámetro 8.82 ± 0.68 mm en vacas esto podría deberse a que estos animales también fueron sometidos con el mismo protocolo de sincronización.

Quispe (2014) también obtuvo resultados similares cuando trabajo con dos protocolos fundamentados en (CIDR-GnRh-eCG) P1 y (CIDR-Benzoato de Estradiol-eCG) P2 teniendo como diámetro folicular a inicio de la sincronización de 7.93 ± 3.52 mm y 8.08 ± 3.23 mm.

Esta similitud podrían deberse a lo mencionado por Menchaca *et al.*, (2013) que el efecto inhibitorio de los niveles altos de progesterona CIDR sobre el crecimiento del folículo dominante se deben a la acción inhibitoria

de esta hormona sobre la pulsabilidad de la LH. Ya que el dispositivo CIDR libera aproximadamente 89 mg de Progesterona diariamente y aumenta las concentraciones plasmáticas en aproximadamente 0.8 a 1.0 ng/ml. según cita Rathbone *et al.* (2002).

4.1.3 Tamaño del folículo preovulatorio en vacas sincronizadas en distinto estado ovárico al día diez del tratamiento.

En la tabla 4. Se muestran los promedios de los diámetros de los folículos preovulatorios en donde no se halló diferencia estadística ($p > 0.05$)

Tabla 4. Tamaño folicular Preovulatorio en vacas y vaquillas sincronizadas con el protocolo en el día diez del tratamiento. (mm)

GRUPO	N	Promedio \pm DS	Valores extremos	
			Max	Min
Animales c/ CL	12	12.53 \pm 2.05	15.29	9.13
Animales s/ CL	6	14.64 \pm 2.11	17.28	12.56

En cuanto al promedio de tamaño de folículos preovulatorios con el presente protocolo se alcanzó para los animales ciclando un promedio de 14.5 \pm 2.07 mm, en cambio en el segundo grupo de vacas un promedio de 12.1 \pm 2.0 mm. La similitud entre estos dos grupos puede estar relacionado con lo mencionado por De Los Reyes (2011) y De Rensis (2014) quienes determinan que los

efectos de la eCG pueden tener utilidad en vacas con ciclicidad normal, pero son de especial utilidad en hembras cuya secreción endógena de LH y actividad ovárica se ha visto comprometida, como pueden ser el anestro o incluso su uso en vacas primíparas.

Resultados que difieren de Quispe (2013) y Fricke (2007) los cuales reportan datos de folículos dominantes más grandes con un diámetro de 15.8 ± 2.2 mm en vacas Brown Swiss aparentemente normales del CIP Chuquibambilla y 15 mm en diferentes razas lecheras. Esta diferencia podría deberse al número de animales observados ya que en ese estudio se evaluaron 4 animales vacas Brown swiss en producción con edad promedio 5 años y 3.2 partos. Y Galina & Valencia, (2008) mencionan que vaquillas presentan menores tamaños foliculares por su menor desarrollo sexual en comparación a vacas maduras.

Resultados menores a lo reportado por Quispe (2014) en Vacas Brown Swiss que desarrollaron folículos preovulatorios con diámetro de $16,60 \pm 4,55$ mm y $16,56 \pm 2,73$ en sus dos grupos de tratamiento(ambos incluyen eCG); esta diferencia se puede deber ya que el autor realizo la sincronización de celo solo en vacas mientras que en el presente estudio muestra un promedio tanto de vacas como vaquillas ya que Galina & Valencia, (2008) menciona que estas últimas presentan menores tamaños foliculares por su menor desarrollo sexual en comparación a vacas maduras.

Callo (2016) determinó tamaño folicular preovulatorio de 13.41 ± 0.52 mm para el primer uso de CIDR y de 11.62 ± 0.64 mm de segundo uso de CIDR como promedio tanto en vacas como en vaquillas Brown Swiss , resultados similares a los observados en el presente experimento, ya que en su trabajo utilizo un protocolo similar.

Resultados similares a lo reportado en el presente estudio fueron reportados por Ré et al. (2015) quienes reportan diámetros de folículos ovulatorios de 13.1 y 12.8 mm en vacas y vaquillas de raza Holando Argentina, estos resultados se pueden deber a que se utilizaron animales de producción de leche como también al uso de protocolos de sincronización similares los que probablemente han podido actuar de forma similar en sus acciones endocrinológicas. Ya que De Rensis, (2014) ha observado que la eCG aumenta el tamaño del folículo preovulatorio.

Adco (2017) reportó resultados de folículos preovulatorios de 9.14 mm con el protocolo de ovsynch y CIDR Synch en ganado de raza Aberdeen Angus, estos resultados son inferiores los observados en el presente trabajo debido a que en el presente protocolo se usó de eCG y De Rensis (2014) menciona haber observado el aumento del tamaño del folículo preovulatorio por el efecto de eCG sobre el desarrollo del folículo preovulatorio.

4.2. Tamaño de cuerpo lúteo en vacas y vaquillas, con distinto estado ovárico, sincronizadas con el protocolo, evaluado el día 20 del tratamiento.

