



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Efecto de la somatotropina en diferentes niveles sobre la calidad y cantidad de estructuras colectadas en vacas Brahman Superovuladas a tiempo fijo en el cantón Bucay provincia de Guayas

WILSON RAFAEL RIVERA VIÑAN

Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, presentado ante el Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH, como requisito parcial para la obtención del grado de

MAGÍSTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL MENCIÓN REPRODUCCIÓN BOVINA

RIOBAMBA – ECUADOR

DICIEMBRE 2022

© 2021, Wilson Rafael Rivera Viñan.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

CERTIFICACIÓN:

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, titulado Efecto de la somatotropina en diferentes niveles sobre la calidad y cantidad de estructuras colectadas en vacas Brahman Superovuladas a tiempo fijo en el cantón Bucay provincia de Guayas de responsabilidad del señor Wilson Rafael Rivera Viñan, ha sido prolijamente revisado y se autoriza su presentación.

Ing. Luis Eduardo Hidalgo Almeida Ph. D.
PRESIDENTE

Dr. M.VZ. Rodrigo Leonardo Muñoz Espinoza. Mag.
DIRECTOR

Ing. Fabián Augusto Almeida López; Mag
MIEMBRO

Ing. Paula Alexandra Toalombo Vargas; Ph. D.
MIEMBRO

Diciembre de 2022

DERECHOS INTELECTUALES

Yo, **Wilson Rafael Rivera Viñan**, declaro que soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, y que el patrimonio intelectual generado por la misma pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Wilson Rafael Rivera Viñan

No. Cédula: 1104513146

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Wilson Rafael Rivera Viñan, declaro que el presente **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este proyecto de investigación de maestría.

Wilson Rafael Rivera Viñan
No. Cédula: 1104513146

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mi familia que ha sido y es mi apoyo fundamental, en toda mi formación personal y académica, en especial a mis padres Luz y Rafael, a mis hermanas Amparito, Mélida y Letty y a mi hermano Silvio.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento fraternal al Dr. Rodrigo Muñoz quien dirigió este trabajo de tesis, a mis maestros y compañeros que hicieron posible la culminación de este programa de estudios, a mis amigos y amigas que me apoyaron en este proceso y cómo no, a la querida Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por permitirme ser parte de este proyecto educativo

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	16
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1. Planteamiento del problema	16
1.1.1. Situación problemática	16
1.1.2. Formulación del problema.....	17
1.1.3. Preguntas directrices o específicas de la investigación	17
1.2. Justificación.....	18
1.3. Objetivos.	18
1.3.1. Objetivo general.....	18
1.3.2. Objetivos específicos	18
1.4. Hipótesis.....	19
1.4.1. Hipótesis Nula	19
1.4.2. Hipótesis alterna	19
CAPÍTULO II	20
2. MARCO DE REFERENCIA.	20
2.1. Anatomía y fisiología de la hembra bovina.....	20
2.1.1. Anatomía de la hembra bovina.....	20
2.2. El ciclo reproductivo en la vaca	22
2.2.1. Ovario	22
2.2.2. Pubertad.....	23
2.3. Regulación endocrina de los ciclos enstruales	23
2.3.1. Hipotálamo.....	24
2.3.2. Glándula Hipófisis	24
2.3.3. Los Ovarios	25
2.3.4. Cuerpo Lúteo.....	25
2.3.5. Dinámica Folicular	25
2.3.6. Útero	26
2.4. Fisiología del ciclo estral de la vaca.....	27
2.4.1. Fases del ciclo estral.....	27
2.5. Hormonas de la reproducción.....	28
2.5.1. Estructura de las hormonas.....	28

2.5.2.	<i>Hormonas hipotalámicas</i>	28
2.5.3.	<i>Hormonas adenohipofisarias</i>	29
2.5.4.	<i>Hormonas esteroides gonadales</i>	29
2.6.	Sincronización del celo y ovulación.....	31
2.6.1.	<i>Sincronización con Prostaglandina F2α</i>	31
2.6.2.	<i>Protocolos con GNRH</i>	32
2.6.3.	<i>Tratamiento PRE-SYNCH OVSYNCH</i>	32
2.6.4.	<i>Utilización de dispositivos de liberación de progesterona</i>	33
2.6.5.	<i>Protocolo con gonadotropina coriónica equina</i>	33
2.7.	Regulación de la progesterona síntesis y acción en el cuerpo lúteo bovino	34
2.7.1.	<i>Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo</i>	35
2.7.2.	<i>Regresión luteal</i>	35
2.8.	Eje somatotropo.....	36
2.8.1.	<i>Hormona de crecimiento</i>	37
2.8.2.	<i>Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (igf-1)</i>	37
2.8.3.	<i>Somatotropina y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 en la reproducción</i> ..	37
2.9.	Protocolos de superovulación.....	38
2.9.1.	<i>Sincronización de receptoras de embriones bovinos</i>	40
2.9.2.	<i>Mecanismo de acción del Folltropin</i>	41
2.9.3.	<i>Crioprotectores para conservar embriones</i>	41
2.9.4.	<i>Calidad y concentración del semen sexado para IATF en generación de embriones</i>	42
CAPÍTULO III		45
3.	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	45
3.1.	Características del área de estudio.....	45
3.1.1.	<i>Localización</i>	45
3.2.	Materiales	45
3.2.1.	<i>Biológicos</i>	45
3.2.2.	<i>Hormonas y Fármacos</i>	45
3.2.3.	<i>De Campo</i>	46
3.2.4.	<i>De Oficina</i>	46
3.2.5.	<i>Equipos</i>	46
3.2.6.	<i>Instalaciones</i>	46
3.3.	Metodología	46
3.3.1.	<i>Unidades experimentales</i>	46
3.3.2.	<i>Tratamientos y diseño experimental</i>	46
3.3.3.	<i>Mediciones Experimentales</i>	47
3.4.	Procedimiento Experimental	48

3.4.1. <i>De Campo</i>	48
3.4.2. <i>Análisis estadístico</i>	50
CAPÍTULO IV	51
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
4.1. Largo y ancho de los ovarios (mm).....	51
4.2. FOLÍCULOS (NRO.).....	53
4.3. CUERPOS LÚTEOS (NRO.).....	55
4.4. Estructuras colectadas (NRO.)	56
4.5. Estructuras con características para congelar (NRO.).....	58
4.6. Folículos anovulatorios (NRO.)	60
CAPÍTULO V	62
5. PROPUESTA	62
5.1. Protocolo para la superovulación utilizando somatotropina recombinante bovina.....	62
5.1.1. <i>Alcance</i>	62
5.1.2. <i>Protocolo de superovulación utilizado</i>	63
5.1.3. <i>Periodo de capacitación para aplicar los protocolos de superovulación</i>	64
5.1.4. <i>Impacto económico en relación al uso de somatotropina</i>	64
CONCLUSIONES	66
RECOMENDACIONES	67
GLOSARIO.....	16
ANEXOS.....	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2 Protocolo de superovulación uno.....	39
Tabla 2-2 Protocolo de superovulación dos	40
Tabla 3-3 Condiciones meteorológicas del cantón Bucay provincia del Guayas.....	45
Tabla 4-3 Esquema del experimento	47
Tabla 5-3 Descripción de los tratamientos	48
Tabla 6-3: Protocolo de superovulación.....	49
Tabla 7-3: Protocolo para la receptora	49
Tabla 8-4: Largo de los ovarios en milímetros (mm).....	51
Tabla 9-4: Ancho de los ovarios en milímetros (mm).....	51
Tabla 10-4 : Análisis de varianza largo y ancho de ovarios.....	51
Tabla 11-4: Número de folículos	54

Tabla 12-4: Análisis de varianza en referencia al número de folículos.	54
Tabla 13-4 : Número de cuerpos lúteos.....	55
Tabla 14-4 : Análisis de varianza en referencia al número de cuerpos lúteos.	56
Tabla 15-4 : Número de estructuras colectadas.....	57
Tabla 16-4 : Análisis de varianza en referencia al número de estructuras colectadas.....	57
Tabla 17-4 : Número de estructuras colectadas con características para congelar.....	58
Tabla 18: Análisis de varianza en referencia al número de estructuras colectadas con características para congelar	58
Tabla 19-4: Número de folículos anovulatorios.....	60
Tabla 20-4 : Análisis de varianza en referencia al número de folículos anovulatorios.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-4: Evaluación de la longitud de los ovarios derecho e izquierdo en cada uno de los tratamientos.	52
Figura 2-4 : Evaluación del ancho de los ovarios derecho e izquierdo en cada uno de los tratamientos.	53
Figura 3-4: Análisis del número de folículos en cada uno de los tratamientos.	55
Figura 4-4 : Análisis del número de cuerpos lúteos en cada uno de los tratamientos.	56
Figura 5-4 : Comparación del número de estructuras colectadas y numero de estructuras colectadas con características para congelar en cada uno de los tratamientos.	59

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Chequeo ginecológico mediante ecografía

ANEXO B. Materiales y equipos

ANEXO C. Inseminación artificial

ANEXO D. Ecografía realizada en campo

ANEXO E. Ecografía de las hembras tratadas

ANEXO F. Lavado y recolección de embriones

ANEXO G. Análisis y observación de estructuras en el microscopio

RESUMEN

La investigación realizó el estudio del efecto de la somatotropina en diferentes niveles sobre la calidad y cantidad de estructuras colectadas en vacas Brahman superovuladas a tiempo fijo en el cantón Bucay provincia de Guayas. El presente estudio se planteó objetivo general: Determinar el efecto de la somatotropina sobre la calidad y cantidad de estructuras viables en el proceso de superovulación en vacas de raza Brahman. La investigación se realizó en la hacienda ganadera del cantón Bucay provincia de Guayas ubicada a la costa sur del país. En la investigación se utilizaron doce ejemplares de raza Brahman a una edad comprendida entre 36 a 48 meses, distribuidas en cuatro tratamientos y tres repeticiones. Se analizó las consecuencias de suministrar somatotropina recombinante (rBST) en diferentes dosis (500 mg, 1000 mg, 1500 mg y testigo) en vacas superovuladas. Los resultados obtenidos referente al largo de los ovarios derechos e izquierdos en los bovinos Brahman se tuvo un valor superior en los ovarios derechos el tratamiento T2 (1000 mg de rBST) con 33.80 mm para el ovario derecho y 32.33 mm para el izquierdo. Al evaluar el ancho de los ovarios se determinó que la aplicación de 1500 mg de rBST en el T3 influye positivamente en el desarrollo del ancho 21.27 mm para el derecho y 23.78 mm en el izquierdo en contraste con el grupo control T0 sin rBST 15.72 mm derecho y 14.57 izquierdo. Del número de cuerpos lúteos en el T2 (1000 mg rBST) fue de 10 en promedio y para el grupo control T0 sin rBST fue de 7. Estos resultados se comprueban con los de la investigación realizada por Alvarado (2012), en la cual determinó 15.97 con la aplicación de rBST y 15.60 sin rBST demostrando así que la rBST no influye en el desarrollo de folículos preovulatorios. Por otro lado, la aplicación de 1000 mg de rBST en el T2 generó un incremento numérico en las estructuras colectadas llegando a 9, esta diferencia no representa un valor estadístico superior en referencia a otros tratamientos. En términos generales no se observó consecuencias de la aplicación de rBST en los tratamientos, sin embargo, la aplicación de 1000 mg de rBST en el T2 presentó un mejor comportamiento en todas las variables analizadas.

Palabras clave: SUPEROVULACIÓN, BOVINOS, MORFOMETRÍA OVÁRICA.

ABSTRACT

The research has develop a study of the effect of somatotropin at different levels on the quality and quantity of structures collected in Brahman cows super ovulated at a fixed time in the canton of Bucay, province of Guayas. The general objective of the present study was to determine the effect of somatotropin on the quality and quantity of viable structures in the superovulation process in Brahman cows. The research was carried out on a cattle ranch in canton of Bucay, Guayas province, located on the south coast of the country. Twelve Brahman cows aged between 36 and 48 months were used in the research, distributed in four treatments and three repetitions. The consequences of supplying recombinant somatotropin (rBST) at different doses (500 mg, 1000 mg, 1500 mg and control) in super ovulated cows were analyzed. The results obtained concerning the length of the right and left ovaries in Brahman cattle showed a higher value in the right ovaries in the T2 treatment (1000 mg of rBST) with 33.80 mm for the right ovary and 32.33 mm for the left ovary. 33 mm for the left one. When evaluating the width of the ovaries it was determined that the application of 1500 mg rBST at T3 positively influenced the development of the width 21.27 mm for the right one and 23.78 mm for the left one in contrast to the control group T0 without rBST 15.72 mm right and 14.57 mm left. The number of corpora lutea at T2 (1000 mg rBST) was 10 on average and for the control group T0 without rBST it was 7. These results are verified with those of the research carried out by Alvarado (2012), in which he determined 15.97 with the application of rBST and 15.60 without rBST, thus demonstrating that rBST does not influence the development of pre-ovulatory follicles. On the other hand, the application of 1000 mg rBST at T2 generated a numerical increase in the collected structures reaching 9, this difference does not represent a higher statistical value in reference to other treatments. In general terms, no consequences of the application of rBST in the treatments were observed, however, the application of 1000 mg of rBST in T2 presented a better behavior in all the variables analyzed.

Key words: SUPEROVULATION, CATTLE, OVA MORPHOMETRY.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

1.1.1. Situación problemática

Uno de los mayores problemas en bovinos de carne es la baja eficiencia reproductiva se origina en gran medida por el mal manejo reproductivo del hato y la incidencia de enfermedades, mientras que una buena reproducción en la ganadería es la base fundamental para cualquier sistema de producción bovina sea esta de carne o de leche, esta es una de las razones que motiva a realizar un mejor manejo reproductivo con el propósito de llegar a un mejoramiento genético y obtener más crías por año.

Actualmente hay varias técnicas de biotecnología en la reproducción tales como, sincronización de celo, superovulación, transferencia de embriones, crioconservación e inseminación artificial en un tiempo fijo, con el fin de llegar a obtener animales de un alto valor genético. De esta manera las técnicas de superovulación con transferencia de embriones son importantes en la obtención de más folículos y mayor cantidad de embriones viables, por ejemplo: En Europa se realizaron en el 2015, 20.497 lavados, y se obtuvo 127.980 embriones transferidos. De ellos, 111.306 fueron transferidos aproximadamente un 87,75 %; 41,78% fueron utilizados en fresco y 58,12% en congelación/descongelación (García, et al. 2018, párr.5)

Muy a pesar de los avances actuales, un límite que enfrenta este proceso es la cantidad de embriones que se pueden transferir en cada pequeña colección, lo que repercute en el costo de cada embrión (García, et al. 2018, párrafo 6). Con base en estas consideraciones, Hasler (1992 citado en García, 2018) informó que las técnicas hiperovulatorias no han mejorado significativamente los resultados en los últimos 15 años (párrafo 6). Así que por ahora: Esta afirmación sigue siendo válida, ya que ha aumentado muy poco en promedio los embriones transferibles por colección, y se mantiene estable en el rango de 6 a 7 embriones transferibles por colección, con una ligera variación en las razas dotadas de ganado de carne (6,86 embriones/colección) y dotadas lácticas (6,12). (García, et al. 2018, párr.6)

Ante este problema, Hernández et al. (2012) señalaron que existe la necesidad de mejorar los procesos de superovulación con la aplicación de somatotropina bovina recombinante (rbST): usada para producir más leche rbST aumenta los niveles séricos del factor de crecimiento que es similar a la

insulina I (IGFI), y ambas hormonas controlan los procesos fisiológicos con el objetivo de aumentar la lactancia. Además de sus efectos sobre la lactancia, la somatotropina y el IGFI promueven la maduración de los ovocitos, las tasas de fertilización, el desarrollo embrionario temprano, la función lútea y el reconocimiento materno. Se ha evaluado la administración de rbST en diferentes períodos fisiológicos para mejorar el rendimiento reproductivo en rumiantes. En vacas lecheras infértiles, el uso de rbST durante la inseminación aumenta la tasa de concepción (CP). En vacas primerizas, una inyección de refuerzo de rbST, mejora los programas de monta a tiempo fijo, también mejoraron la CP. En ovejas y cabras, rbST promueve la maduración de ovocitos, el desarrollo embrionario temprano y mejora la fertilidad. (Párrafo 1)

Los estudios muestran que en los programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones (OMTE), las tasas de concepción mejoran cuando se aplica rbST en el momento del estro en vacas lecheras (Ribeiro et al. 201, extracto, citado por González et al 2019, p.115). Sin embargo: Los estudios en ovejas y vacas han demostrado que la administración en la fase preovulatoria de somatotropina bovina recombinante (rBST) tiene un efecto principalmente sobre la fisiología reproductiva, como un aumento en el tamaño del cuerpo lúteo (LC), aumenta la secreción de progesterona y prolonga el celo por el alargamiento de la vida media del CL funcional. (Navarrete Sierra et al. 2008 y Zarco et al. 2012 citado por González et al. 2019, pág. 115).

También altera los componentes del sistema en el factor de crecimiento muy similar a la insulina (IGF), para estimular la esteroidogénesis en los folículos (Montero-Pardo et al. 2011) y el fluido uterino (Costine et al. 2005, Martínez et 2011). Frente a esta problemática surge la impericia de analizar el efecto que produce la administración de varias dosis de rbST en un programa de superovulación. y su influencia en el número y tamaño de folículos número y tamaño del cuerpo lúteo, número y calidad de embriones.