En la tabla 5 se muestran los promedios de los diámetros de los cuerpos lúteos ecografiados de los dos grupos de estudio en donde no se halló diferencia estadística ($p > 0.05$)

Tabla 5. Diámetro de cuerpo lúteo obtenido en vacas sincronizadas con el protocolo, día 20 del tratamiento. (mm)

GRUPO	n	Promedio \pm DS	Valores extremos	
			Max	Min
Animales c/ CL	12	9.36 \pm 1.55	11.4	6.84
Animales s/ CL	6	10.93 \pm 1.54	13	9.42

p>0.05

En cuanto al tamaño de cuerpo lúteo con el presente protocolo se alcanzó para los animales ciclando un promedio de 9.36 \pm 1.55 mm, en cambio en el segundo grupo de vacas un promedio de 10.93 \pm 1.54 mm, la similitud de estos resultados podrían deberse a lo citado por De Los Reyes, (2011) y De Rensis, (2014) que el uso de eCG permite el desarrollo del cuerpo lúteo mas competente en vacas en estado ovárico comprometido y en vacas primíparas.

Resultados similares determinó Quispe (2014) con un promedio de 12 mm de promedio de diámetro de cuerpo lúteo para los días 8 del ciclo usando un protocolo de CIDR, benzoato de estradiol, eCG y PGF2a, esto podría deberse a que el protocolo es similar con la diferencia de la inyección de GnRH.

Esto puede deberse a que la eCG actúa como FSH, como citan Bo y Caccia, (2000); Hafez, (2002); Sumano, (2006), provocando el desenvolvimiento de los folículos y en sinergismo con LH, como menciona Noakes, (1999) y De Rensis, (2014) cita que provoca un aumento del tamaño del folículo preovulatorio, el

cuerpo lúteo que se desarrolla posteriormente es de mayor tamaño, produciéndose una mayor concentración de progesterona.

Los valores son menores a los obtenidos por Quispe (2013) quien observó un promedio de 26.8 mm de diámetro el día 10 del ciclo estral, esto sin el uso de hormonas exógenas, de igual forma. Zemjanis, (1997) describe que anatómicamente el cuerpo lúteo totalmente desarrollado mide de 25 mm a 35 mm de diámetro, esta diferencia podría deberse a la edad de animales observados ya que en ese estudio se evaluaron animales vacas Brown swiss en producción con edad promedio 5 años y 3.2 partos, ya que Galina & Valencia, (2008) y De Rensis, (2014) mencionan que las vaquillas presentan menores tamaños foliculares y su correspondiente cuerpo lúteo por su menor desarrollo sexual en comparación a vacas maduras.

Baruselli *et.al.* (2001) Determinó un tamaño de cuerpo lúteo de 1.68 cm con un protocolo basado en CIDR y eCG 800 UI, Esto puede deberse a que la eCG actúa como FSH, tal como citan Bo y Caccia, (2000); Hafez, (2002); Sumano, (2006), provocando el desenvolvimiento de los folículos y en sinergismo con LH, tal como menciona Noakes (1999) provocando un aumento del tamaño del folículo preovulatorio, por consiguiente un el cuerpo lúteo de mayor tamaño. Considerando también que la eCG tiene efecto dosis dependiente (mayor respuesta ovárica con dosis elevadas tal como cita De Rensis (2014).

4.3. Niveles séricos de progesterona en vacas y vaquillas, con estado ovárico ciclando y en anestro, sincronizadas con el protocolo.

En la tabla 6 se muestran los promedios de los niveles séricos de progesterona de los dos grupos de estudio en donde no se halló diferencia estadística ($p > 0.05$)

Tabla 6. Niveles séricos de progesterona en vacas y vaquillas obtenidos el día diez post ovulación, sincronizadas con el protocolo, día 20 del tratamiento. (ng/mL)

GRUPO	n	Promedio \pm DS	Valores extremos	
			Max	Min
Animales c/ CL	12	1.12 \pm 0.19	1.37	0.82
Animales s/ CL	6	1.31 \pm 0.18	1.56	1.13

p>0.05

En cuanto a progesterona en sangre con el presente protocolo se alcanzó para los animales ciclando un promedio de 1.12 \pm 0.19 ng/mL, en cambio en el segundo grupo de vacas un promedio de 1.31 \pm 0.18 ng/mL. Esta similitud de resultados podría deberse a lo mencionado por Kastelic, (1990), que el tamaño del cuerpo lúteo es una herramienta viable para predecir las concentraciones en sangre de progesterona, a esto apreciación Baruselli *et.al*, (2001) menciona que hay relación entre el diámetro del cuerpo lúteo y los niveles séricos de progesterona.

Los valores obtenidos son mayores a los reportados por Gonzales (2001) que menciona que los niveles máximos de progesterona son de 1 ng/mL desde el día 7 al día 15 del ciclo ovárico. Esto podrían deberse a mencionado por De Rensis (2014) que el uso del gonadotropina coriónica equina 400UI que actúa sobre las células latéales grandes del cuerpo lúteo aumentando su capacidad de secreción. Ya que Polanco (1982); Fitzs *et. al* (1982) y Gordon (1999) mencionan que las células grandes del cuerpo lúteo segregan progesterona, concordando con Bo y Caccia (2000) lo cuales mencionan que los tratamientos con eCG estimula el desarrollo de un cuerpo luteo más competente.