1.1.2. Formulación del problema

¿La aplicación de somatotropina inyectable influirá en la cantidad y calidad de estructuras colectadas?

1.1.3. Preguntas directrices o específicas de la investigación

¿Las estructuras colectadas con la aplicación de la somatotropina inyectable serán en mayor número?

¿Las estructuras colectadas con la aplicación de la somatotropina inyectable serán de mayor calidad?

¿Se logrará crear un protocolo de referencia para futuras investigaciones acerca de la superovulación con la aplicación de somatotropina inyectable?

1.2. Justificación

En ganadería existe un escaso aprovechamiento de los parámetros genéticos de las hembras bovinas de alto desempeño productivo y reproductivo, frente a tal situación surge como alternativa la utilización de la biotecnología en la reproducción animal y uno de estos procesos es la superovulación cuya finalidad es la obtención de un mayor número de embriones viables para transferirlos y obtener animales con una genética que garantice las metas productivas y reproductivas del hato ganadero.

El empleo de técnicas de superovulación trae consigo una mayor inversión, que se justifica al tener un mejor rendimiento genético que va de la mano con la obtención de una mayor cantidad de embriones con características para congelar mismos que facilitan un mejoramiento genético oportuno del hato.

La industria ganadera en las últimas décadas va evolucionando en la biotecnología reproductiva con el diseño de protocolos de superovulación, transferencia de embriones e inseminación artificial, sin embargo, como en todo proceso requiere de experiencia y práctica diaria. Por esta razón con la presente investigación se tiene como propósito evaluar un protocolo de superovulación con la aplicación de la hormona de crecimiento somatotropina rBST en diferentes dosis para determinar cuál es el aporte de esta en el desarrollo folicular, con el fin de plantear un protocolo aplicable para la raza Brahman y propio de la región, de tal forma generan un impacto positivo en los ganaderos del sector demostrando con resultados los parámetros obtenidos.

1.3. Objetivos.

1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto de la somatotropina sobre la calidad y cantidad de estructuras viables en el proceso de superovulación en vacas de raza Brahman.

1.3.2. Objetivos específicos

- a) Determinar el efecto de las diferentes dosis de somatotropina sobre el número y calidad de estructuras colectadas.
- b) Determinar el efecto de la somatotropina sobre la morfometría ovárica (número de folículos y número de cuerpos lúteos).

- c) Determinar tipo y calidad de embriones colectados y número de folículos anovulatorios.

1.4. Hipótesis.

1.4.1. Hipótesis Nula

Con el uso de la somatotropina recombinante bovina (rBST) no se incrementa la calidad y cantidad de estructuras colectadas en vacas Brahman superovuladas

1.4.2. Hipótesis alterna

Con el uso de la somatotropina recombinante bovina (rBST) se incrementa la calidad y cantidad de estructuras colectadas en vacas Brahman superovuladas

CAPÍTULO II

2. MARCO DE REFERENCIA.

2.1. Anatomía y fisiología de la hembra bovina

2.1.1. Anatomía de la hembra bovina

Para efectos de esta revisión, se asume que el aparato reproductor de una hembra bovina es una estructura tubular que, con algunas variaciones anatómicas, fisiológicamente la preñez y parto es el propósito en el ciclo estral. Entonces, el sistema reproductor femenino está conformado por órganos internos y externos. El primero está formado por los ovarios (conocidos como gónadas femeninas) y el sistema de conductos formado por trompas de Falopio, útero, cuello uterino y vagina, y el segundo está representado por: vestíbulo vaginal y vulva. (Parra, 2016, pág. 6)

2.1.1.1. La vulva

La vulva es la abertura externa del sistema reproductivo, la única parte observable desde el exterior de la vaca. Conformado por labios mayores que miden de 10 a 12 cm de largo y se ubica justo debajo de la abertura rectal y la cola de la vaca. La vulva sigue con el vestíbulo, estructura que conecta la vagina a la vulva. El vestíbulo está marcado por el orificio uretral, que es uno de los obstáculos al momento de realizar la técnica de IA. El sistema reproductivo y urinario comparte la vulva y el vestíbulo. Cuando se aplica ET, la vulva está seca y arrugada, a diferencia de la IA, donde la vulva está húmeda e hinchada a consecuencia de los estrógenos (JICA, 2016).

2.1.1.1.1. Vestíbulo

Estructura craneocervical de la vulva, une los órganos externos e internos. En la base del vestíbulo está el orificio uretral y el saco suburetral (JICA, 2016).

2.1.1.2. Vagina

La vagina es un órgano ubicado en la parte craneal del vestíbulo, extendiéndose de 25 a 30 cm. La vagina sirve como reservorio del semen del toro durante el empadre natural y como canal de salida durante el parto. La vagina puede ser una barrera para llegar al sitio del embrión por dos motivos: pliegues de la vagina, y por el FORNIX, que es la proyección del cuello uterino hacia la vagina. (JICA, 2016).

2.1.1.3. Cérvix

El cuello uterino tiene una longitud de 8 - 10 cm, tiene una estructura cilíndrica y pliegues de la

membrana mucosa en dirección a la cola, que forman los llamados anillos cervicales (generalmente 3 o 4). Las funciones principales del cuello uterino son actuar como reservorio de esperma, ayudar a transportar el esperma al útero y actuar como protección del exterior. El cuello uterino es un sistema reproductivo que se contrae rápidamente para proteger al útero del ingreso de contaminantes a través de la vagina. Durante el estro y debido a los efectos de los estrógenos, el cuello uterino se abre facilitando la IA. En cambio, durante el metaestro, diestro y la gestación, el cuello uterino permanece cerrado, actuando como barrera protectora. La identificación perfecta del cuello uterino en la palpación rectal es necesario para un procedimiento de TE adecuado (JICA, 2016).

2.1.1.4. Útero

El útero de una vaca posee dos cuernos, y un cuerpo uterino relativamente pequeño de unos 4 a 6 cm de tamaño. El cuerpo del útero está unido por dos cuernos uterinos (de 30 a 45 cm), que se pliegan horizontalmente para su posterior plegamiento dorsal. Las funciones realizadas por el útero incluyen:

Transporta los espermatozoides hasta el lugar donde se realiza la fecundación (Parra, 2016). Durante la reproducción, se liberan del útero prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) y prostaglandina ($PGF2$), $PGF2\alpha$ (Parra, 2016, p. 16).

Posee un tejido secretor que estimula la producción de grasa hipertrófica o leche uterina por parte del endometrio en preparación para una posible preñez (Parra, 2016, p. 12).

Generalmente se encuentra entre 100 a 120 carúnculas en el útero, que actúan como un punto de conexión con la placenta durante la gestación (Carúncula Cotiledón = Placentoma). La pared uterina posee una masa muscular fuerte que expulsa al feto en el parto y las membranas inmediatamente después del parto (Parra, 2016). Para la técnica SE y TE debemos detectar la bifurcación del útero y la pistola de TE debe guiarse hacia la curvatura mayor del cuerno del lado del cuerpo lúteo (JICA, 2016).

2.1.1.5. Oviducto

El oviducto es la estructura de conexión entre el cuerno del útero y el ovario, que se encarga de transportar los óvulos después de la ovulación y almacenar los espermatozoides hasta la fecundación. Fisiológicamente, la trompa de Falopio se divide en tres partes. La primera (infundíbulo), es una estructura con forma de embudo que abraza al ovario y atrapa al óvulo después de la ovulación. El Ámpula es la parte media de la trompa de Falopio y es donde ocurre la fertilización. En cuanto al istmo, que es la parte de la trompa de Falopio por donde pasa el embrión después de la fecundación para llegar al cuerno del útero (3 a 4 días), esta parte de la trompa de Falopio también funciona como un lugar para almacenar esperma. (JICA, 2016, pág. 60)

2.1.1.6. Ovarios

Los ovarios son importantes porque: Producen células germinales (óvulos), hormonas sexuales (estrógenos y progesterona). Su posición es simétrica detrás del riñón, además tiene una forma típica según la especie. Estructuralmente está íntimamente ligado al resto del aparato, a través del llamado mesovario, que es el ligamento que se origina en el ligamento ancho del útero, a través del cual llega al ovario una irrigación sanguínea abundante. (JICA, 2016, pág. 69)

Los ovarios funcionan como glándula exocrina (produce óvulos) y glándula endocrina (produce hormonas sexuales). En el ovario se pueden distinguir dos tipos de estructuras: folículos en diferentes etapas de desarrollo y cuerpos amarillos. En el ciclo estral, los folículos crecen paulatinamente y uno de ellos llegará a la etapa final de desarrollo (folículos de Graff), mismo que establecerá dominio sobre los demás folículos y ovulará, dando lugar al cuerpo hemorrágico, y luego al cuerpo lúteo (JICA, 2016).

2.1.17. La pelvis

No es una parte directa de los órganos reproductivos; en las vacas funciona para contener la mayoría de los órganos reproductivos (Varía respecto a la edad y número de partos), por lo que también representa una parte anatómica importante durante el parto, por eso es tan importante conocer la anatomía pélvica de los animales domésticos especialmente del ganado bovino (JICA, 2016).

2.2. El ciclo reproductivo en la vaca

Según Hafez (2002), la secreción de las gonadotropinas FSH y LH y su factor liberador hipotalámico, GnRH, empieza en la vida fetal. En las vacas, comienza poco después de la diferenciación sexual, y esta secreción se suprime temporalmente, disminuyendo ligeramente dos meses antes del parto. La secreción de gonadotropina aumenta con el inicio de la pubertad, lo que lleva a la eliminación del control regulador por parte del sistema nervioso central a medida que el desarrollo del cuerpo se acerca gradualmente a un nivel adecuado para la reproducción.

2.2.1. Ovario

El inicio de la fase meiótica en los primeros años de vida es una de las diferencias clave en el desarrollo de las células germinales ováricas y testiculares. Cuando el óvulo desaparece por completo, los ovocitos formados durante el periodo fetal y neonatal, son la fuente disponible de ovocitos en la vida sexual (Hafez y Hafez 2002).

2.2.2. Pubertad

El animal alcanza la pubertad cuando libera gametos y exhibe un comportamiento sexual completo (Hafez & Hafez 2002).

Al inicio, las contracciones circulantes de gonadotropinas aumentan, debido a un incremento tanto en la amplitud como en la frecuencia de sus impulsos circulantes. Debido a los esteroides sexuales y puede aumentar la capacidad de respuesta de la GnRH, generada por el hipotálamo para normalizar las gonadotropinas (Hafez & Hafez 2002).

- *Ovogénesis:* En la vaca los primeros folículos antrales aparecen antes del periodo prepuberal, pero el desarrollo completo folicular se produce al reinicio de la meiosis de los oocitos, y la ovulación solo se observan cuando la FSH y LH han alcanzado los perfiles de la hembra adulta (Hafez & Hafez 2002).
- *Edad de la pubertad:* En condiciones normales de cría, la pubertad ocurre a los 12 meses en bovinos y se ve influenciada por el ambiente físico, fotoperiodo, la edad y raza de la madre, raza del padre, temperatura ambiental, peso corporal como un efecto de la nutrición y ritmo de crecimiento antes y después del destete. El inicio de la pubertad se relaciona más estrechamente con el peso corporal que con la edad.
- *Ciclo estrual:* La duración del ciclo estrual en la vaca es de 20 a 21 días y el momento de la ovulación ocurre 24 a 30 horas después del inicio del estro (Hafez & Hafez 2002).

2.3. Regulación endocrina de los ciclos enstruales

De acuerdo a lo mencionado por Hafez (2002): El ciclo estral está regulado por mecanismos endocrinos, neuroendocrinos, es decir, por hormonas hipotalámicas, gonadotropinas y esteroides, que son secretadas en la hembra por el ovario.

A nivel ovárico, el período estral se reconoce por una vigorosa secreción de estrógenos por parte de los folículos de Graaf precirculatorios. El estrógeno estimula el crecimiento uterino a través de un mecanismo que involucra la interacción de las hormonas con los receptores y un aumento en los procesos de síntesis dentro de las células. El estrógeno también estimula la producción de prostaglandinas en el útero (Hafez & Hafez, 2002).

Según Lenis et al., (2014) señalan que, el encargado de la regulación del ciclo reproductivo en las vacas es el sistema nervioso, y quienes se especializan en la producción de los neurotransmisores son el tálamo e hipotálamo mismos que contienen núcleos neuronales que regulan la formación de hormonas

producidas en la hipófisis una vez sintetizadas se dirigen a los ovarios para provocar la producción de hormonas propias del ovario. De esta manera la producción hormonal cumple la siguiente ruta hipotálamo – hipófisis – gónadas.

La hormona folículo estimulante (FSH) incide en la producción de 17- β estradiol (E2) y además genera el crecimiento folicular con un diámetro de 3 mm en promedio, de esta manera se inicia una acumulación de folículos nuevos de los cuales uno será el que ovulará y dará lugar al oocito. La hormona luteinizante (LH) contribuye a la formación de los cuerpos lúteos en los folículos en los cuales provoca cambios internos. (Lenis et al., 2014).

Una vez que el folículo llega a superar los 8 mm en su tamaño se considera que ha llegado al máximo nivel de producción de estradiol el mismo que por retroalimentación negativa se dirige hacia el hipotálamo por la vía sanguínea estimulando de esta manera la producción de gonadotropinas de manera particular la luteinizante que se libera cantidades grandes en la sangre y se dirige hacia el ovario.

2.3.1. Hipotálamo

El hipotálamo constituye solo una parte pequeña del cerebro. Es un área del tercer ventrículo, que se extiende del quiasma óptico hasta el cuerpo mamilar (Macas, 2017, p45). Allí se ubican algunos núcleos de neuronas, como las neuronas encargadas de integrar las funciones somáticas y viscerales del cuerpo, por otro lado, coordinan las respuestas a los estímulos del medio exterior. (Hafez y Hafez 2002).

Las principales hormonas producidas en el hipotálamo se enumeran a continuación: hormonas liberadoras de: corticotropina CRH, tirotropina TRH, gonadotropina GnRH, prolactina PIH, somatostatina y hormona de crecimiento GRH (Illera, 1994)

2.3.2. Glándula Hipófisis

Esta glándula está conformada por dos partes anatómicas:

- Adenohipófisis: tiene propiedades de hormona liberadora de: corticotropina CRH, tirotropina TRH, prolactina PIH, somatostatina liberadora de GRH (Illera, 1994, citado en Rojas, 2017, p. 22). La FSH es la encargada de la formación de esteroides en el ovario, promueve el desarrollo y maduración de los folículos y, por otro lado, la LH junto con la FSH participa en la formación de esteroides en el ovario, la LH favorece la ovulación, formación y mantenimiento de CL (Hafez, 1996).
- Neurohipófisis: Situada en la parte posterior de la adenohipófisis y es la prolongación neuronal

del hipotálamo. Está formado por el tallo pituitario y secreta las siguientes hormonas: • Oxitocina • ADH, hormona antidiurética o vasopresina (JICA, 2016, p.100).

2.3.3. Los Ovarios

Se encargan de producir gametos en la vaca, otra función es la de producir hormonas que participan en la regulación endocrina del ciclo estral, tienen participación activa en las manifestaciones fisiológicas en las fases del ciclo. Su forma es ovoide y su tamaño oscila entre 1 y 10 cm de longitud (Lenis et al., 2014).

2.3.4. Cuerpo Lúteo

Según Lenis et al., 2014 menciona que el cuerpo lúteo es una estructura del ovario, de color amarillo, cuya aparición está relacionada con la maduración del folículo producida después de la ovulación. Su función principal es producir P4, hormona que contribuye al mantenimiento de la preñez en caso de que esta se produzca, por el contrario, si no se consigue la preñez, el CL se somete a una luteólisis funcional y estructural, para iniciar un nuevo proceso Estral

2.3.5. Dinámica Folicular

Del grupo de folículos primordiales formados en la vida fetal, poco después del nacimiento, otros comienzan a desarrollarse y continúan haciéndolo durante toda la vida o al menos hasta que se agotan sus reservas. Los folículos que salen de la reserva unos se degeneran y otros siguen creciendo hasta la ovulación. Los folículos más grandes son responsables de prácticamente toda la secreción de estrógenos ováricos durante el estro, y esta secreción disminuye rápidamente una vez que se alcanza el punto máximo de la hormona luteinizante (Hafez y Hafez 2002).

Las vacas ovulan un solo folículo, que puede identificarse por su tamaño unos 3 días antes del inicio del celo, cuando uno o dos folículos grandes están presentes en el ovario. El desarrollo final en vacas se da entre 12 a 34 días, el tiempo total para el desarrollo folicular es de más de 20 días y puede llegar hasta los seis meses. El crecimiento folicular hasta la etapa antral no depende completamente de las gonadotropinas. La formación antral y el eventual crecimiento dependen completamente de FSH/LH (Hafez y Hafez 2002).

El desarrollo y la maduración folicular representan continuas variaciones moleculares y subcelulares de los diversos componentes del folículo: ovocitos, granulosa, elementos duros en el ovario y en los folículos. Las señales diferenciales y hormonales conducen a la secreción de estrógenos (principalmente estradiol) (Hafez y Hafez 2002).