Baruselli *et.al.* (2001), determinó progesterona sérica en promedio 2.39 ng/mL, valores altos a los obtenidos en el presente trabajo, esta variación puede deberse a que el trabajo fue realizado en el trópico con vacas tratadas con 800UI de eCG. Aumentando los niveles de eCG en la circulación sanguínea, esto pudo actuar sobre las celular luteales grandes del cuerpo lúteo y aumentar la secreción de progesterona. Ya que De Rensis (2014) menciona que su efecto es dosis dependiente (mayor respuesta ovárica con dosis elevadas).

Bo y Caccia (2000); Hafez (2002) y Sumano (2006) mencionan que debemos tener en cuenta que la eCG posee una vida media prolongada y según Bo y Caccia, (2000) dura aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea. Bo y Caccia (2000); Hafez (2002) y Sumano (2006) también mencionan que eCG contiene subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH, y teniendo en cuenta lo mencionado por Niswender (2000), provocaría una unión al receptor de LH en la membrana citoplasmática de las celular luteales promoviendo la producción de progesterona.

Spell,*et. al* (2001) determinó niveles séricos de progesterona de 4.2 ng/mL,, con implante de norgestomet durante 7 días con una dosis de PGF2a (25 mg) 24 horas antes de la remoción del implante, resultados superiores a los obtenidos en este experimento, esta diferencia podría deberse a lo mencionado por Moffatt (1993) que el norgestomet es un progestágeno con una potencia superior a la progesterona.

En cambio Ginther *et al.* (1996) reportó niveles de 3 a 6 ng/mL durante los días 6-12 del ciclo estral, determinado por la técnica de radioinmunoensayo, los

cuales son altos, esta diferencia puede deberse a la prueba utilizada ya que Andrade (2006) menciona la técnica de inmuniqumiluminicencia se basan en la gran especificidad y afinidad de los anticuerpos por sus antígenos específicos.

V. CONCLUSIONES

1. El protocolo, en base de dispositivo de progesterona (CIDR), benzoato de estradiol, prostaglandina f2 alfa, GnRH y gonadotropina coriónica equina, administrada en vacas ciclando y en anestro, no mostro diferencia en la dinámica folicular entre ambos grupos.
2. El uso del protocolo en dos grupos de estudio (vacas en anestro y vacas ciclando) no presento diferencia en el diámetro de tamaño de cuerpo lúteo al día 20 de la sincronización entre ambos grupos.
3. El uso del protocolo en dos grupos de estudio (vacas en anestro y vacas ciclando) no mostro diferencia en los niveles de progesterona al día 20 de la sincronización entre ambos grupos.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda estudiar el efecto de la gonadotropina coriónica equina en ciclos posteriores a su utilización por haber tiempo de vida media.
- Se recomienda evaluar dosis mayores a 400 UI de eCG en protocolos de sincronización.
- Se recomienda realizar monitoreo de hembras por medio de perfiles hormonales lo cual permitirá identificar mejores reproductoras.

VII. REFERENCIAS

- ADCO R. 2017. Efecto de dos protocolos de sincronización de celo en vacas de la raza Aberdeen angus en el altiplano. Peru. Universidad Nacional del Altipano-Puno.
- ADAMS, G. P. 1993. Dinámica folicular ovárica en el bovino adulto y prepuber. Simposio Internacional de Reproducción Animal. Octubre. Córdoba, Argentina.
- ANDRADE, A. 2006. Metodologías en el laboratorio clínico: El Inmunoensayo. Capítulo 53. Endocrinología. Víctor M. Arce, Pablo F. Catalina, Federico Mallo editores. Editorial Univ Santiago de Compostela.
- ARTHUR, G.H. 1975. Veterinary reproduction and obstetrics. Fourth edition. London: Baillière- Tindall, 616p.
- ASCOLI, M. Y D.L. SEGALOFF. 1996. Hormonas adenohipofisarias y sus factores liberadores hipotalámicos. Sección XIII. Cap.55 pp 1447-1467.
- ASPRÓN, M. A. 2004. Curso de Actualización - Manejo Reproductivo del Ganado Bovino. En: Aviso. New York.
- BAIRD, D., 1978. Local Utero–Ovarian relationships. In: D. B CRIGHTON, N. B. HYNES, G. R., Control of ovulation. buthetworks, London, pp 217-233.
- BARUSELLI, P., M. MARQUES, E. MADUREIRA, W. COSTA NETO, R. GRADINETTIE, G. BÓ. 2001. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. Theriogenology. 55: 157. Abstract.
- BASU, A, T. SHRIVASTAV, S. MAITRA.2006. A direct antigen heterologous enzyme immunoassay for measuring progesterone in serum without

using displacer. Steroids; 71:222-30.

- BATH L.H., N.F. DICKINSON, A.H. TUCKR Y D.R. APPLEMAN. 1982. Ganado lechero: Principios, prácticas, problemas y beneficios. Editorial Interamericana. Segunda edición California. EE.UU.
- BAVERA, G.2005. Sincronización de celos. Cursos de Producción Bovina de Carne. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina
- BELKYS J. M. VASQUEZ, P. BASTIDAS. 2005. Comportamiento reproductivo de vacas Brahman de primera lactancia suplementadas con proteína no degradable Zootecnia Trop. V.23 n.4.
- BO, G.A. 2008. Palpación y ultrasonografía reproductiva. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC) disponible en www.iracbiogen.com.ar. Consultado el 15-08-2011
- BO, G., Y M. CACCIA. 2000. Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino. Facultad de ciencias agropecuarias. Instituto de Reproducción Animal. Universidad Catolica de Cordoba. Cordoba. Argentina.
- BOTANA, L., M. LANDONI, T. MARTIN. 2002. "Farmacología y terapéutica veterinaria" Primera Edición. Ed. Mc Graw Hill. Interamericana.
- BRAW-TAL R, ROTH Z. (2005) Gene expression for LH receptor, 17 alpha-hydroxylase and StAR in the theca interna of preantral and early antral follicles in the bovine ovary.Reproduction. 129:453-61.
- BRYAN, M., G. BO, R. MAPLETOFT AND F. EMSLIE 2013. The use of equine chorionic gonadotropin en the of anestrous dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. J. Dairy Sci. 96:122-13.

- BRIDGES, P. D. WRIGHT, W. BUFORD, N. AHMAD, H. HERNANDEZ, M.
MCCORMICK, F. SCHRICK, R. DAILEY, P. LEWIS, E. INSKEEP. 2000.
Ability of induced corpora lutea to maintain pregnancy in beef cows.
Journal of American Science. 78, 11: 2942-2949.
- CALLEJAS, S. 1995. Fisiología del ciclo estral bovino. Jornadas de
biotecnología de la reproducción en hembras de interés zootécnico,
UNLZ y SYNTEX S.A., Lomas de Zamora 15-16.
- CALLEJAS, S.S.; DE LA MATA, J.J.; RODRÍGUEZ, J.M., GONZALEZ, S. (2015). Efecto de la eCG administrada en vacas con cría tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona sobre la dinámica folicular, ovulación y área del cuerpo lúteo. Área de Reproducción. FISFARVET. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. (7000) Tandil. Buenos Aires. Argentina. E-mail: callejas@vet.unicen.edu.ar. Actividad privada. Biogénesis Bagó, Ruta Panamericana Km 38,5 (1619) Garín. Buenos Aires. Argentina.
- CALLO D. 2015. Evaluación de la reutilización del dib (dispositivo intravaginal bovino) sobre la dinámica folicular y tasa de preñez en vacas y vaquillas sometidas a un protocolo de sincronización de celo. PERU, Puno: UNAPUNO.
- CASTIEIRAS, M., X FUENTES ARDERIU, J. M. QUERALTÓ COMPAÑÓ. 1997
Bioquímica clínica y patología molecular, Volumen 1. Editor Reverte.
- CHOQUEPATA, F. 2013. Evaluación de 3 protocolos de sincronización de celo en la inseminación artificial en vacas Brown Swiss del INIA Illpa. Tesis FCA. Universidad Nacional del Altiplano Puno.
- COLAZO, M. G.; M.F. MARTINEZ, J.P. KASTELIC AND R.J. MAPLETOFT.

2000. Effects dose and route of administration of Cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Animal Reproduction Science*.
- DE LOS REYES, M. 2011. I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal. Viña del Mar : Gráfica Lom Ltda. ISBN: 978-956-345-709-4.
- D'ENJOY D. E., CABRERA, P., VIVAS, I., DIAZ, T. (2012). Dinamica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas Brahman. *Revista. Facultad de Ciencias veterinaria, UCV, Maracay, Aragua, Venezuela* 53(1).39-47
- DE RENSIS F., F. LÓPEZ-GATIUS, 2014. Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow: A Review. *Reprod Domest Anim*. doi: 10.1111/rda.12268.
- DIAZ T., E. J. SCHMITT, R. L. DE LA SOTA, M. J. THATCHER Y W.W. THATCHER. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.*, 76: 1929-1936.
- DISKIN, M.G, E.J. AUSTIN and J.F. ROCHE. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 23: 211-228.
- D'OCCHIO, M. J., G. FORDYCE AND WHYTE. 2000. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 433–442.
- DUCHENS, M. Y M. DE LOS REYES. 2008. Ciclo estral de la hembra bovina. Guía docente. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Unidad de Reproducción. Santiago, Chile.
- ECHEVERRAS, J. 2006. *Endocrinología Reproductiva: Prostaglandina F2a en*

vacas. Revisión bibliográfica. En: Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Vol. VII, No. 01, enero. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.

ENGELKING, L. R. 2000. Metabolic and endocrine physiology. Teton NewMedia. Wyoming, USA.

FATET A, M. PELLICER-RUBIO, B. LEBOEUF. 2011. Reproductive cycle of goats. Anim Reprod Sci 2011; 124:211-219.