La proliferación y diferenciación de células estromales y de la granulosa están involucradas en el desarrollo folicular, lo que en última instancia conduce a una mayor producción de estradiol folicular y una respuesta a las gonadotropinas. La producción de estradiol determina qué folículos recibirán los receptores de LH que son necesarios para la ovulación y la producción lútea. La respuesta atenuada de los gránulos y la capa de la teca a las gonadotropinas señalizadoras interrumpe el desarrollo folicular y no inicia la inactivación (Hafez y Hafez 2002). La dinámica folicular ocurre desde las primeras semanas de desarrollo embrionario, y al nacer la hembra tiene un pool de folículos que puede utilizar durante toda su vida (Motta, 2011, pág. 96). Durante el desarrollo folicular, cada onda sucesiva consta de las siguientes etapas: reclutamiento, selección y dominancia (Del Valle, 2008).

- **Reclutamiento:** Ocurre cuando la proliferación de folículos precede a un ligero aumento en FSH, se desarrollan todos los folículos en desarrollo en la cohorte específica de receptores de FSH dependientes de gonadotropina. En esta etapa, los folículos no tienen suficientes receptores de LH para responder a la estimulación de LH, por lo que esta fase de crecimiento a veces se denomina dependiente de FSH
- **Electividad:** solo un folículo dominante de la cohorte es seleccionado por el pequeño pico de FSH. La característica principal del folículo es su gran capacidad para producir estradiol. Adquiere receptores de LH que le ayudan a prosperar en ambientes de FSH baja y LH elevada (Ginther et al., 2000, citado en Rojas, 2017, p. 25).
- **Dominación:** el proceso de post selección. crecimiento, actividad estrogénica y vida útil de un folículo dominante controlado por el patrón de pulso de LH. Por tanto, cualquier alteración en el patrón de secreción de GnRH, y por tanto de LH, tendría un marcado efecto sobre el desarrollo continuo del folículo dominante y su ovulación. Se sabe que el ritmo de LH aumenta después del tratamiento con progestágenos, por ejemplo, prolongando este dominio folicular de 27 días a más de 14 días, lo que perjudica la producción de ovocitos fértiles (Diskin et al., 2002, citado en Rojas, 2017, 26).

2.3.6. Útero

Hafez y Hafez, (2002, citado de Rojas, 2017) que el útero consta de dos cuernos uterinos y un cuerpo, tiene un tabique que separa los dos cuernos y el cuerpo uterino prominente. Ambos lados del útero están fusionados con la pelvis y la pared abdominal por el ligamento ancho (página 23). Es un órgano hueco que consta de tres capas: la membrana mucosa o endometrio, la muscular o miometrio y serosa o perimetrio. Es el elemento básico del aparato reproductor femenino que funciona como lugar de asentamiento y anidación del óvulo en caso de fecundación, además del desarrollo de la placenta y el

feto. (Gázquez y Rodríguez, 2004, citado en Rojas, 2017, p. 24)

2.4. Fisiología del ciclo estral de la vaca

2.4.1. Fases del ciclo estral

Este ciclo está compuesto por cuatro fases y corresponde al tiempo transcurrido entre los dos períodos de celo, también conocido como celo, estro o calor, y varía de 17 a 24 días, considerándose como intervalo de tiempo medio 21 días (Rojas, 2017, p.2).

2.4.1.1. Estro

La parte básica de este ciclo es la aceptación de la hembra al macho, con una duración de 2 a 24 horas, las vacas presentan inquietud, ansiedad, anorexia frecuente y pérdida de apetito. En esta etapa. En este sentido, los altos niveles de estrógeno inducen un aumento en GnRH y conducen a un aumento de LH antes de la regulación (Kesner et al., 1981, y Fink, 1988, citado en Rojas, 2017, p. 24).

2.4.1.2. Metaestro

Dura de 4 a 5 días, comienza la formación del cuerpo hemorrágico que consecutivamente dará origen al CL, este secretará P4. En esta fase se presenta también la primera oleada folicular, que dará principio a un folículo dominante y a varios subordinados. (Alarcón y Galina, 2009, como se citó en Rojas, 2017, p. 24).

2.4.1.3. Diestro

Hay un predominio del Cuerpo Lúteo. Por lo tanto, la hormona LH está activa durante su desarrollo y mantenimiento (Peters et al., 199 citado por Vizcarra et al., 1997). Se requiere su secreción flexible para mantener los niveles de P4 en los primeros 12 días del ciclo estral (Peters et al., 1994). Así, la secreción de muchas vibraciones no sería necesaria y estaría regulada por bajas concentraciones de LH o por los mecanismos hormonales independientes antes mencionados (Wiltbank, 1994, citado en Rojas, 2017, p. 25).

2.4.1.4. Proestro

Comienza con la regresión del CL del ciclo anterior y culmina con el celo, que dura 3 días. En el momento de la degeneración lútea, hubo una rápida disminución del peso de CL en el contenido de ADN y el tamaño celular (Zheng et al., 1994 citado en Rojas, 2017, p. 25).

2.5. Hormonas de la reproducción

Se originan principalmente en cuatro grandes sistemas u órganos: diferentes áreas del hipotálamo, pituitaria anterior y posterior, gónadas, útero y placenta (Hafez & Hafez, 2002, citado en Macas, 2017, pág. 25).

2.5.1. Estructura de las hormonas

Sobre este tema, Hafez & Hafez (2002, citado por Macas, 2017) describen que: Las hormonas reproductivas se juntan de acuerdo a su estructura bioquímica, en glicoproteínas, polipéptidos, esteroides, ácidos grasos y aminos. Se clasifican según su estructura en:

- Las proteínas son hormonas polipeptídicas con peso molecular de 300 a 70 000 daltons.
- Esteroides, se derivan del colesterol, pesando de 300 a 400 daltons.
- Ácidos grasos, se derivan del ácido araquidónico, con peso molecular de 400 daltons.

2.5.2. Hormonas hipotalámicas

Para Ramírez (2006, citado en Macas, 2017), estas hormonas hipotalámicas se denominan: Agentes liberadores, en la medida en que su presencia estimula la liberación o secreción de hormonas producidas por las células de los tejidos de la hipófisis, e inhibidores, en la medida en que actúa, inhibir o bloquear la liberación de ciertas hormonas pituitarias. El mismo autor precisó que las hormonas hipotalámicas fueron identificadas como: CRH: hormona liberadora de adrenocorticotropina, TRH: hormona liberadora de tirotropina, GnRH: hormona liberadora de gonadotropina, STRH: hormona liberadora de somatotropina, Somatostatina: inhibidor de somatotropina, Dopamina: inhibidor de prolactina y MIH: Bloqueador de la hormona estimulante de los melanocitos. Algunas de estas hormonas hipotalámicas también son secretadas por otras regiones del cerebro u otros tejidos corporales. (pág. 26)

Gutiérrez et al. (Declaración de 2005 en Macas, 2017) manifiesta que debido al marcado potencial de tratamientos hormonales y los beneficios económicos de su aplicación, la farmacología, además de los decapeptidos naturales, ha desarrollado muchos análogos y agonistas (fabricados artificialmente) de muchos fármacos diferentes, como la buserelina sintética, es más potente en 17 veces que la GnRH natural por su menor porcentaje de descomposición y su vida media más larga (vida útil más larga) (páginas. 25, 26).

2.5.3. Hormonas adenohipofisarias

Las gonadotropinas FSH y LH, también conocidas como gonadotropinas, son glicoproteínas sintetizadas y liberadas en las células cianófilas de la hipófisis anterior, que se encuentra bajo la influencia de la GnRH. Los efectos de las gonadotropinas se ejercen, como se desprende de su nombre, a nivel gonadal, estrógeno y P4 en hembras, testosterona en machos (Illera, 1994, citado en Macas 2017, p. 27).

En este sentido, La secreción básica de FSH y LH está alterada, interrumpida por grandes cantidades de LH durante el celo, desencadenada por un aumento de GnRH, inducida por mayor liberación de E2 durante el celo da retroalimentación positiva (Gutiérrez, 2008, citado en Macas, 2017, p.27).

Otro aspecto señalado por Williams et al. (1996, citado en Macas, 2017) sugirieron que: Los agentes opiáceos exógenos reducen tanto la frecuencia como la extensión o el pico de secreción de LH; Es importante relacionarlo con el estrés y la consiguiente secreción de opioides endógenos; por ejemplo, en los primeros días después del nacimiento debido a los efectos de la lactancia materna que inhiben la función reproductiva (p. 27)

2.5.3.1. Hormona folículoestimulante

Los folículos ováricos crecen y se desarrollan con la hormona folículo estimulante y la secreción de una hormona femenina llamada estrógeno, que es la principal encargada de producir los síntomas del celo en las hembras; mientras que en los machos hace que los testículos formen espermatozoides (Ramírez, 2006, citado en Rojas 2017, p. 27).

2.5.3.2. Hormona luteinizante

Illera, (1994, citado en Macas, 2017) expresa que: esta hormona por ser la responsable de la transformación de los folículos preovulatorios en verdaderos cuerpos lúteos. Estimula a las células de la teca del ovario para que produzcan precursores estrogénicos, al comienzo de la fase folicular, cuando las células de la granulosa solamente poseen receptores para FSH y no responden aún a la LH. Mediante la acción conjunta de la FSH y los estrógenos, las células de la granulosa adquieren receptores LH, que responden a la estimulación de la hormona luteinizante. Luego de la ovulación, las células lúteas secretan P4, en respuesta al estímulo de la LH. (pp. 27 - 28)

2.5.4. Hormonas esteroides gonadales

Estas hormonas son producidas por: Los ovarios y los testículos producen principalmente hormonas esteroides gonadales. Los órganos no gonadales, por ejemplo, las glándulas suprarrenales y

la placenta, también secretan hormonas esteroideas hasta cierto punto. Estos son de tipos: andrógenos, estrógenos, progestágenos y relaxina. Los primeros tres son esteroideas mientras que el cuarto es una proteína. Los ovarios producen dos hormonas esteroideas: estradiol y progesterona y una hormona proteica, relaxina, los testículos secretan una sola hormona, testosterona (Hafez y Hafez 2002, citado en Macas, 2017, p.28).

2.5.4.1. Estrógenos

Hablando de estrógenos, Macas (2017) afirma que: Los estrógenos son generados por los ovarios y, por las glándulas suprarrenales en menor cantidad. Provocan la proliferación celular en los órganos, principalmente el endometrio, las mamas y los propios ovarios. El estrógeno exhibe las concentraciones más altas durante los primeros 7 días de la menstruación. La principal fuente natural es 17β estradiol. (PAGS. 28). Para completar esta afirmación Gutiérrez (2008, citado en Macas, 2017) establece varios tipos de estrógenos, tales como: 17β -Estradiol.

2.5.4.2. Progesterona

Hafez y Hafez, (2002, citado en Macas, 2017) expresan a la P4 como el progestágeno natural más prevalente y es secretada por células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal. La secreción de la P4 es estimulada por la LH principalmente. Este autor señala las siguientes funciones:

Prepara el endometrio para ser implantado y el mantenimiento de la gestación, aumenta la actividad de las glándulas secretoras del endometrio e inhibe la movilidad de los músculos uterinos. Funciona sinérgicamente con el estrógeno para inducir el comportamiento estral. En altas concentraciones, inhibe el estro y la secreción de LH. (pág. 29)

Bearden y Fuquay (1982, citado en Macas, 2017), sostiene que la P4: Mantiene la preñez por inhibición de las contracciones uterinas y promoción del crecimiento glandular en el endometrio y motivar el desarrollo alveolar de las glándulas mamarias. Además, agrega que tiene acciones sinérgicas los estrógenos y los progestágenos en la preparación del útero para la preñez y las glándulas mamarias para la lactancia (p. 29)

2.5.4.3. Prostaglandina

Los prostanoides según Gutiérrez, (2008, citado en Macas, 2017) son: Metabolitos obtenidos a partir del ácido araquidónico por una vía metabólica conocida como ciclooxigenasa. La $PGF2\alpha$, sustancia con marcada actividad en el control del ciclo estral. Estructuralmente, se considera un ácido graso insaturado que consta de 20 átomos de carbono. Contiene un anillo de ciclopentano y dos cadenas laterales. La $PGF2\alpha$ se produce en el endometrio, se transporta corriente arriba desde la vena

uterina hasta la arteria ovárica y afecta o degrada específicamente el cuerpo lúteo de los ovarios. Además, ocasiona contracciones uterinas, facilitando el transporte y la distribución de los espermatozoides. (p. 30)

Macas (2017) también indicó que: Se han producido análogos de la PGF2a natural o análogos sintéticos (tiaprost, cloprostenol, fenprostalene), que son los responsables de la estimulación luteólisis al final del trabajo de parto o durante el embarazo. (Adán, 2001). La cloprostenol es un análogo sintético de la PGF2a el cuál exhibe fotoisómeros D y L, siendo el isómero D 3-4 veces más fuerte que el isómero L debido a su mayor afinidad por el receptor; Hace que el cuello uterino retroceda rápidamente y al mismo tiempo estimula la dilatación de los músculos uterinos y cervicales. PGF2a también se comercializa como una sal de trometamina (Dinoprost). La única actividad útil de PGF2a o sus análogos es inducir la lisis luteínica temprana y, por lo tanto, disminuir los niveles de P4; Una vez que desaparece la retroalimentación negativa, continúa una cadena de eventos hormonales y ováricos que conducen a las manifestaciones de estro. (PÁGINA 30)

2.6. Sincronización del celo y ovulación

El desarrollo de métodos para controlar el ciclo estral de las vacas se puede organizar en cinco fases distintas. El primero incluyó investigaciones destinadas a prolongar la fase lútea utilizando P4 exógena. Con el tiempo, estos métodos comenzaron a depender de una combinación de estrógeno y gonadotropinas. La tercera fase se caracterizará por el uso de prostaglandinas para acortar la fase lútea, la cuarta fase será el período en el que se desarrollen métodos con la unión de progesterona y prostaglandinas. La llamada quinta fase surge de recientes estudios de ondas foliculares que muestran que, en el control del ciclo estral en vacas es necesario manipular no solo de la fase lútea sino también del desarrollo del folículo del óvulo. (Macas, 2017, pág. 31)

2.6.1. Sincronización con Prostaglandina F2 α

Se informa que: PGF2 α se ha utilizado comúnmente para regular el estro en el ganado (Odde, 1990). Los primeros estudios muestran que la maduración de CL en el momento del tratamiento con PGF2 α afecta la luteólisis y que la PGF2 α no induce efectivamente la luteólisis durante los primeros 5 a 6 días después de la luteólisis. Además, en bovinos sin luteólisis, el inicio del celo se distribuyó en un período de 6 días (Macmillan y Henderson, 1984, citado en Macas, 2017, p. 31).

Similar: La ovulación ocurrirá entre 3 y 4 días. Por otro lado, el tratamiento con PGF2 α dado cuando el folículo dominante está en la fase estacionaria media o tardía, es decir, cuando no es viable, hará que el folículo dominante ovule en la siguiente fase folicular después de 5-7 días. (Kastelic y Ambrose, 2004, citado en Macas, 2017, p.32).

Con base en estas consideraciones, Macas (2017) afirma que los autores agregan que: Este intervalo de tiempo refleja el tiempo que tarda el folículo dominante de la nueva ola en desarrollarse y expandirse al tamaño preovulatorio y confirma determinando que la detección eficiente del estro es esencial para lograr una alta tasa de preñez en los programas de IA. (p. 32)

2.6.2. Protocolos con GNRH

Geary et al., (2001, citado en Villarreal, 2015) informan que: Los tratamientos con GnRH se han utilizado ampliamente en los últimos años para IATF de ganado vacuno y lechero en los Estados Unidos. Estos regímenes incluían inyección de GnRH, seguida de PGF2 α 7 días después y una segunda inyección de GnRH 48 horas después del tratamiento con PGF. En los protocolos CoSynch, las vacas son inseminadas en un tiempo fijo en el momento de la segunda GnRH (página 21)

Por otro lado, Thatcher et al., (2006, citado en Villarreal, 2015) indican que: Según el protocolo Ovsynch, a las vacas se las inseminó en un tiempo fijo 16 h después de la segunda aplicación de GnRH. Varios informes han demostrado que los protocolos Ovsynch producen tasas de preñez similares a las logradas en vacas inseminadas y sincronizadas con PGF 12 horas después de la detección del estro. Por lo tanto, esta técnica es ampliamente utilizada para fertilizar vacas lecheras. (pág. 36)

El uso del protocolo Ovsynch no dio resultado en la sincronización de celos en vacas anéstricas posparto. Este método claramente induce la ovulación en una alta proporción de vacas lecheras durante el anestro, pero algunas de estas vacas cuentan con una fase lútea posterior más corta. (Gumen et al., 2003, citado en Villarreal, 2015, p. 36). Es el indicador más bajo en los índices de preñez de las cíclicas.

2.6.3. Tratamiento PRE-SYNCH OVSYNCH

En primer lugar, Vasconcelos et al. (1999 citado en Macas 2017) afirma que los estudios muestran que la fase del ciclo estral en el momento en que se coloca la GnRH afecta los resultados obtenidos del programa Ovsynch (p. 33). Como tal, si se usa GnRH durante el desarrollo temprano del folículo dominante, es posible que la ovulación no ocurra en respuesta a la liberación de LH, en cuyo caso la aparición de ondas foliculares no estará sincronizada (Macas, 2017, página 33)

Sin embargo, Moreira et al. (2001, citado en Macas, 2017) sugirieron: que el ganado respondería de manera más consistente a los protocolos que contienen GnRH si se iniciaran desde el día 5 hasta el día 12 del ciclo; esto se puede conseguir con una sincronización previa antes de la

primera inyección de GnRH. Se ha verificado que la sincronización previa con una o dos dosis de PGF2a (con 14 días de diferencia) mejora las tasas de concepción en los protocolos de IATF con GnRH. Sin embargo, el tratamiento con PGF2a no pudo mejorar la fertilidad en vacas lecheras no cíclicas, lo que parece haber ocurrido en estudios previos. (pág. 33)

2.6.4. Utilización de dispositivos de liberación de progesterona

El uso de dispositivos intravaginales o subcutáneos para la colocación de progestágenos es un método simple y efectivo. Las hormonas contenidas en estos dispositivos son liberadas lenta y gradualmente, absorbidas por los tejidos adyacentes, ingresan al torrente sanguíneo e impiden el celo y la ovulación (Soto, 2001, citado en Macas, 2017, 2017, página 34).

El objetivo, según (Gutiérrez et al., 2008, citado en Macas, 2017) es actuar: Como CL exógeno, también para inhibir la secreción de gonadotropinas y por tanto el crecimiento folicular. Cuando se suspende el tratamiento, se detiene la supresión de progesterona en el hipotálamo, lo que desencadena la liberación de gonadotropinas y el inicio de un ciclo normal, la ovulación y la posibilidad de concepción; La respuesta es efectiva incluso en el período posparto temprano, lo que permite una duración más corta del anestro posparto en vacas de doble propósito. (pág. 34).

Esta condición se puede lograr en vacas de primer parto, así como en vacas con partos múltiples.

Además, Gutiérrez et al., (2006, citado en Macas, 2017) indican que: El tratamiento con progestágenos incluye estrógenos en el procedimiento, lo que permite sincronizar la ovulación y el establecimiento de IATF en el hato con doble objetivo, con tasas de preñez similares a los obtenidos cuando se detecta calor. Esta retroalimentación elimina la detección de celo, lo que representa una limitación importante para el éxito de la IA. (pág. 34)

2.6.5. Protocolo con gonadotropina coriónica equina

Esta hormona, conocida abreviadamente como eCG, fue descubierta cuando la sangre de una yegua preñada induce la maduración sexual en ratas inmaduras. eCG es una glicoproteína con subunidades alfa y beta similares a LH y FSH, pero con mayor contenido de carbohidratos, especialmente ácido siálico (Hafez y Hafez 2002, citado en Macas, 2017, p.34).

La gonadotropina coriónica de yegua preñada tiene niveles más altos de actividad de FSH y niveles más bajos de actividad de LH. Estimula el crecimiento de los folículos en virtud de su efecto FSH y ayuda en menor grado durante la ovulación (Macas, 2017, p. 34).

Con los requisitos de la IATF funciona con una sola dosis, este producto está indicado cuando se trabaja con vacas con ternero al pie, vacas y novillas en condiciones corporales comprometidas y/o novillas con edad y peso adecuados que aún no ciclan (Hafez y Hafez, 2002, citado en Macas, 2017, p. 35). En este sentido, Baruselli et al. (2004, citado en Macas, 2017) informaron que la administración de 400 UI de eCG en el instante de quitar el dispositivo liberador de P4 aumentó las concentraciones plasmáticas de P4 y las tasas de preñez en vacas lactantes durante el celo posparto (página 35).

En resumen, Macas (2017), indica que: la eCG se utiliza en medicina bovina para mejorar el rendimiento reproductivo de los animales, donde se ha comprobado que:

- Mejorar la eficiencia reproductiva aplicado en el período posparto temprano. En un estudio reciente, la dosificación en el día 6 posparto redujo los días abiertos en 26 (de 130 a 124).
- Sube las tasas de ovulación y preñez en vacas que no ciclan.
- En los procedimientos de inseminación a tiempo fijo, aumenta las tasas de concepción en vacas en ovulación y promueve el desarrollo y la supervivencia embrionaria.
- Validación de uso en protocolos de sincronización de receptoras de embriones, mejorando el resultado de la técnica.
- Durante varios días después de la ovulación, actúa sobre las células grandes del cuerpo lúteo, aumentando los niveles de progesterona durante la fase lútea después de la fertilización. Logrando una mejor salud embrionaria en el caso de animales preñados, se logró minimizar la pérdida embrionaria temprana. (pág. 35)

2.7. Regulación de la progesterona síntesis y acción en el cuerpo lúteo bovino

Se describe en Macas (2017) que: CL es una glándula endocrina transitoria formada por las células secretoras del folículo después de la ovulación. La función principal de CL es la producción de P4, un regulador de varias funciones reproductivas, Es importante en la regulación del momento del ciclo estral y durante la implantación del blastocisto. La elevación preovulatoria de LH es fundamental para la luteinización de las células foliculares y el mantenimiento de CL; sin embargo, CL depende menos de la estimulación de LH durante la fase lútea temprana. Al principio, CL necesita el apoyo luteotrópico para su crecimiento y desarrollo, otros factores respaldan la función de LH para mantener el desarrollo y la función de CL. De hecho, se ha descubierto que las prostaglandinas I2 y E2, la oxitocina, la norepinefrina y los factores de crecimiento estimulan eficazmente la síntesis de P4 en el CL temprano bovino. (pág. 36)

2.7.1. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo

El colesterol, que puede obtenerse de la dieta o sintetizarse y transportarse a los ovarios como lipoproteínas (HDL y LDL), es un precursor de la síntesis de esteroides. La Progesterona, entre otras hormonas esteroides, es el regulador fisiológico más importante involucrado en la supervivencia de CL y la implantación de blastocistos. La esteroidogénesis ovárica está regulada por varios factores que actúan como modulador en el ciclo estral (Rekawiecki, 2008, citado en Macas, 2017, p. 36).

También Castañeda (2011, citado en Macas, 2017, p. 36) indica que: El primer paso en la esteroidogénesis ocurre en la mitocondria. La proteína principalmente responsable del transporte de colesterol desde el exterior hacia el interior de la membrana mitocondrial es la proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR). Se sintetiza como un precursor de proteína de 37 kDa y se transforma en una proteína madura de 30 kDa después de atravesar la membrana mitocondrial. La interacción de StAR con la superficie externa de la membrana mitocondrial conduce a cambios estructurales de las proteínas y la generación de StAR que se une al colesterol. Además de los receptores STAR, periféricos y de benzodiazepinas, el ligando natural de este receptor también parece estar involucrado en la regulación de las tasas del transportador de colesterol. (pp. 36-37)

Macas (2017) dice que Castañeda suma a lo ya dicho: La membrana mitocondrial interna está ligada al citocromo P450_{scc}, que es el primer componente del complejo enzimático que se une a la cadena del colesterol para formar la pregnenolona. Luego se convierte en pregnenolona mediante la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/isomerasa (3 β HSD), que se une al retículo endoplásmico liso. La LH es reconocida como el regulador más importante de la esteroidogénesis lútea, aunque este proceso también está regulado por otros factores lúteos. Los receptores de membrana de LH se encuentran principalmente en las células pequeñas del cuerpo lúteo. La unión de LH a su receptor desencadena la activación de la proteína quinasa A (PKA) dependiente de cAMP y aumenta la producción de P4. El número de receptores de LH cambia durante el ciclo estral. Es bajo el primer y último día del ciclo estral y alto a la mitad del ciclo. (pág. 37)

2.7.2. Regresión luteal

Al respecto, Cunningham (2003, citado en Macas 2017) afirma que: La regresión de CL es superior en animales domésticos no gestantes para que puedan volver a un estado de fertilidad lo antes posible, mejor. La vida del CL después de la ovulación debe ser suficiente para permitir la síntesis y liberación de factores que permitan el mantenimiento durante la preñez y el desarrollo, pero lo suficientemente corto para que los animales no preñados regresen tan pronto sea posible a un estado fértil. En los animales domésticos grandes, la fase lútea dura unos 14 días en ausencia de preñez, lo que permite que estos animales completen el ciclo a intervalos relativamente regulares. (pág. 37)

Como tratamiento clínico para la luteólisis: PGF2a y prostaglandina E se han utilizado en perras y leonas para tratar la piómetras o para inducir el aborto. En animales grandes, la degradación de CL se inicia con la síntesis uterina y la liberación de PGF2a seguida de aproximadamente 14 días después de la ovulación, donde se cree que ocurre la migración desde el útero al ovario por transferencia retrógrada al ovario local o sistémica. (Cunningham, 2003, citado en Macas, 2017, pp. 37-38)

Este proceso de PGF2a, según Macas (2017), identifica: Comienza alrededor del día 11 a 13 en ovinos y alrededor del día 16 a 17 en bovinos, porcinos y equinos. Esta secreción hormonal se produce en pequeños ritmos, cuya intensidad aumenta a medida que avanza la disolución lútea. Los efectos de la PGF2a sobre CL son variados: en las células del cuerpo lúteo de gran tamaño, la PGF2a estimula la exocitosis de los gránulos citoplasmáticos que contienen grandes cantidades de oxitocina (Ox). Las células lúteas sintetizan PGF2a, posiblemente por estimulación de PGF2a endometrial. (pág. 38)

2.8. Eje somatotropo

El eje somatotropo incluye el hipotálamo, la glándula pituitaria y el hígado, todos los cuales están regulados por diferentes neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas. La hormona del crecimiento (GH), el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFI), la hormona liberadora de GH (GHRH) y la somatostatina (SS) están involucradas en este sistema. La síntesis y secreción de la hormona del crecimiento (GH) es controlada por dos péptidos hipotalámicos: (GHRH), que la estimula, y (SS), que la inhibe (Romero, 1997). Dos péptidos hipotalámicos son los mediadores últimos de los efectos metabólicos, endocrinos, neuronales e inmunitarios sobre la secreción de GH (Muller, 1999).

En los mamíferos, IGFI forma una parte importante del eje somatotropo donde el IGFI es generado por el hígado y otros tejidos que ejercen efectos de GH. Además, la GH es estimulada por una hormona secretada por el estómago, la grelina (Kappelle, De Magalhaes Filho, Le Bouc y Holzenberger, 2006).

IGFI se convierte en uno de los mediadores más importantes de las tareas de la hormona del crecimiento (GH). La GH, luego de ser secretada por la glándula pituitaria, actúa en el hígado estimulando la liberación de IGFI que se distribuye endocrinamente a diferentes sitios para promover la división celular. En apoyo de esto, numerosos estudios han demostrado que los niveles circulantes de IGFI están significativamente asociados con la tasa de crecimiento y que se ha demostrado que el hígado tiene los niveles más altos de ARNm de IGFI y, por lo tanto, el sitio de producción de hormonas que más creció (Rose, 2002).

Además, existen uniones de proteína transportadora similar al factor de crecimiento similares a la insulina (IGFBP). Estas IGFBP desempeñan un papel crucial en el transporte de IGF circulante a los tejidos diana y en el desarrollo de la actividad de IGF al verificar su entrada en receptores específicos. El estado nutricional es un factor muy importante para la actividad de GH e IGF1, que determina la regulación del eje somatotropo (Afsal y Sejian, 2018).

2.8.1. Hormona de crecimiento

La hormona del crecimiento, se la conoce también como somatotropina (GH), es un polipéptido monocatenario de 191 aminoácidos que es generado y secretado por las células somatotropas de la adenohipófisis (López, Suárez, & Ramírez, 2011). La somatotropina bovina recombinante (rBST) es de origen sintético con una variante de 190 aminoácidos, que tiene la particularidad de presentar una leucina (Leu) o una valina (Val) en la posición 127 de la secuencia de aminoácidos y la adición de una metionina en el extremo NH₂ (Dohoo et al., 2003; Ethernon y Bauman, 1998).

2.8.2. Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (igf-1)

Los factores de crecimiento que son similares a la insulina (IGF) son generados en el hígado. Este sistema IGF consta de dos ligandos (IGFI e IGFI_{II}), dos receptores (IGF1R y 2R) y seis proteínas de unión (IGFBP1 a 6). Estos dos ligandos IGFI y II son estructuralmente similares a la proinsulina y estimulan factores que están activos en el ciclo celular y sus efectos promueven el crecimiento al unirse a IGF1R. Las IGFBP son una familia de seis proteínas de unión que se unen a IGFI y II con mayor afinidad que los receptores de IGF y regulan la biodisponibilidad de los IGF para unirse a los receptores (Zulu, Nakao y Sawamukai, 2002). Los IGF e IGFBP circulantes son sintetizados y secretados principalmente por el hígado, aunque también están implicados en muchos tejidos extrahepáticos como el tejido adiposo, donde también tienen receptores (Montaño y Cortés, 2005; Arboleda, Uribe y Osorio, 2011)

El receptor IGFI en el sistema reproductivo bovino se ha localizado en ovocitos, células escamosas, células de la teca y células de la granulosa. Los efectos de IGFI en el desarrollo embrionario bovino temprano están mediados por el propio receptor. Varios estudios informaron la detección de ARNm para IGF1 en el útero bovino, pero no en las trompas de Falopio. Otros estudios han argumentado que las trompas de Falopio bovinas producen IGFI. (Velásquez, Spicer y Wathes, 2008).

2.8.3. Somatotropina y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 en la reproducción

Somatotropina (ST), factor de crecimiento parecido a la insulina 1, además de controlar el crecimiento

y la nutrición de los animales, también afecta la función reproductiva (Lucy, 2000). De hecho, esta hormona tiene receptores en la mayoría de los tejidos del sistema reproductivo (Lucy, 2000).

La somatotropina estimulará al hígado para que sintetice y secrete IGF1, la insulina es un factor que lo permite. Estas tres hormonas en altas concentraciones estimulan las células de la granulosa, provocando un mayor crecimiento de folículos y ovocitos (Lucy, 2000). Además, Lenz et al. (2007, citado en Ruiz et al., 2011) demostraron la capacidad del ovario para producir IGF1, en las interneuronas y membranas celulares de la granulosa, observándose mayor expresión de ARNm para IGF1 en el estriado. cuerpo lúteo primario (pág. 71) El tracto reproductivo materno y embrionario secreta una serie de moléculas que ayudan a regular el desarrollo embrionario temprano. IGF1 mejora el desarrollo embrionario bovino con un mayor número de células en la etapa de blastocisto (Block, 2007).

Según Block, (2007), el porcentaje de ovocitos que se desarrollan hasta en el día 7 tendió a aumentar en los embriones tratados in vitro con IGF1 en comparación con los controles (23,8 frente a 18,6, respectivamente). Se puede inferir que las actividades de IGF1 permiten un mejor desarrollo embrionario y secreción hormonal en el momento del reconocimiento materno cuando el embrión experimenta elongación y secreción de interferón (IFN τ).

En otro estudio dirigido por Bilby (2006), se demostró que el tratamiento con bST sube los niveles plasmáticos de IGFI, aumenta la longitud celular y mejora la producción de IFN τ , lo que prepara el endometrio para la implantación y la placenta.

2.9. Protocolos de superovulación

Aguilar (2019) en su estudio que realizó en la zona de Santa Elena, Bagua Grande, Perú; Analizó el efecto de la aplicación de dos procedimientos de superovulación sobre la cantidad y calidad de embriones bovinos generados in vivo, se utilizaron ocho vacas Simmental y Brangus de 18 a 25 meses de edad, la primera recolección se hizo días 14 y 15; mientras que la segunda recolección se realizó 47 días después de la primera. En los resultados obtenidos: No se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.10$) con la prueba de Kruskalwallis y la prueba de Wilcoxon Rank sum para el protocolo uno (T1) y el protocolo dos (T2) en la estructura embrionaria. Además, que la raza Brangus produjo un mayor número (NEV), (NED) y (ONF) en relación a la Simmental en ambos protocolos ($p \geq 0.10$). (Aguilar, 2019, p. Xiii)

Con base en estas consideraciones, Aguilar (2019) afirma que: En el primer procedimiento de superovulación se utiliza un dispositivo implante vaginal bovino (DIB) con intensidad 0,5 mg de

progesterona (P4), más BE (benzoato de estradiol) adicional la aplicación de la hormona estimulante del folículo (FSH) con un cambio de un día en la aplicación de esta también se utilizó prostaglandina (PF2 α) y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). (PAG. 6) Tal como se describe en la (Tabla 1).

Tabla 1-2 Protocolo de superovulación uno

Día Protocolo	Mañana (6am.)	Tarde (6pm.)
Día 0	Colocar DIB + 0.4 ml BE	
Día 1		
Día 2		
Día 3	4.0 ml FSH	4.0 ml FSH
Día 4	3 ml FSH	3 ml FSH
Día 5	2 ml FSH	2 ml FSH + 3 ml Pg
Día 6	1 ml FSH	1 ml FSH + retirar DIB
Día 7	9:00 am (GnRH)	3.5 ml 6:00 pm. IA
Día 8	6:00 am IA	
Día 9		
Día 10		
Día 11		
Día 12		
Día 13		
Día 14	Colecta, búsqueda, evaluación y selección de embriones	

Fuente: *Protocolo Modificado de Superovulación manual IETS 2011.*

Autor : Wilson Rafael Rivera Viñan

Analisis: En el segundo procedimiento, para la superovulación, se aplica un implante de dispositivo intravaginal bovino (DIB) con 0,5 mg de progesterona (P4) benzoato de estradiol (BE) con hormona folículo estimulante (FSH) con un día de cambio en esta aplicación y prostaglandina (PF2 α) y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). (Aguilar, 2019, pág. 7). La cual se describe (Tabla 2).