FERNÁNDEZ, M. (2003). El ciclo estral de la vaca. Editorial Servet. Zaragoza, España.

FITZ T., M. MAYAM, H. SAWYER and G. NISWENDER. 1982. Characterization of two cell types in the ovine corpus luteum. ARGENTINA Bibli Reprod. 27:706. Fisiología de la reproducción de la vaca. Instituto de reproducción Animal Córdoba (IRAC).

FRICKE, P. M. 2007. Aplicaciones prácticas del ultrasonido para el manejo reproductivo en ganado lechero. Universidad de Wisconsin. Madison.

GALINA, C.; J. VALENCIA, (2008). Reproducción de los animales domésticos. Tercera edición. Editorial Limusa. México.

GARCÍA-CAMPAÑA A., W. BAEYENS, X ZHANG, F. ALÉS, L. GÁMIZ. 2001. Quimioluminiscencia: Una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. Ars Pharmaceutica 2001; 42 (1): 81-107

GINTHER, O.J.; M.C. WILTBANK.; P.M. FRICKE.; J.R. GIBBONS and K. KOT, 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. Wisconsin- Madison, UE, En: Biology of Reproduction. Vol. 55. p. 1187 – 1194

GINTHER O., J. KASTELIC AND L. KNOPT. 1987. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine oestrous cycle.

Animal Reproduction Science 20: 187-200.

GOBIERNO REGIONAL DE PUNO. 2016. Plan regional de desarrollo ganadero de puno al 2015. Disponible en www.gobiernoregionalpuno.gob.pe Consultado el 26-05-2016.

GONZALES .G, 2001, REPRODUCCION disponible en: <http://www.webveterinaria.com/virbac/news12/bovinos.pdf>, consultado en 05-09.2015.

GORDON, I. 1996. Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes. Wallingford: CAB International. Pp. 133-166.

GORDON I., 1999. reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos. ZARAGOZA .ESPAÑA Editorial Acribia S.A..

HAFEZ, E.S.E, (1996). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Sexta edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México.

HAFEZ E.S.E. Y B. HAFEZ. 2002. Reproducción E Inseminación Artificial En Animales, 7a Edicion. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. México. 38 pp.

HUANCA, W. (2001). Inseminacion artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. Rev. Investig. Vet. Peru, v.12 n.2 lima jul/dic

HUNG S., 2006, Endocrinología en Ginecología Tomo I. Habana. Cuba. Recuperado de: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0ginecolo--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-es-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&cl=CL1&d=HASHadad071068cb7c804fc197.5.fc>

IGWEBUIKE, U.2009. A review of uterine structural modifications that influence

- conceptus implantation and development in sheep and goats. *Anim Reprod Sci*: 112:1-7.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA E INFORMATICA. 2016. indicadores macroeconomicos region Puno. Lima Peru. Recuperado de: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/indice-tematico/economia/>
- KASTELIC J., R. PIERSON, O. GINTHER. 1990. Ultrasonic Morphology of a corporal lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*. 34, 3: 487-498.
- LARSON, L. and J. BALL. 1992. Regulation of estrous cycle in dairy cattle: a review. *Theriogenology*. 55: 255-267.
- LANE, E., E. AUSTIN, J. ROCHE and M. CROWE. 2001. The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotropin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle. *Theriogenology*. 56: 79-90.
- LÜTTGENAU, J., N. BEINDORFF, S. ULBRICH, J. KASTELIC, H. BOLLWEIN. 2011. Low plasma progesterone concentrations are accompanied by reduced luteal blood flow and increased size of the dominant follicle in dairy cows. *Theriogenology*. 76:12-22.
- MANN G. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows. *Anim Reprod Sci*; 115:296-9.
- MENDURI G, BACHELOT A, COCCA MP, VASSEUR C, RODIEN P, KUTTENN F, TOURAINE P and MISRAHI M. 2008. Molecular pathology of the FSH receptor: New insights into FSH physiology *Molecular and cellular Endocrinology* volume 282, Issues 1-2, 30 January, Pages 130-142.
- MENCHACA, A.; NETO, P.; VILARIÑO, M.; GARCÍA, C.; CUADRO, F.;

- PINCZAK, A. 2013. Programas de sincronización de celos en ovinos y caprinos. X Simposio Internacional de Reproducción Animal. Argentina. 199 – 210.
- MOFFATT. R., W. ZOLLERS, W. WELSHONS, K. KIERBOZ, H. GARVERICK, M. SMITH. 1993. Basis of norgestromet action as progestagen in cattle. domestic anim Endocrinol 1993; 10:21-30.
- MONTAÑO E, RUIZ Z. (2005). ¿Porque no ovulan los primeros foliculos dominantes de las vacas cebu posparto en el tropic colombiano? Rev. Col. Cienc. Pec. Vol. 18:2.
- MORRIS D, M. DISKIN. 2008. Effect of progesterone on embryo survival. Animal 2008; 2:1112-19.
- MURUGAVEL, K. 2003. Reproductive performance of dairy cows following different estrous synchronization protocols. Ph. D. disertation. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. 137 pp.
- NISWENDER, G., J. JUENGEL, P. SILVA, K. ROLLYSON AND E. INTUSH, E. 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. Physiological Reviews 80: 1-29.
- NOAKES, D. E. 1999. Fertilidad y obstetricia del ganado vacuno, 2da Edicion, Editorial Acribia, Zaragoza España.
- OPSOMER, G., Y. T. GRIHN, J. HERTL, M. CORYN, H. DELUYKER, AND A. DE KRUIF. 2000. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in blegicum: A field study. Theriogenology, 53: 841-857.
- PALMA, G. 2008. Biotecnología de la reproducción. 2ed. Argentina. Producción gráfica integral.