Tabla 2-2 Protocolo de superovulación dos

Día Protocolo	Mañana (6am.)	Tarde (6pm.)
Día 0	Colocar DIB + 0.4 ml BE	
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4	4.0 ml FSH	4.0 ml FSH
Día 5	3 ml FSH	3 ml FSH
Día 6	2 ml FSH	2 ml FSH + 3 ml Pg
Día 7	1 ml FSH	1 ml FSH + retirar DIB
Día 8	9:00 am (GnRH)	3.5 ml 6:00 pm. IA
Día 9	6:00 am IA	
Día 10		
Día 11		
Día 12		
Día 13		
Día 14		

Fuente: *Protocolo Modificado de Superovulación manual IETS 2011.*

Autor: Wilson Rafael Rivera Viñan

2.9.1. Sincronización de receptoras de embriones bovinos

Uno de los elementos que ha impedido el uso masivo de la transferencia de embriones durante muchos años ha sido la detección de celo (Bó et al, 2002). Los tratamientos más empleados para el PTSD son la inyección intramuscular de 2 mg de EB con la inserción de un dispositivo que contiene progesterona, que llamamos día 0. El día 5, una dosis única de fármaco luteolítico PGF por vía intramuscular y 400 UI de eCG por vía intramuscular. El día 8 se quitó el dispositivo y 24h después se administró 1 mg de EB por vía intramuscular. El día 17 se realizó TE a todos los receptores con CL (Bó et al., 2002, 2004). Esta metodología da como resultado una tasa de aprovechamiento del 85 % y una tasa de concepción del 50 %, lo que maximiza el uso de las receptoras disponibles en un hato y sin comprometer las tasas de concepción.

La adopción del protocolo FTET requiere varios tratamientos, se han desarrollado trabajos para simplificar estos protocolos (Bós et al., 2012). La modalidad más utilizada hoy en día es 2 mg de EB intramuscular con la inserción de un dispositivo con progesterona, que llamamos día 0. (ECP; Bou et al., 2012).

La GnRH también se ha utilizado en programas de sincronización de la ovulación para TETF (Hinshaw et al., 1999). Se inserta un dispositivo que contiene progesterona desde el día 0 hasta el día 7; Se colocó GnRH los días 0 y 9 y se colocó una dosis luteolítica de PGF cuando se retiró el dispositivo con progesterona. Luego, todos los animales con CL el día 16 (7 días después de la segunda GnRH) fueron transferidos con embriones generados in vivo o in vitro. También dentro de estos protocolos, la eCG puede usarse para estimular el crecimiento folicular (Mayor et al., 2008 citado por Bou et al., 2002)

Este tratamiento se conoce como CoSynch de 5 días y da como resultado tasas de receptoras de embriones transferibles comparables y tasas de concepción similares con dispositivos de 7 u 8 días y protocolos que usan estradiol (Bo et al., 2012). El tratamiento consistió en la introducción de un dispositivo que contenía progesterona entre los días 0 y 5. La primera GnRH se colocó el día 0 y la segunda GnRH el día 8 (72 h después de retirar el dispositivo) y se aplicó una dosis luteolítica de PGF al momento de retirar el dispositivo de progesterona y 400 UI de eCG al mismo tiempo. (Boet al., 2002).

2.9.2. Mecanismo de acción del Folltropin

La hormona folículoestimulante se obtiene inyectando selectivamente las glándulas pituitarias de los cerdos para su uso en el ganado bovino. La FSH es un iniciador ovárico, aumenta el crecimiento de los folículos ováricos. La puesta de FSH exógena a mamíferos al inicio de las ondas foliculares provoca el crecimiento de todos los folículos mayores de 1,7 mm de diámetro. Muchos folículos en desarrollo requieren estimulación de FSH hasta que estén lo suficientemente maduros para responder a la LH durante las últimas etapas de maduración y ovulación. Demora aproximadamente este proceso unos 4 días. (Vetoquinol, 2019).

2.9.3. Crioprotectores para conservar embriones

Un crioprotector es el compuesto químico que conserva los tejidos o células por largos periodos de tiempo cuando se almacena a bajas temperaturas (Acevedo, 2019, párrafo 5). Entonces, cuando hablamos de congelación, hay dos tipos:

- **Los crioprotectores penetrantes:**

Este tipo de crioprotectores tiene las siguientes características: Tienen un bajo peso molecular y pueden penetrar las membranas celulares. Algunos son: glicerol (G), dimetilsulfóxido (DMSO), 1-2 propanodiol, etilenglicol (EG), propilenglicol (PG), polietilenglicol (PEG), etanol y otros alcoholes. La actividad crioprotectora se debe principalmente a su capacidad para evitar la acumulación exagerada de electrolitos y otras sustancias en la congelación, y la conformación de cristales de hielo que alteran la

estructura de la membrana. Su poco peso molecular admite una rápida penetración a través de las membranas celulares, regula la estabilidad y las fases de la bicapa de fosfolípidos e influye en la solvatación del agua. (Acevedo, 2019, pp. 6)

- **Agentes crioprotectores no-penetrantes:**

Para describir los crioprotectores no invasivos, se cita a Acevedo (2019) argumentando que: Son agentes de alto peso molecular que son efectivos a altas velocidades de congelación, son importantes para el desempeño, exhiben acción crioprotectora, provocan una rápida deshidratación celular y se usan comúnmente en relación con sustancias invasivas. Algunos ejemplos son: polivinilpirrolidona (PVP), glucosa, fructosa, ficol, sorbitol dextrano, sacarosa, lactosa, trehalosa, rafinosa y otros azúcares.

Desde un aspecto procedimental, la diferencia más común entre los CP (EG y G) es el método de descongelación, cuando se utiliza G se utilizan preparaciones de ambos sistemas, el sistema convencional y el sistema simple, es una preparación consistente en sacarosa en un sobre, en el que se coloca G y se separa la sacarosa por burbujas de aire, quedando el embrión en solución G en el medio, se debe agitar la pajilla para transferir los embriones. En una caja que contiene solo G, el procedimiento es el siguiente: descongelar, se debe quitar el sellador y se debe expulsar el algodón de la pajilla para retirar el embrión en una placa de Petri que contiene el primer diluyente continuo. pasar a la siguiente solución. Cabe señalar que, por ejemplo, estos crioprotectores son altamente permeables y que los embriones congelados y descongelados con daño osmótico rara vez se transfieren directamente al entorno isotónico (útero). El uso de otros crioprotectores como el glicerol aplicado en el método anterior, que tiene un mayor peso molecular y una tasa osmótica lenta, será rechazado ya que provocará un alto choque osmótico. Esta simplificación de la técnica es principalmente beneficiosa para el proceso de transferencia de embriones, ya que permite que los embriones se transfieran directamente al útero de la receptora sin retirar los embriones de la pajilla congelada. (párrafos 7, 9)

2.9.4. Calidad y concentración del semen sexado para IATF en generación de embriones

El uso de semen sexado ha crecido en la práctica comercial, sobre todo en los últimos 10 años. El semen sexado se ha utilizado en muchas especies de mamíferos, incluidos bovinos, cerdos, caballos, ovejas, cabras, perros, gatos, ciervos, delfines, búfalos de agua y humanos. Debes saber que lo que conocemos bajo el nombre común de semen sexado se divide en diferentes tipos. Cada tipo requiere un conocimiento adecuado para su uso, en cuanto a sus costos y beneficios. (Romo, 2016, párr. 1)

Todo ello para maximizar los posibles beneficios. De igual forma, en cuanto a la modernidad en la clasificación del semen, se ha determinado que: La tecnología actual de clasificación del semen tiene

una tasa de separación de 8.000 a 10.000 espermatozoides por segundo, con una pureza superior al 90%. Utilizando métodos de eyaculación bovina de alta calidad, se puede lograr una tasa de disociación de aproximadamente 14000 gametos con cromosomas 'X' o 'Y' por segundo, con una pureza del 75 %.

Con los avances en la tecnología y el conocimiento de las respuestas de los espermatozoides sexados, la separación y las características de congelación o criopreservación, se puede suponer que las tasas de separación aumentarán en el futuro.

Actualmente, el Modo de pureza se usa cuando la pureza del esperma sexual es más importante, por ejemplo, en las pajuelas de individuos que requieren pureza de cualquier sexo. 87 a 98%. Para los programas de producción de embriones de fertilización in vitro (FIV), el esperma se puede sexar con una pureza de hasta 98,5% del sexo deseado, lo que da como resultado una mayor pureza de la muestra, pero también es necesario aumentar el tiempo para generar el sexo. (Romo, 2016, párrs. 6-8)

2.9.4.1. Clasificación y usos prácticos del semen sexado

Se denomina semen normal: Los tubos de semen que han sido diluidos (no sexado) y congelados mediante procedimientos de rutina se denominan muestras de semen convencionales. Una dosis típica de semen normal (no sexado) normalmente contiene entre 10 y 30 millones de espermatozoides por pajilla. (Romo, 2016, párr. 9)

Así, la segregación común incluye la eliminación de subpoblaciones de espermatozoides muertos sin aislar los espermatozoides con los cromosomas X e Y; sin embargo, esta técnica rara vez se utiliza (por ejemplo, en el caso de opciones especialmente solicitadas) (Romo, 2016, párr. 10)

Hubo variación en la concentración de estas células en los tubos de recolección a pesar de que: El semen de todo sexo se envasa en pajuelas de 0,25 ml. Las concentraciones en semen sexado, expresadas en millones de espermatozoides por pajilla, son de dos tipos: dosis reducida y dosis concentrada.

La elección de usar semen congelado o fresco depende del tiempo permitido antes del uso. El semen separado por sexo se enfría y diluye usando procesos especiales sin la presión adicional de congelación y descongelación posterior, si se usa por un período de tiempo relativamente corto, como 48 horas. Una categoría más reciente de semen sexado se llama semen retrovertido, que significa semen del sexo opuesto. En él, las clásicas ampollas y pajuelas de semen congelado, algunas de las cuales se fabricaron hace muchos años, se puede enviar a laboratorios, donde se pueden sexar para uso clínico, FIV (lo más común), o recongelación. (Romo, 2016, párrafos 11-13)

2.9.4.2. Factores importantes para tomar en consideración

Se menciona que existe un total de 3 purezas en el semen sexado en el mercado comercial. Aunque Romo, (2016) afirma que: Existen 3 tipos, y por lo general para ganado se venden dos tipos, 75% y 90% de pureza. Para entender mejor estos grados, los porcentajes de pureza asociados a cada uno son:

1. Entre 75% y 86% para pajuelas al 75% de pureza. La muestra de espermatozoides sexados pasará a través del citómetro a una velocidad rápida, que resultará en una menor eficiencia de discriminación sexual, lo que resultará en la producción de aproximadamente 75 % de descendientes del sexo sexado.
2. Del 87 al 94% para una pajuela pura al 90%. Los espermatozoides pasan por el dispositivo a una velocidad media, lo que significa una mayor eficiencia de apareamiento, lo que da como resultado el nacimiento de unas 85 crías del sexo elegido. Se pueden comprar pajuelas tipo 1 y tipo 2, el tipo 75% es la más económica.
3. Del 94 al 98% para pajuelas de alta pureza. Este nivel de pureza del semen sexado se utiliza en individuos de alto valor genético, por ejemplo, en el caso de sementales seleccionados o superiores en producción de leche. La muestra con espermatozoides sexados pasa por el dispositivo más lentamente, pero con mayor eficiencia de clasificación por sexos, dando como resultado el nacimiento de alrededor de 90 % del sexo seleccionado. (párrafos 18-19)

2.9.4.3. Consideraciones prácticas para el uso de semen sexado en ganado bovino

Es fundamental aplicar algunos consejos de uso del semen, tales como: Algunos veterinarios hacen un examen de ultrasonido antes de la inseminación artificial para determinar el lado ovulatorio (presencia de un folículo dominante), luego se deposita el contenido de la pajilla en los cuernos del lado seleccionado.

Para Inseminación artificial con semen sexado en vacas en servicio: Solicite a la compañía de semen sexado su recomendación para el uso de este semen en vacas en servicio. Siempre que sea posible, en los programas de concepción, se deben comprar y utilizar pajuelas que contengan 5 millones de espermatozoides por pajuela, en lugar de las pajuelas habituales de 2,1 millones de espermatozoides sexados. Se recomienda utilizar 2 pajuelas con 5×10^6 espermatozoides en la primera IA y una o dos en la segunda inseminación (5-10 millones de espermatozoides totales).

Inseminar lo más tarde posible dentro del intervalo de tiempo necesario para la inseminación de vacas. Si es posible, intente depositar el espermatozoides en ambos cuernos uterinos, utilizando una pajilla para aplicar en cada cuerno. (Romo, 2016, párrs. 23-25)

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. Características del área de estudio

3.1.1. Localización

La presente investigación se realizó en la hacienda ganadera Casa Blanca cuyo propietario es el señor Aquiles Guerrero del cantón Bucay provincia de Guayas ubicada a la costa sur del país. Las principales características meteorológicas de la zona de influencia se describen a continuación.

Tabla 3-3 Condiciones meteorológicas del cantón Bucay provincia del Guayas.

Parámetro	Bucay
Temperatura, °C	18 - 24°C
Humedad relativa, %	87 %
Precipitación, mm/año	3000 mm

Fuente: Protocolo Modificado de Superovulación manual IETS 2011.

Autor : Wilson Rafael Rivera Viñan

El trabajo de investigación tuvo una duración de 60 días, durante los cuales se realizó la sincronización e inducción a la superovulación con la aplicación de la hormona somatotropina recombinante (rBST) en vacas raza Brahman con el fin de evaluar las estructuras colectadas.

3.2. Materiales

3.2.1. Biológicos

12 vacas raza Brahman

3.2.2. Hormonas y Fármacos

- Lactotropina: Somatotropina (jeringas de 1.4 ml, concentración de 500 mg)
- CIDR: Dispositivo de aplicación intravaginal, concentración de 1,39 mg de P4 de liberación lenta montados en una base de silicón inerte.
- Grafoleón: Benzoato de estradiol (concentración 5 mg de BE/ml)

- Estrumate: la fuente de D-Cloprostenol. (Cloprostenol sódico 0,263 mg/ml)
- Folltropin: FSH liofilizada, 400 mg.

3.2.3. *De Campo*

- Libreta de campo, Overol, Botas de caucho, Gorra, Gafas de protección, Mascarillas, Sogas, Recipientes de agua, Basureros, Guantes para revisión ginecológica, Guantes de látex, Agujas calibre 18 x 1 ½', Jabón, Detergente, Desinfectante (amonio cuaternario), Toalla, Medio para Colecta, Filtros y equipo, Sonda Foley, Especulo, Estilete, Solución Salina, Guante de chequeo ginecológico veterinario, Jeringas y agujas descartables, Equipo para baño maría, Anestésico local Lidocaína 2%

3.2.4. *De Oficina*

- Carpetas, Esferográficos, Libreta de registros, Borradores

3.2.5. *Equipos*

- Computador, Cámara digital, Ecógrafo Mindray DP 6600, Transductor Multifrecuencia 5 a 10 MHz

3.2.6. *Instalaciones*

- Corral de manejo, Manga, Laboratorio

3.3. **Metodología**

3.3.1. *Unidades experimentales*

En la investigación se utilizaron doce ejemplares de raza Brahman de una edad comprendida entre 36 a 48 meses, distribuidas en cuatro tratamientos (3 en cada uno) tomando como factor de selección la condición corporal que presentan. El tamaño de la unidad experimental estuvo representado por un animal.

3.3.2. *Tratamientos y diseño experimental*

Se evaluó el efecto de la aplicación de somatotropina recombinante (rBST) en diferentes dosis (500 mg, 1000 mg, 1500 mg y testigo) en vacas superovuladas por lo que se contó con cuatro tratamientos cada uno con tres repeticiones lo que nos dio un total de 12 unidades experimentales que son distribuidas bajo un diseño completamente al azar (DCA) que se fundamenta en el siguiente modelo lineal aditivo:

Dónde:

$$Y_{ij} = \mu + r_i + \epsilon_{ij}$$

Y_{ij} = valor de la variable dependiente

μ = media general

τ_i = Efecto de los tratamientos sobre la calidad y cantidad de estructuras colectadas

ϵ_{ij} = Error experimental

Numero de repeticiones:3

Tamaño de la muestra: 12 animales

Tabla 4-3 Esquema del experimento

Tratamientos	Código	T.U.E	Repeticiones	Total
Sin rBST	T0	1	3	3
Con 500 mg de rBST	T1	1	3	3
Con 1000 mg de rBST	T2	1	3	3
Con 1500 mg de rBST	T3	1	3	3

rBST: Somatotropina Recombinante bovina
T.U.E.: Tamaño de la Unidad Experimental

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Para la presente investigación se planteó cuatro grupos de vacas y cuatro tratamientos con diferentes cantidades de somatotropina, la unidad experimental de un ejemplar hembra de la raza Brahman, distribuyéndose bajo un diseño completamente al Azar.

3.3.3. *Mediciones Experimentales*

- Largo de los ovarios (mm)
- Ancho de los ovarios (mm)
- Folículos (Nro.)
- Cuerpos lúteos (Nro.)
- Estructuras colectadas (Nro.)
- Estructuras con características para congelar (Nro.)