- PEREA, F. (2005). Ecografía reproductiva, Universidad nacional de los andes, Trujillo-
venezuela, disponible desde: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/mensual_ganaderia/seccion8/articulo1-s8.pdf. Consulta 25 de abril de 2012.
- PFIZER SALUD ANIMAL. 2005. Ganado en pastoreo. http://www.pfizerah.com.mx/product_overview.asp?drug=CI&country=MX&language=SP&species=PA. Consulta 02 De octubre del 2002.
- PIERSON, R.A. AND O.J. GINTHER. 1987. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 21 :497.
- POLANCO A., 1982. Reproducción Bovina- Curso de post grado; Universidad Autónoma de Chapingo, Universidad Técnica de del Altiplano Perú.
- PURSLEY, J., M. KOSOROK and M. WILTBANK. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci.* 80: 301 – 306
- QUINTELA, L.A., C. DIAZ, P.J. GARCIA, A.I. PEÑA Y J.J. BECERRA. 2006. Ecografía y reproducción en la vaca. Primera edición. Editorial Universidad Santiago de Compostela, Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, ed. España.
- QUISPE A. 2013. Evaluación ultrasonográfica de la dinámica folicular interestral en vacas Brown Swiss en el CIP Chuquibambilla. Perú. Universidad nacional del altiplano Puno.
- QUISPE, N. 2014. Determinación ultrasonográfica de las estructuras ováricas y gestación en vacas Brown swiss sometidas a dos protocolos de sincronización. Perú. Universidad nacional del altiplano Puno.

- RAMÍREZ, G., y G. MILLER. 2004. Adelantos biotecnológicos en reproducción animal aplicada a bovinos de carne. Colección: Textos universitarios. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chih. México.
- RANFERI G, CEJUDO E, CARRANZA L, HERNANDEZ G. 2010. Síndrome de hiper estimulación ovárica. Revista mexicana de Medicina de la reproducción; 2(3):67-73.
- RE M., J. DE LA MATA, G. BÓ. (2015). Combination of oestrus detection and fixed-time artificial insemination in beef heifers following a shortened oestradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reprod Fert Dev* 27, 96.
- RIPPE, C. (2009). El ciclo estral en la vaca, Dairy Cattle Reproduction Conference, Disponible desde: <http://es.secribd.com/jcampillo86/d/58403293-16-Rippe-EL-CicloEtral-final>. Consulta 23 de enero de 2011.
- RHODES, F., G. D'ATH and K. ENTWISTLE. 1995. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science* 38(4): 265-277.
- ROBERTS, S.J. 1971. Veterinary obstetrics and genital diseases. Second edition. Ithaca-NY: Ed. Edwards brothers inc., p.343-375.
- ROJAS, R. 2007. Bovinos Manejo y Crianza. 1ra Edición, Editorial Universitaria, UNA-PUNO-PERÚ.
- SÁNCHEZ R. Y E. ALFONSO. 2000. Ultrasonografía en reproducción animal. Tecnología Veterinaria. Disponible en www.produccion-animal.com.ar. Consultado en 05 – 09 – 2011.

- SAVIO, J. D., M.P. BOLAND, N. HYNES, AND J. F. ROCHE. 1990. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *Journal of reproduction and fertility*, 88(2): 569-579.
- SEGUIN, B. 1987. Control of the reproductive cycle in dairy cattle. *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, pp. 300-308.
- SENAMHI. 2016. Servicio nacional de meteorología. [http. //www. Senamhi. Gog.pe/](http://www.Senamhi.Gog.pe/). consultado el 25-06-16.
- SHARMA RK. (2000). Follicular atresia in goat: A review. *Indian J Anim Sci* 70:1035-1046.
- SHIMIZU T, A. MIYAMOTO. 2007. Progesterone induces the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) 120 and Flk-1, its receptor, in bovine granulosa cells. *Anim Reprod Sci* 2007; 102: 228-37.
- SINTEX. 2005. Fisiología Reproductiva del Bovino. Laboratorio de Especialidades Veterinarias. Sitio argentino de Produccion Animal. www.produccion-animal.com.ar.
- SPELL, A., W. BEAL, L. CORAH, G. LAMB. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*. 56, 2: 287-297.
- SPENCER, T., R. BURGHARDT, G. JOHNSON, F. BAZER. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci*; 82-83:537-50.
- STANGG, K.; DISKIN, M.; SREENAN, J.; ROCHE, F. 1995. Follicular development in long-term anestrous suckler beef cows fed two levels of energy post- partum. *Anim. Reprod. Sci.*, 39:49-61.
- STOCK, A. E., and J. E. FORTUNE. (1993). Ovarian follicular dominance in

cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*. 132:1108-1114.

SUMANO, H. y L. OCAMPO. 2006. *Farmacología Veterinaria*. México, D.F.: Editorial Mc Graw–Hill Interamericana 3era. Edición.

SUNDERLAND S. J.; P. G. KNIGHT.; M. P. BOLAND.; J. F. ROCHE AND J. J. IRELAND, (1996). Alteration in intrafollicular levels of deferent molecular mass forms of inhibin during development of follicular and luteal phase dominant follicles heifers. En: *Biology of reproduction*, abstract. Vol. 54, No 2. p. 453 – 462.

TEJERO, J. 2008. Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona. Tesis doctoral. Universidad de León, Facultad de Veterinaria. León. España.

TURNBULL A., M. MITCHELL, M. KEIRSE, J. BRUNT AND A. ANDERSON. 1977. Concentrations of the prostacyclin metabolite, 6– keto– prostaglandin f1 α , in amniotic fluid during late pregnancy and labour. Headington, Oxford OX3 9DU.

WEBB R.; R. G. GOSDEN.; E. E. TELFER AND R. M. MOOR, (1999). Factors affecting folliculogenesis in ruminants. En: *Animal Science*. Vol. 68; p. 257-284.

ZEMJANIS R., 1997. *Reproducción animal*. México. Editorial limusa. 1ra edición.

VIII. ANEXOS

A1:

TABLAS DE DATOS Y RESULTADOS

Tabla 7. Estado ovárico de los animales en el día 0 del protocolo.

ESTADO OVARICO	CNT	CL REGRESION	CL CRECIMIENTO	%
ciclado	12	8 (44.4%)	4(21.15%)	66.6
anestro superficial	3	-	-	16.7
anestro profundo	3	-	-	16.7
total	18	-	-	100

Tabla 8. Estado ovárico día 0 de iniciado los tratamientos, mediciones en milímetros (mm)

anim al	ovario derecho	ovario izquierdo	estado ovárico	corpo lúteo
804	corpo lúteo: 2.59x14.86	-	ciclado	crecimiento
1003	corpo lúteo:19.72x16.78	folículo: 15.89	ciclado	regresión
1052	-	-	anestro profundo	-
837	-	folículo: 16.96	anestro superficial	-
965	folículo: 9.25	folículo 16.06, 15.96, 8.53	anestro superficial	-
1061	-	corpo lúteo: 16.28x16.83	ciclado	crecimiento
737	folículo:13.8	corpo lúteo:11.24x12.77	ciclado	regresión
869	folículo: 11.85 y 8.51	corpo lúteo: 21.44x10.72	ciclado	crecimiento
989	folículo: 12.19	corpo lúteo: 16.27x12.19	ciclado	crecimiento
1143	folículo: 11.12	folículo:15.19	anestro superficial	-
1177	corpo lúteo: 18.17x16.82	-	ciclado	crecimiento
1103	-	cl: 13.43x9.27	ciclado	crecimiento
1157	folículos pequeños	folículos pequeños	anestro profundo	-
1147	-	corpo lúteo: 15.88x 10.72	ciclado	crecimiento
1141	corpo lúteo: 11.24x17.51	folículo: 15.90	ciclado	regresión
1139	-	-	anestro profundo	-
1158	corpo lúteo: 9.61x8.88	-	ciclado	crecimiento
1151	corpo lúteo: 16.32x15.89	folículo: 18.12	ciclado	regresión

Tabla 9. Resultados de animales con estado ovárico en anestro.

VACA NO CICLANDO (sin/ CL)	DIÁMETRO DEL FOLÍCULO MAYOR EL DÍA 8	DIÁMETRO DEL FOLICULO PRE OVULATORIO	VELOCIDAD DE CRECIMIENTO (mm/12h)	cuerpo lúteo mm (día 17)	niveles de progesterona ng/mL (día 17)
4(837)	10.64	15.31	1.17	11	1.34
5(965)	15.54	16.81	0.32	12.6	1.50
3(1052)	5.47	17.28	2.95	13	1.56
1(1143)	5.50	13.10	1.90	10	1.20
7 (1139)	7.43	12.78	1.34	9.6	1.15
4(1157)	5.96	12.56	1.65	9.42	1.13
PROMEDIO	8.42	14.64	1.56	10.93	1.31
DS	4.00	2.11	0.87	1.55	0.18

Tabla 10. Resultados de animales con estado ovárico ciclando.