3.4. Procedimiento Experimental

3.4.1. De Campo

Al inicio de la investigación se utilizó el ecógrafo (Mindray DP 6600 con un transductor lineal multifrecuencia de 5 a 10 MHz), luego se hizo un examen ecográfico a todas las vacas, para evaluarlas características que presentaban los ovarios y se determinó que no existía ninguna patología (ovarios con atresia, quistes ováricos, cuerpos lúteos cavitarios); además se examinó el tracto reproductivo y no se encontró ninguna patología. Se determinó por serología Brucelosis, Leptospirosis, Neosporosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina (perfil reproductivo animales vacunados) se comprobó que se encontraban libres de dichas enfermedades. Las muestras de sangre se tomaron de la coccígea media en tubos vacutainer sin anticoagulante, se conservaron en refrigeración y fueron enviados al laboratorio para el análisis, en el laboratorio LivexLab acreditado por Agrocalidad, MIPRO para realizar dichas pruebas.

3.4.1.1. Aplicación del tratamiento hormonal

Una vez seleccionados los animales y divididos en cuatro grupos; previo a la aplicación de los tratamientos se ecografió a los animales para valorar el estado fisiológico normal de los órganos reproductivos. Se procedió a la aplicación de los tratamientos conforme se detalla en las tablas 5, tabla 6 y tabla 7.

Tabla 5-3 Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Detalle
T0	Progesterona (Implante intravaginal) + 2.5 mg de Benzoato de estradiol(vía intramuscular)
T1	Progesterona (Implante intravaginal) + 2.5 mg de Benzoato de estradiol(vía intramuscular) + 500 mg de Somatotropina recombinante bovina rBST (vía subcutánea)
T2	Progesterona (Implante intravaginal) + 2.5 mg de Benzoato de estradiol(vía intramuscular) + 1000 mg de Somatotropina recombinante bovina rBST (vía subcutánea)
T3	Progesterona (Implante intravaginal) + 2.5 mg de Benzoato de estradiol(vía intramuscular) + 1500 mg de Somatotropina recombinante bovina rBST (vía subcutánea)

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 6-3: Protocolo de superovulación

Día Protocolo	Mañana (8am.)	Tarde (6pm.)
Día 0	Dispositivo + 50 mg de Progesterona + 2,5 mg Benzoato de Estradiol + somatotropina (500, 1000 o 1500 mg según tratamientos)	
Día 1		
Día 2		
Día 3		
Día 4		2.5 ml Foltopin IM
Día 5	2.5 ml FSH	2 ml FSH
Día 6	2 ml FSH + PGF	1.5 ml FSH + PGF
Día 7	1.5 ml FSH + 2 estrumat	1.5 ml FSH + 2 cc estrumate
Día 8	1.5 ml FSH + Retiro Imp	1 ml FSH
Día 9	CELO 2cc GnRH	I.A 2 Pajillas
Día 10	I.A 2 Pajillas	
Día 16	Recolección, búsqueda, evaluación y selección de embriones	

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 7-3: Protocolo para la receptora

Día Protocolo	Tratamiento	Horario
Día 0	Dispositivo + 2 mg Benzoato de Estradiol	7:00 am
Día 5	Prostaglandina + 400 UI de PMSG	8:00 am
Día 8	Retirar dispositivo	8:00 am
Día 9	1 mg Benzoato de Estradiol	8:00 am
Día 17	Transferencia de embriones	9:00 am

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

3.4.2. *Análisis estadístico*

Se realizaron las siguientes pruebas:

- Medida de tendencia central (media aritmética) y medida de dispersión (desviación estándar) para expresar los datos de cantidad y calidad de estructuras colectadas por animal.
- Prueba de Tukey considerándose varianzas iguales con el fin de comparar el efecto de los tratamientos en el número de estructuras colectada

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Largo y ancho de los ovarios (mm)

Se aplicó el análisis estadístico mediante el Software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 2020, se realizó la comparación de medias de cada tratamiento por el método de Tukey evidenciando que no se registraron diferencias altamente significativas ($P \geq 0,05$), para la variable en estudio referente a largo de los ovarios como se visualiza en la Tabla 1 - 8 y Tabla 1 - 10, por el contrario, se determinó una diferencia significativa en el ancho de los ovarios ($P \leq 0,05$),

Tabla 8-4: Largo de los ovarios en milímetros (mm)

Repetic	T0		T1		T2		T3	
	D	I	D	I	D	I	D	I
1	28,14	27,09	33,45	32,19	34,51	32,09	34,26	32,11
2	29,17	28,04	33,06	31,89	33,17	32,07	31,52	30,19
3	29,05	27,92	26,73	13,54	33,73	32,84	32,96	31,78
Total	86,36	83,05	93,24	77,62	101,41	97,00	98,74	94,08
Promed	28,79	27,68	31,08	25,87	33,80	32,33	32,91	31,36

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 9-4: Ancho de los ovarios en milímetros (mm)

Repeticiones	T0		T1		T2		T3	
	D	I	D	I	D	I	D	I
1	16,11	14,96	21,86	20,38	21,66	20,41	22,24	21,03
2	15,43	14,74	21,38	20,03	21,87	20,48	20,34	29,19
3	15,63	14,02	14,62	13,05	21,25	21,05	21,23	21,13
Total	47,17	43,72	57,86	53,46	64,78	61,94	63,81	71,35
Promed	15,72	14,57	19,29	17,82	21,59	20,65	21,27	23,78

T0: Sin Rbst; T1: 500 mg de rBST; T2: 1000 mg de Rbst; T3: 1500 mg de Rbst; rBST: Somatotropina bovina recombinante; D: Derecho; I: Izquierdo

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 10-4 : Análisis de varianza largo y ancho de ovarios

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Largo ovario derecho	44,269	3	14,756	3,497	,070
Largo ovario izquierdo	83,399	3	27,800	4,962	,456
Ancho ovario derecho	65,459	3	21,820	4,983	,031*
Ancho ovario izquierdo	139,230	3	46,410	4,713	,035*

*Diferencias significativas entre promedios

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

En referencia al largo de los ovarios derechos e izquierdos en los bovinos Brahman se tuvo un valor superior en los ovarios derechos el tratamiento T2 (1000 mg de rBST) con 33.80 mm para el ovario derecho y 32.33 mm para el izquierdo. Estos resultados son muy similares a los dados por Muñoz (2012), quien encontró al aplicar rBST un diámetro de 34.56 mm en el ovario derecho y 30.88 mm en el izquierdo en bovinos Holstein. De esta manera se deja en evidencia que el tamaño de los ovarios depende de la raza del animal, de la condición corporal, estado hormonal y condición fisiológica.

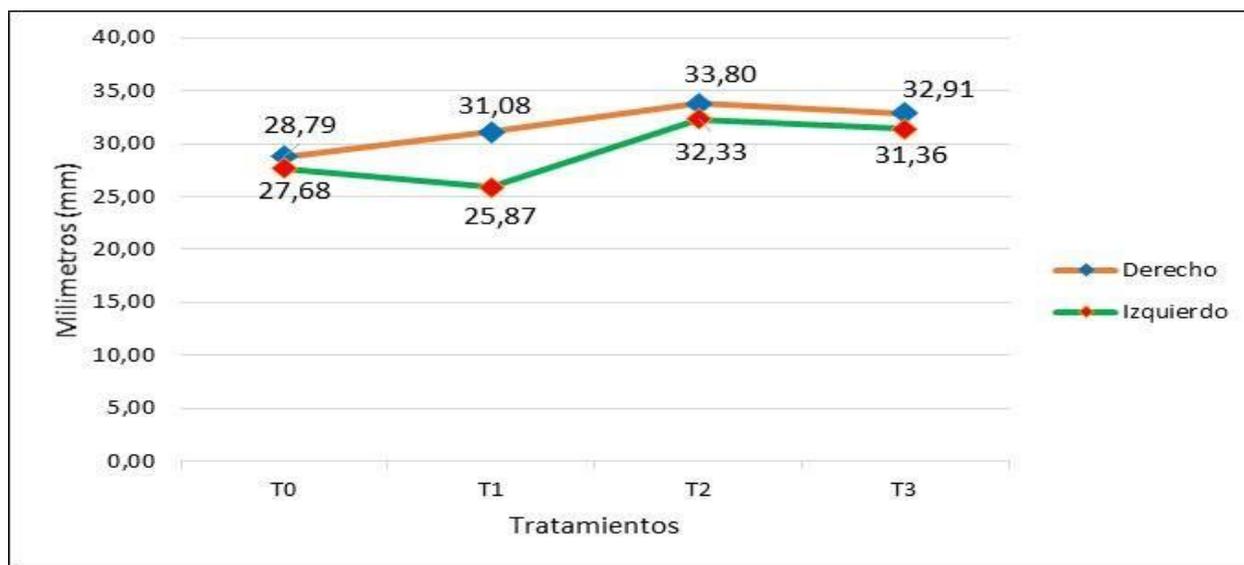


Figura 1-4: Evaluación de la longitud de los ovarios derecho e izquierdo en cada uno de los tratamientos.

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Al evaluar el efecto de los distintos tratamientos sobre el ancho de los ovarios se determinó que la adición de diferentes dosis de rBST de manera particular la aplicación de 1500 mg de rBST en el T3 influye positivamente en el desarrollo del ancho 21.27 mm para el derecho y 23.78 mm en el izquierdo en contraste con el grupo control T0 sin rBST 15.72 mm derecho y 14.57 izquierdo. Los resultados son similares a los obtenidos por Muñoz (2012) quien al aplicar rBST obtuvo 21.37 mm para el ovario derecho y 18.65 mm en el izquierdo, por otro lado, en los bovinos Holstein sin rBST tuvo 20.09 mm en el derecho y 18.57 mm en el izquierdo. Esto permite evaluar que la aplicación de la rBST si influye en un mayor desarrollo del ancho de los ovarios sin embargo no es el único factor a considerar.

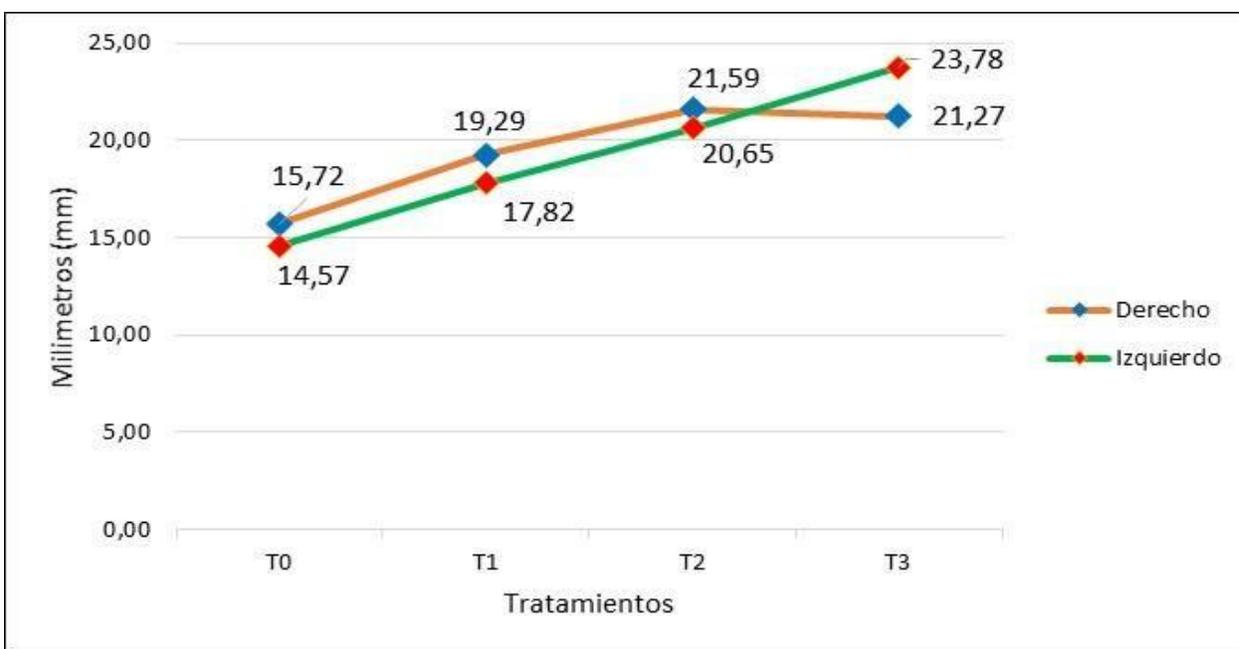


Figura 2-4 : Evaluación del ancho de los ovarios derecho e izquierdo en cada uno de los tratamientos.

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

4.2. FOLÍCULOS (NRO.)

Se realizó el análisis de varianza en cada uno de los tratamientos para comparar los promedios obtenidos y no se registraron diferencias altamente significativas ($P \geq 0,05$), de tal manera que solo existe una diferencia únicamente numérica más no estadística.

Tabla 11-4: Número de folículos

Repeticiones	T0	T1	T2	T3
1	9	10	11	12
2	7	12	10	4
3	6	6	10	12
TOTAL	22	28	31	28
PROMEDIO	7	9	10	9

T0: Sin rBST**T1:** 500 mg de rBST **T2:** 1000 mg de rBST **T3:** 1500 mg de rBST**rBST:** Somatotropina bovina recombinante

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 12-4: Análisis de varianza en referencia al número de folículos.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	990,083	1	990,083	118,81	,000
Tratamientos	14,250	3	4,750	,570	,650
Error	66,667	8	8,333		
Total	1071,000	12			

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

En la figura 3, se puede apreciar la diferencia numérica del tratamiento T2 (1000 mg de rBST) se obtuvo 10 folículos en comparación con los demás tratamientos. Estos resultados son similares a los obtenidos por Muñoz (2012) que determinó un valor promedio de 1.83 folículos con la aplicación de rBST y 1.48 sin rBST. Con estos resultados se evidencia que no existe un efecto al aplicar la rBST en el número de folículos.

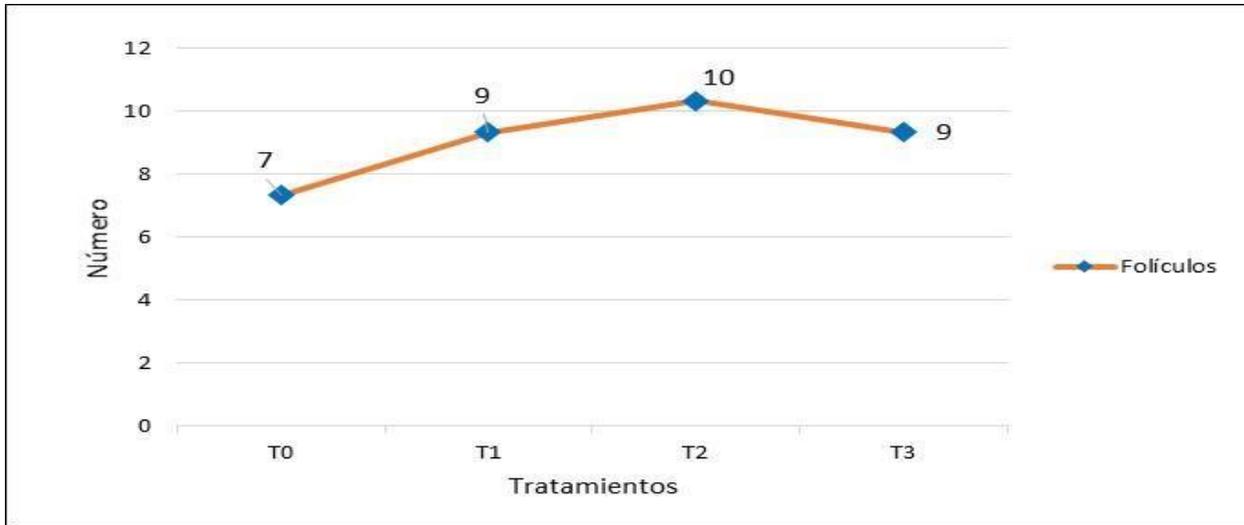


Figura 3-4: Análisis del número de folículos en cada uno de los tratamientos.

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

4.3. CUERPOS LÚTEOS (NRO.)

En el número de cuerpos lúteos el efecto de la aplicación de los tratamientos no tuvo diferencias significativas ($P \geq 0,05$) solo se tuvo diferencias numéricas de los tratamientos T1, T2 y T3 en comparación con el grupo control T0.

Tabla 13-4 : Número de cuerpos lúteos

Repeticiones	T0	T1	T2	T3
1	9	10	11	12
2	7	12	10	6
3	6	2	10	12
TOTAL	22	24	31	30
PROMEDIO	7	8	10	10

T0: Sin rBST

T1: 500 mg de rBST **T2:** 1000 mg de rBST

T3: 1500 mg de rBST rBST: Somatotropina bovina recombinante

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 14-4 : Análisis de varianza en referencia al número de cuerpos lúteos.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	954,083	1	954,083	89,445	,000
Tratamientos	19,583	3	6,528	,612	,626
Error	85,333	8	10,667		
Total	1059,000	12			

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

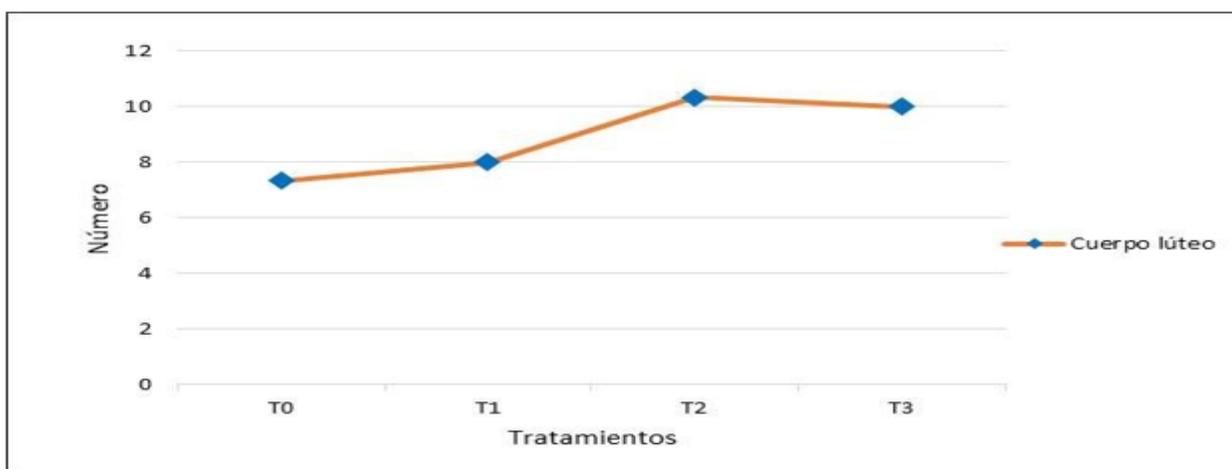


Figura 4-4 : Análisis del número de cuerpos lúteos en cada uno de los tratamientos.

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Los resultados obtenidos para el T2 (1000 mg rBST) fue de 10 cuerpos lúteos promedio y para el grupo control T0 sin rBST fue de 7. Estos se comprueban con los de la investigación realizada por Alvarado 2012, en la cual determinó 15.97 con la aplicación de rBST y 15.60 sin rBST demostrando así que la rBST no influye en el desarrollo de folículos preovulatorios.

4.4. Estructuras colectadas (NRO.)

En el número de estructuras colectadas se determinó que no existe diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre cada uno de los tratamientos realizados sin embargo si se evidencia como en las otras variables una diferencia numérica del tratamiento T2.

Tabla 15-4 : Número de estructuras colectadas

Repeticiones	T0	T1	T2	T3
1	12	13	11	12
2	6	13	11	4
3	12	0	10	10
TOTAL	30	26	32	26
PROMEDIO	10	9	11	9

T0: Sin rBST**T1:** 500 mg de rBST **T2:** 1000 mg de rBST**T3:** 1500 mg de rBST

rBST: Somatotropina bovina recombinante

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022**Tabla 16-4 :** Análisis de varianza en referencia al número de estructuras colectadas

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	1083,000	1	1083,000	50,372	,000
Tratamientos	9,000	3	3,000	,140	,934
Error	172,000	8	21,500		
Total	1264,000	12			

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

En el estudio realizado por Hernández y Gutiérrez (2012), determinaron que en vacas lecheras existe un efecto favorable de suministrar la rBST en el Porcentaje de Concepción, sea integrada a los programas de sincronización de la ovulación en vacas de primer servicio o suministrada a las vacas subfértiles al inseminar, en contraste con el presente estudio se tuvo 11 estructuras colectadas al aplicar 1000 mg de rBST (T2) y 10 sin aplicar rBST es decir no se tuvo el efecto deseado con la aplicación de la rBST en las vacas superovuladas sin embargo no se descarta su uso en la etapa embrionaria para fortalecer las estructuras colectadas.

4.5. Estructuras con características para congelar (NRO.)

En el número de estructuras colectadas con características para congelar se determinó del número total de estructuras colectadas aquellas con son viables para realizar el proceso de transferencia de embriones, al realizar el análisis de varianza no existió diferencia significativa ($P \geq 0,05$) en los tratamientos.

Tabla 17-4 : Número de estructuras colectadas con características para congelar

Repeticiones	T0	T1	T2	T3
1	6	10	10	10
2	5	8	10	0
3	6	0	8	8
TOTAL	17	18	28	18
PROMEDIO	6	6	9	6

T0: Sin rBST

T1: 500 mg de rBST **T2:** 1000 mg de rBST

T3: 1500 mg de rBST

rBST: Somatotropina bovina recombinante

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 18: Análisis de varianza en referencia al número de estructuras colectadas con características para congelar

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	546,750	1	546,750	37,925	,000
Tratamientos	26,917	3	8,972	,622	,620
Error	115,333	8	14,417		
Total	689,000	12			

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

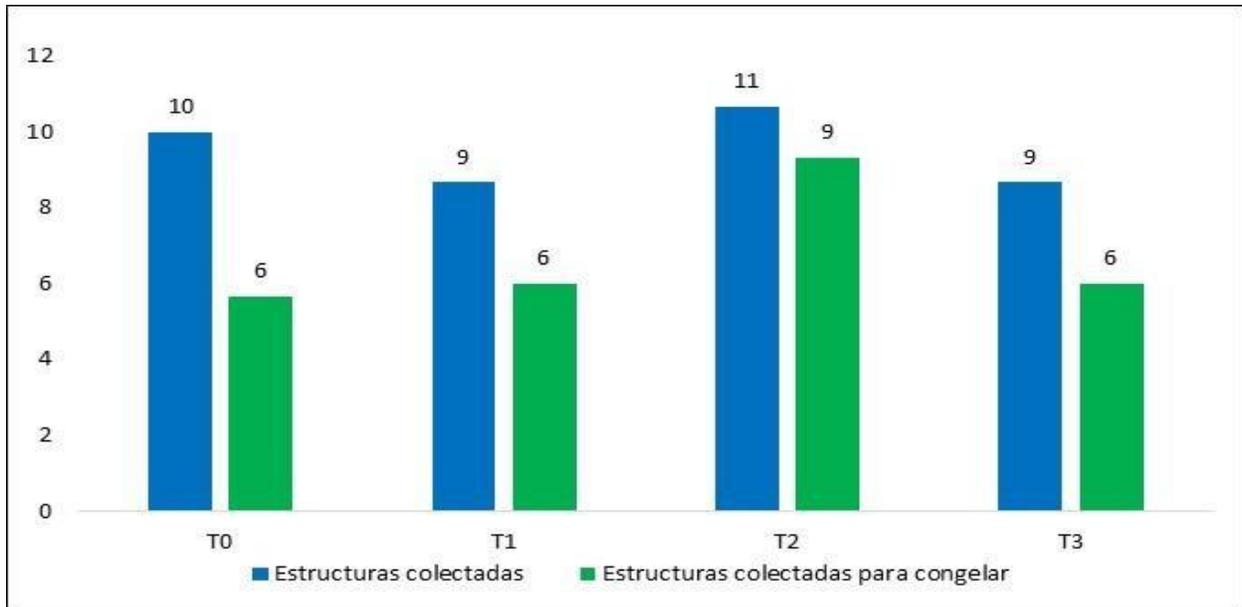


Figura 5-4 : Comparación del número de estructuras colectadas y numero de estructuras colectadas con características para congelar en cada uno de los tratamientos.

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

En la Figura 5 se evidencia el número de estructuras colectadas en contraste con aquellas seleccionadas con características para congelar de tal manera que el mayor número de estructuras corresponde al tratamiento T2 (1000 mg de rBST) en razón que de 11 estructuras colectadas 9 son seleccionadas para congelación.

En el estudio realizado por Barrera J., Fernández E., Mixan E., Rengifo O., Mellisho E. Spermova (2013), se determinó que el número estructuras regeneradas (ovocitos no fertilizados) fue 9.42 cotejado con las donadoras con somatotropina fue 9.65 es decir que se tuvo un incremento en el número de estructuras colectadas, en la presente investigación ocurrió algo similar la aplicación de 1000 mg de rBST en el T2 generó un incremento numérico en las estructuras colectadas llegando a 11 esta diferencia no representa un valor estadístico superior con respecto a los otros tratamientos, sin embargo es importante mencionar que las estructuras colectadas va a depender mucho de las condiciones fisiológicas del animal y de la dinámica folicular.

4.6. Folículos anovulatorios (NRO.)

El número de folículos anovulatorios es decir aquellos que no han madurado se registran en el grupo control y el tratamiento T1, mientras que en el tratamiento T2 y T3 solo se registraron 2 enambos casos como se observa en la Tabla 19.

Tabla 19-4: Número de folículos anovulatorios

Repeticiones	T0	T1	T2	T3
1	3	3	2	3
2	5	5	1	0
3	3	0	2	3
TOTAL	11	8	5	6
PROMEDIO	4	3	2	2

T0: Sin rBST **T1:** 500 mg de rBST **T2:** 1000 mg de rBST **T3:** 1500 mg de rBST rBST: Somatotropina bovina recombinante

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Tabla 20-4 : Análisis de varianza en referencia al número de folículos anovulatorios

Origen	Suma de cuadrados tipoIII	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	75,000	1	75,000	27,273	,001
Tratamientos	7,000	3	2,333	,848	,505
Error	22,000	8	2,750		
Total	104,000	12			

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

En el análisis de varianza se logró determinar que no existe diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre los tratamientos, es decir que la comparación de los promedios es similar. Estos datos se corroboran con los obtenidos por Bravo M., S.E., Alberio, R.H., Argudo G., D.E., Durán L., J.C., Perea G., F.P.1, (2017) en su trabajo de investigación obtuvo los siguientes: El grupo

testigo (sin rbST) indujo entre 6.8 y 4.9 más cuerpos lúteos y estructuras colectadas que los demás grupos experimentales, aunque las diferencias no fueron significativas. En comparación con los resultados obtenidos en el T2 (1000 mg de rbST) y en T3 (1500 mg de rbST) se tuvo un número de 2 folículos anovulatorios en ambos casos. Los resultados obtenidos en la presentación investigación de manera general no presentan diferencias estadísticas de tal manera que la aplicación de diferentes dosis de la rbST no es un factor determinante en la evaluación de las estructuras colectadas, dado que no se tuvo los efectos esperados.

CAPÍTULO V

5. PROPUESTA

5.1. Protocolo para la superovulación utilizando somatotropina recombinante bovina.

Se selección los animales que estén con una condición corporal adecuada es decir ni muy gordos ni muy flacos, libres de enfermedades infectocontagiosas y que no hayan presentado problemas en las gestaciones anteriores, se realiza la exploración transrectal con el uso del transductor nos dirigimos al aparato reproductor de cada una de las vacas con el fin de determinar anomalías reproductivas, infecciones uterinas, tamaño de folículos y cuerpos lúteos; es decir que el animal este completamente sano y reproductivamente activo.

5.1.1. Alcance

La ventaja que ofrece la superovulación es ser más eficiente y aprovechar a los animales de alto valor genético ya que se aumenta el número de descendiente de una vaca que en condiciones normales nos da; la aplicación de la superovulación radica en que nos permite obtener en corto tiempo un hato deseado reduciendo de esta manera el tiempo frente a otras biotecnologías reproductivas.

Descripción de procesos

5.1.1.1. Elección de los animales

Unas hembras con una condición corporal adecuada, que su aparato reproductor se encuentre saludablemente bien; que se encuentren ciclando normalmente y con ovarios de tamaño adecuado nos garantizan excelentes resultados frente a los protocolos de superovulación

5.1.1.2. Examen del aparato reproductor

El útero se examina en su totalidad, haciendo cortes transversales, longitudinales y oblicuos; en los ovarios la exploración se hace colocando el transductor a cada lado del útero, en los ovarios encontramos folículos los mismos que se muestran en imágenes de color negro no

ecogénicos; y cuerpos lúteos se muestran muy claramente en imágenes ecográficas después de 48 o 72 horas posteriores a la ovulación esta estructura es hipocogénica algo oscura y redondeada dependiendo mucho del estadio si es cuerpo lúteo hemorrágico, cuerpo lúteo maduro o cuerpo lúteo en regresión. Cuando encontramos estas estructuras tanto folículos y cuerpos lúteos funcionales interpretamos que las hembras se encontraban ciclando con normalidad; cuando encontramos vacas con infecciones uterinas entonces al examen ecográfico vamos a observar el útero lleno de contenido y por tal razón los ciclos estrales de aquellas hembras van hacer irregulares; razón por la cual se descarta estos animales para el proceso de superovulación.

Otro diagnóstico que podemos encontrar al explorar ecográficamente el aparato reproductor femenino son los quistes foliculares los mismos que podemos determinar cómo estructuras redondeadas anecoicas de un tamaño promedio de 25 mm son persistentes provocando alteraciones en el ciclo estral de la vaca.

5.1.2. *Protocolo de superovulación utilizado.*

Tabla 21-5: Esquema del experimento

Tratamientos	Código	T.U.E	Repe	Tot
Sin rBST	T0	1	3	3
Con 500 mg de rBST	T1	1	3	3
Con 1000 mg de rBST	T2	1	3	3
Con 1500 mg de rBST	T3	1	3	3

rBST: Somatotropina Recombinante bovina T.U.E.: Tamaño de la Unidad Experimental

Realizado por: Rivera Viñan, Wilson Rafael, 2022

Para la presente investigación se planteó cuatro grupos de vacas y cuatro tratamientos con diferentes cantidades de somatotropina, la unidad experimental es un ejemplar hembra de la raza Brahman.

5.1.3. *Periodo de capacitación para aplicar los protocolos de superovulación*

En el protocolo de superovulación es necesario tener un periodo de capacitación al técnico o persona que se encargara de la aplicación de hormonas utilizadas en los tratamientos con la finalidad de conocer la importancia de su estricta aplicación en cantidades y horas indicadas para posteriormente poder hacer recomendaciones de ser el caso.

- Es obligatorio capacitar a la persona que va a manipular y a aplicar el material hormonal a los animales previo el chequeo ginecológico mediante la exploración transrectal ecográfica, es suficiente que el personal sea capaz de entender de manera general la acción de cada hormona aplicada, con el fin de concientizar el trabajo que se realice y obtener los resultados deseados.
- Se recomienda que el adiestramiento al personal esté formado por etapas entre 45 y 60 minutos con un máximo de tres etapas por día. Es necesario el conocimiento para que los trabajadores se vayan empoderando de a poco de estas biotecnologías reproductivas.
- Al subdosificar o sobredosificar las cantidades de hormonas utilizadas en los tratamientos de superovulación no obtendremos los resultados esperados teniendo incluso situaciones adversas en los animales lo cual produciría desmotivación y pérdidas económicas a los ganaderos.

5.1.4. *Impacto económico en relación al uso de somatotropina*

Es muy común observar cómo se realizan protocolos de superovulación sin la utilización de somatotropina, Al adicionar esta hormona al protocolo de superovulación en la presente investigación obtuvimos resultados muy aceptables con el tratamiento dos, el mismo que trabajamos con 1000 mg de somatotropina el costo estimado en dólares varía de acuerdo al valor genético de los progenitores del embrión; pero tan solo al obtener un embrión más estamos ganado una cantidad de dinero considerable.

Por lo tanto, al incluir la somatotropina en el tratamiento de superovulación necesita una

capacitación básica, un poco de experiencia y especial cuidado en la utilización de todas las hormonas de manera general; sobre todo se debe tener especial cuidado en aplicar las dosis requeridas y a la hora que corresponde para tener una respuesta favorable de los animales tratados. Desde este punto de vista, la superovulación es la biotecnología reproductiva más moderna y de fácil acceso para los ganaderos y de esta manera ellos puedan tener un hato deseado en un periodo de tiempo relativamente corto.

CONCLUSIONES

- La aplicación de diferentes dosis de la rBST en el proceso de superovulación no influye significativamente en el tamaño de los ovarios derecho e izquierdo en virtud de que esto depende de las condiciones de desarrollo del animal, alimentación y condición corporal.
- El número de folículos y cuerpos lúteos obtenidos en el presente estudio no presentan diferencias estadísticas superiores entre si con o sin la aplicación de la rBST, sin embargo, no por esta razón se descarta su uso en la reproducción ya que la aplicación de 1000 mg rBST presentó diferencias numéricas superiores.
- El número de estructuras colectadas y las que presentan características para congelar de igual manera no presentaron valores estadísticos representativos, únicamente la aplicación de 1000 mg de rBST presentó un valor numérico superior en estructuras colectadas con respecto al tratamiento T0, T1 y T3.
- No se observó efecto alguno de la aplicación de rBST en el número de folículos anovulatorios, más sin embargo el menor valor de folículos sin madurar fue para la aplicación de 1000 mg de rBST en el T2, de manera que por los resultados obtenidos el tratamiento T2 presentó un mejor comportamiento en todas las variables analizadas.

RECOMENDACIONES

- Realizar más réplicas del presente estudio, con la aplicación de la rBST en diferentes etapas de la reproducción como por ejemplo en la superovulación o en la inseminación para tener una mejor evaluación del efecto.
- Realizar pruebas de la hormona antimulleriana (AMH), antes del tratamiento de superovulación como indicador de la capacidad reproductiva de la vaca
- Realizar el estudio en otras especies animales para tener más elementos de investigación que permitan establecer protocolos estandarizados de la aplicación de rBST en cada especie investigada

GLOSARIO

Biotecnología: Es una serie de técnicas que permiten aumentar la eficiencia reproductiva y las tasas de mejoramiento genético de los animales (García, et al. 2018, párr.5)

Superovulación: Es la liberación de muchos óvulos maduros en un solo ciclo estral, esto ocurre después de la aplicación de un medicamento que estimula a los ovarios (García, et al. 2018, párr.5)

Lactotropina: Es el patentado de la somatotropina bovina recombinante, siendo ésta el análogo sintético de la hormona somatotropina bovina que ayuda a los procesos metabólicos del animal (Afsal, A., & Sejian, 2018, pp 2-4).