VACAS CICLANDO(con/ CL)	DIÁMETRO DEL FOLÍCULO MAYOR EL DÍA 8	DIAMETRO DEL FOLICULO PRE OVULATORIO	VELOCIDAD DE CRECIMIENTO (mm/12h)	cuerpo lúteo mm (día 17)	niveles de progesterona ng/mL (día 17)
2(1003)	10.89	14.05	0.79	10.5	1.26
7(737)	12	15.29	0.82	11.4	1.37
1(804)	10.62	11.2	0.15	8	0.96
9(989)	7.6	13	1.35	9.6	1.16
5(1147)	7.00	13.82	1.71	10.34	1.24
8(1159)	9.09	13.55	1.12	10.16	1.21
9(1151)	11.79	9.87	-0.48	7.4	0.88
2(1177)	7.41	9.62	0.55	7.2	0.86
6(1141)	7.54	9.13	0.40	6.84	0.82
3(1103)	4.69	14.15	2.37	10.6	1.27
6(1061)	8.37	13.81	1.36	10.34	1.24
8(869)	8.03	12.86	1.21	10	1.20
PROMEDIO	8.75	12.53	0.95	9.36	1.12
DS	2.19	2.05	0.75	1.56	0.19

A2:
PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 6: alimentación de: animales seleccionados para el experimento



Figura 7: sujeción e inmovilización de los animales del experimento



Figura 8: preparación del animal para la evaluación ecográfica



Figura 9: evaluación ultrasonográfica del estado ovárico antes del experimento

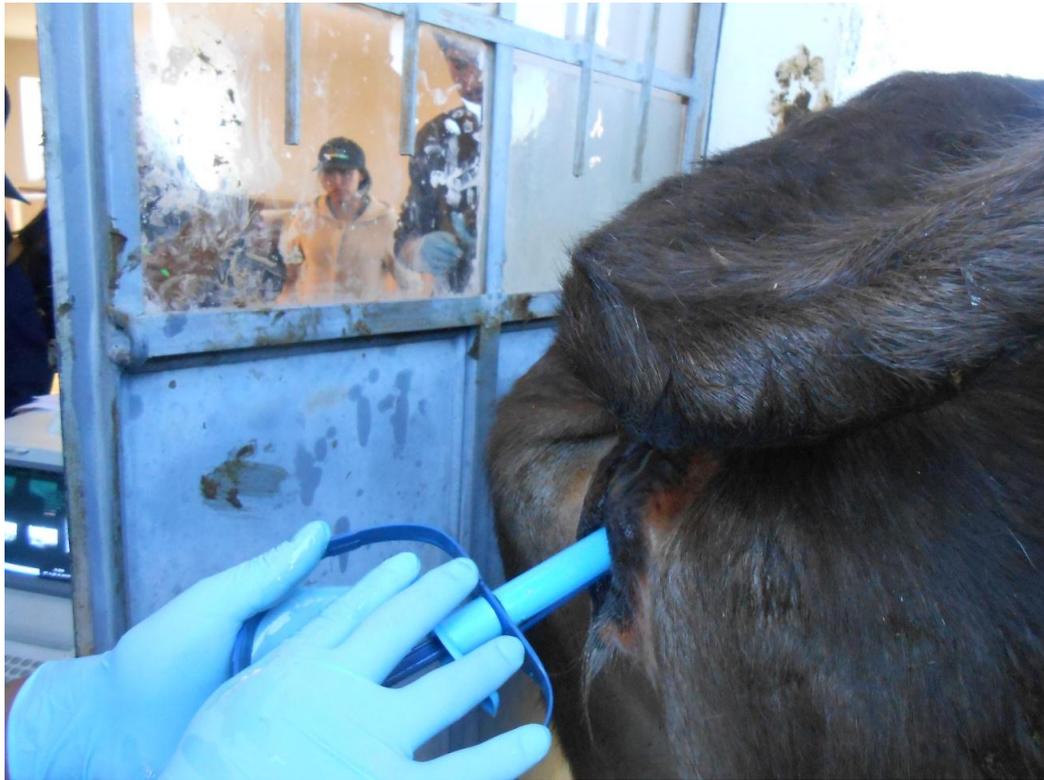


Figura 10: colocación del dispositivo de liberación interna de progesterona CIDR



Figura 11: colocación de benzoato de estradiol



Figura 12: retiro del CIDR día 8 del experimento



**Figura 13: administración de prostaglandina f2 alfa intramuscular
profundo**



Figura 14: administración de eCG intramuscular profundo



Figura 15: evaluación ecográfica de folículos día 8



Figura 16: administración intramuscular del GnRH día 10



Figura 17: evaluación ecográfica de folículos preovulatorios día 10



Figura 18: inseminación a tiempo fijo, día 10



Figura 19: evaluación ecográfica día 20



Figura 20: obtención de muestra de sangre por la vena yugular



Figura 21: centrifugación de las muestras sanguíneas



Figura 22: preparación de plasma sanguíneo para la remisión al laboratorio

A3:

RESULTADOS DE LABORATORIO

Tabla 11 RESULTADOS DE PROGESTERONA ng/ml

Código de vaca	ng/mL
837	1.22
1061	1.24
1103	1.26
869	1.20
1052	1.56
737	1.37
837	1.34
804	0.96
965	1.50
989	1.16
1143	1.20
1139	1.15
1147	1.24
1159	1.21
1151	0.88
1177	0.86
1141	0.82
1103	1.27
1157	1.13