Hormona: Sustancia elaborada por las glándulas del cuerpo Las Hormonas controlan el funcionamiento de algunas células y órganos (Lenis et al., 2014).

Cuerpo Lúteo: Es un tejido dinámico que se forma luego de que el ovocito es liberado del folículo ovárico, su principal función es la producción de progesterona (Wiltbank, 1994, citado en Rojas, 2017, p. 25).

Folículo: Es un saco pequeño lleno de líquido, se localiza en el ovario que contiene un óvulo inmaduro (Lenis et al., 2014).

Protocolo: Es un conjunto de reglas o especificaciones acerca de la realización de una actividad determinada, Thatcher et al., (2006, citado en Villarreal, 2015)

Embrión: Es la etapa inicial del desarrollo de un organismo multicelular, en los organismos que se reproducen sexualmente, el desarrollo embrionario es la parte del ciclo vital que comienza justo después de la fecundación (JICA, 2016).

Fecundación: Es la unión de la célula sexual masculina con la célula sexual femenina. Previo a esto se requiere cambios en el espermatozoide como es la capacitación y la acción acrosómica (JICA, 2016, pág. 60)

Ciclo estral: Es el conjunto de eventos fisiológicos que tienen lugar entre un celo o estro y el siguiente, en la especie bovina tiene una duración que oscila entre 18 a 24 días, 21 días en promedio. (García, et al. 2018, párr.5)

Estro: Es el periodo durante el cual las hembras de clase mamíferas están receptivas sexualmente. (Kesner et al., 1981, y Fink, 1988, citado en Rojas, 2017, p. 24).

Gónada: Glándula genital, masculina o femenina que se encarga de elaborar las células reproductoras (Hafez & Hafez, 2002, citado en Macas, 2017, pág. 25).

Carúncula: Son estructuras que se encuentran distribuidas uniformemente en el endometrio, siendo el punto de conexión para la placenta durante la gestación. (JICA, 2016).

Cotiledón: Es la contraparte fetal de la carúncula materna. En conjunto forman el placentoma; Una vaca tiene en promedio cuatro filas de quince cotiledones en cada cuerno. (JICA, 2016).

Placentoma: Se llama placentoma a la unión constituida por la carúncula uterina materna y el cotiledón fetal (JICA, 2016).

Ámpula: Es una región de la trompa uterina donde por lo general ocurre la fecundación (JICA, 2016, pág. 60)

Gameto: Célula reproductiva; en los animales, los gametos de las hembras se llaman óvulos, y los gametos de los machos se llaman espermatozoides (Lenis et al., 2014).

Luteólisis: Degeneración del cuerpo lúteo que tiene lugar cuando no se produce la implantación y que va a finalizar con la descamación del endometrio; Cuando la luteólisis se produce de forma prematura podría dificultar la anidación del embrión (Cunningham, 2003, citado en Macas, 2017, pp. 37-38)

Donadora: En ganadería se considera una vaca donadora aquella cuya influencia genética se desea aumentar en el rebaño. Mellisho E. Spermova(2013)

Receptora: Cuando hablamos de transferencia de embriones en vacas una receptora es una vaca joven, libre de enfermedades de probada fertilidad y habilidad materna. Además, debe tener un tamaño adecuado para no tener problemas al parto (Acevedo, 2019 , párrafos 7, 9).

Habilidad Materna: Crían terneros en excelentes condiciones y con buenos pesos, su instinto maternal es muy fuerte y presentan una baja incidencia de partos distócicos (Acevedo, 2019 , párrafos 7, 9).

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, H.** (2001). *Veterinary pharmacology and therapeutics*. Iowa, Estados Unidos: Iowa State University Press.
- Afsal, A., & Sejian, V.** (2018). Somatotropic Axis Associated Growth Governance in Livestock. *Open Access Journal of Veterinary Science & Research*, 2-4.
- Aguilar (2019).** Efecto de dos protocolos de superovulation en cantidad y calidad de embriones bovinos producidos in vivo. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, México
- Alvarado J. C.** (2013). Efecto de la Somatotropina Recombinante Bovina (rBST) sobre la concepción en vacas Jersey sincronizadas con dispositivos de Progesterona (CIDR) + Estradiol e inseminadas a tiempo fijo.
- Arboleda, J., Uribe, L. F., & Osorio, J.** (2011). Factor de crecimiento semejante a insulina
- Argudo D.,** (2016). Ajuste del tiempo de inseminación con semen sexado en vacas superovuladas. (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Azuay.
- Barrera J., Fernández E., Mixan E., Rengifo O., Mellisho E.** (2013). Efecto de Somatotropina (rBST) sobre la respuesta superovulatoria en bovinos. *Supernova*. 2013; 3(1): 81 – 82
- Baruselli, PS., Reis, EL., Marques, MO., Nasser, LF., Bó, GA.** (2004). The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 82-83, 479-486.
- Bazer, FW.** (1992). Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals *Proc Soc Exp Boil and Med* 199, 373-384

Becaluba, F. (2006). Métodos de sincronización de celos en bovinos. Diciembre 20, 2015

Bilby, T. R., Sozzi, A., Lopez, M. M., Silvestre, F. T., Ealy, A. D., Staples, C. R., & Thatcher, W. W. (2006). Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone–Insulin-Like Growth Factor System Responses. *Journal of Dairy Science*, 89(9), 3360–3374.

Bó G., Pelizzar M., Bernal B., Tribulo A., Ongarato F., Rodriguez P., Villamil, Garzón J., Andrada S., Tribulo R., Tribulo H., (2002). Mapletoft, Reuben J. Actualidades de las técnicas de superovulación y transferencia de embriones.

Bousfield, GR., Perry, WM., and DN Ward (1994). Gonadotropin's chemistry and biosynthesis In: The physiology of reproduction Knobil, E., and J, Neil (ED 30), 1749-1792.

Block, J. (2007). Use of insulin-like growth factor-1 to improve post-transfer survival of bovine embryos produced in vitro. *Theriogenology*, 68(SUPPL. 1), 49–55.

Burke, J. M., De la Sota, RL., Risco, CA., Staples, CR., Schmitt, EJ-P., Thatcher, WW. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 8, 1385-1394.

Bravo M., S.E., Alberio, R.H., Argudo G., D.E., Durán L., J.C., Perea G., F.P.1, (2017). Efecto de la aplicación de rBST durante un tratamiento superovulatorio sobre la respuesta ovárica y la producción de embriones transferibles en vacas mestizas. MASKANA, Producción Animal-2017.

- Caraviello, D. Z., Weigel, KA., Fricke, PM., Wiltbank, MC., Florent, MJ., & Cook, N. B.** (2006). Survey of management practices related to the reproductive performance of dairy cattle on large commercial farms in the United States. *J. Dairy Sci* 89, 4723-4735.
- Castañeda, L.** (2011). Fisiología de la reproducción bovina: Desde la monta hasta la implantación embrionaria. (Tesis de grado), Universidad de la Salle
- Costine BA, Inskeep EK, Wilson ME** (2005) Growth hormone at breeding modifies conceptus development and postnatal growth in sheep. *Journal of Animal Science* 83: 810-815.
- Cunningham, J.** (2003). Fisiología Veterinaria: 3ª ed. España. Elsevier p. 421.
- Del Valle Díaz Thaís** (2008). Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En C. G. Stagnaro, & N. M. Belloso (Edits.).
- Diskin, M., Austin EJ., Roche, JF.** (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol*; 23:211-228.
- Dohoo, I. R., DesCôteaux, L., Leslie, K., Fredeen, A., Shewfelt, W., Preston, A., & Dowling, P.** (2003). A meta-analysis review of the effects of recombinant bovine somatotropin. 2. Effects on animal health, reproductive performance, and culling. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 67(4), 252–264.
- Ethernon, T. D., & Bauman, D. E.** (1998). Biology of Somatotropin in Growth and Lactation of Domestic Animals. *Physiological Reviews*, 78(3), 745–761.
- Fink, G.** (1988). Gonadotropin secretion and its control. In: The physiology of reproduction (Edited by Knobil, E and J., Neil. 32, 1349-1377.

García, P., Quintela, L., Becerra, J. y Peña, A. (20 de febrero de 2018). La transferencia de embriones en bovinos. Portal Veterinaria.

Gazquez, A., & Rodríguez, A. (2004). Tratado de histología veterinaria. España: Masson.

Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M., & MacNeil, M. D. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. *J Anim Sci* 79, 1-4.

Ginther, O.J., Bergfelt, DR., Kulick, L.J., Kot, K. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod*; 62:920–927.

Gumen, A. J., Guenther, M., & Wiltbank, M. C., (2003). Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 86, 3184-3194.

Gutiérrez, J. C., Palomares, R., Sandoval, J., De Ondíz, A., Portillo, G., & Soto, E. (2005, junio 13). Uso del protocolo ovsynch en el control del anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito. *FCV-LUZ*, XV, 7. 2016, enero 10.

Gutiérrez, J. C., González, R., Palomares, R., Soto, E. (2006). Fertilidad de vacas mestizas de doble propósito tratadas con un progestágeno intravaginal más eCG en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. III Jornadas Nacionales de Investigación en Reproducción Animal (JONIRA). Marzo, 6 al Barquisimeto-Venezuela.

Gutiérrez, J.C., Palomares, R., González, R., Portillo, G., Montero, M., Rubio, J., Hernández, H., Soto, E. (2008). Shortening Anoestrous Interval In Crossbred Dual Purpose Cows Using Progestagen Intravaginal Sponges plus eCG and PGF2 α . *ReprodDomAnim* (In Press).

Hafez, E. S. (1996). Reproducción e inseminación artificial. Trad. R. Palacios. 6

ed. Interamericana. Carolina del Sur, E.E.U.U. 542 p.

Hafez, E., & Hafez, B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. México: McGraw-Hill Interamericana.

Hernández J y Gutiérrez. (2012). La somatotropina bovina recombinante y la reproducción en bovinos, ovinos y caprinos. *Agrociencia* vol.47 no.1 Texcoco ene./feb. 2013.

Illera, M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. Madrid: Aedos.

Intervet, (2007). Compendium de reproducción animal. Sinervia Uruguay.

JICA, (2016). Agencia de Corporación Internacional de Japón. Manual del protagonista: Anatomía y Fisiología Animal. Nicaragua.

JICA, (2019). Agencia de Corporación Internacional de Japón. Manual del protagonista: reproducción animal, Nicaragua.

Jiménez, A. (2014). Revisión de la utilidad de la Gonadotropina coriónica equina en la reproducción bovina. Noviembre 15, 2015.

Kastelic, J. P., Ambrose, J. D., (2004). Effects of modified OvSynch protocols, including presynchronization, and/or post-breeding pLH or hCG, on pregnancy rates in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 82, 334

Kappeler, L., De Magalhaes Filho, C., Le Bouc, Y., & Holzenberger, M. (2006). [Ageing, genetics and the somatotropic axis]. *Médecine Sciences: M/S*, 22(3), 259–265.

Lenis Sanín Yasser, Tamayo Arango Lynda, Rodríguez Osorio Nelida, Duque Muñoz Leonardo, Naranjo Nicholls Jose, Carrillo González Diego, Duque Quintero Mónica, Maldonado Estrada Juan, Tarazona Morales Ariel. (2014). Reproducción de la vaca. Manual didáctico sobre la reproducción, gestación, lactancia y bienestar de

la vaca. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.

López, P., Suárez, Á., & Ramírez, E. (2011). Influencia de las hormonas metabólicas y la nutrición en el desarrollo folicular en el ganado bovino: implicaciones prácticas, *21*, 155

Lucy, M. C. (2000). Regulation of Ovarian Follicular Growth by Somatotropin and Insulin-Like Growth Factors in Cattle. *Journal of Dairy Science*, *83*(7), 1635–1647.

Macas Apolo, F. (2017). Efecto de progesterona inyectable (p4) aplicada en el día 3 pos inseminación sobre el cuerpo lúteo y la fertilidad en vacas Brahman y Brown Swiss en el trópico ecuatoriano. [Tesis de maestría, Universidad de Cuenca], Ecuador.

Martínez Aguilar M, Gutiérrez CG, Domínguez Hernández YM, Hernández Cerón J (2011) Respuesta estral y tasa de preñez en cabras en anestro estacional tratadas con progestágenos y somatotropina bovina. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2: 221

Macmillan, K. L., & Henderson, H. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F_{2α} to estrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6:245-254. 66 66.

Montaño, E. L., & Cortés, Z. T. R. (2005). ¿Por qué no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano ?, *18*(20), 127–135.

Montero-Pardo A, Hernández-Cerón J, Rojas-Maya S, Valencia J, Rodríguez-Cortez A, Gutiérrez CG (2011) Increased cleavage and blastocyst rate in ewes treated with bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization. *Animal Reproduction Science* 125: 69-73.

Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F., Thatcher, W. W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 84, 1646-1659.

Muller, E. E. L. V. C. D. (1999). Neuroendocrine control of growth hormone secretion, 79(2), 511–607.

Muñoz R. L. (2012). Efecto de la Somatotropina Recombinante Bovina (rBST) sobre la tasa de concepción en vacas Holstein sincronizadas con dispositivos intravaginales con Progesteronay Benzoato de Estradiol e inseminadas a tiempo fijo.

Navarrete-Sierra LF, Cruz-Tamayo AA, González-Parra EI, Piña-Aguilar RE, Sangines-García JR, Toledo-López V, et al. (2008) Effect of recombinant growth hormone (rBST) application on superovulatory response and embryo viability in hair ewes. Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia 18: 175-179.

Odde, K. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J Anim Sci 68:817-830.

Pascual, I. (sf). Reproducción animal. Noviembre 24, 2016, de Sitio argentino de producciónanimal.

Pursley, JR., Fricke, PM., Garverick, HA., Kesler, DJ., Ottobre, JS., Stevenson, J. S., Wiltbank, MC. (2001). Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA; 63.

Pursley, JR., Mee, MO., Wiltbank, MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. Theriogenology 44, 915-923.

Ramírez, L., (2006) a. El hipotálamo de los mamíferos domésticos. Universidad de Los Andes –Trujillo. Venezuela. Mundo Pecuario, Vol. II, N° 1, 16-17.

Ramírez, L. (2006) b. Hormonas hipofisarias del bovino, (Universidad de Los Andes-

Trujillo). Venezuela. Mundo Pecuario, Vol. II, N° 1, 18-19.

Rekawiecki, R., Kowalik, M., Slonina, D., Kotwica, J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum: *Journal Of Physiology and Pharmacology*, 59,Suppl 9, 75-89.

Rippe, CA. (2009). Ciclo Estral. The Dairy Cattle Reproduction Council does not support one product over another and any mention herein is meant as an example not an endorsement. Servicios Técnicos, ABS Global Inc.

Ribeiro ES, Bruno RGS, Farias AM, Hernández-Rivera JA, Gomes GC, Surjus R, et al. (2014) Low doses of bovine somatotropin enhance conceptus development and fertility in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction* 90: 1-1

Romo García, S., (15 de febrero de 2016). Recomendaciones prácticas para el uso de semen y embriones sexados.

Rose, M. (2002). The somatotropic axis of the dairy cow revisited. *Animal Science Journal*, 73(1),13–19.

Rojas Román, C., (2017). Efecto de la progesterona parenteral aplicada en el día 3 post inseminación artificial a tiempo fijo sobre la fertilidad de vacas de carne [Tesis de maestría, Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional.

Rutlant, J., Lopez-Gatius, F., Camon, J., López Plana, C., and M, Lopez (1997). A scanning electron microscope study of the structural component of the bovine vaginal fluid at oestrus *J. Vet. Med* A44, 237-241.

Ruiz Arboleda, J., Uribe Velásquez, L. y Osorio, J. (2011). Factor de crecimiento semejante a insulina tipo 1 (IGF-1) en la reproducción de la hembra bovina. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

inseminación artificial convencional, en tres fincas del departamento de Nariño. (Tesis de maestría, Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias).

Vizcarra, JA., Wettemann, RP., Braden, TD., Turzillo, AM and Tm, Nett (1997). Effect of gonadotropin- releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropinsubunits in cows endocrinology 138: 594-601.

Williams, G., Gasai, O., Guzman, G., & Stanko, R. (1996, abril). Machanisms regulating suckling mediated anovulation in the cow. Animal Reproducción

Wiltbank, MC. (1994). Cell types and hormonal mechanims associated with Mid- cycle cospus luteum function.

Zarco L, Mejía O, Palma-Irizarryb M, Rosasd J, Madrid-Marinac V, Valenciad MJ (2012) Administration of recom- binant bovine somatotropin (rBST) at the time of breeding in super ovulated fertile and subfertile ewes.

Zheng, J., Fricke, PM., Reynolds, LP., and DA, Redmer (1994). Evaluation of growth proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle Biol Repro 51, 623-632.

ANEXOS

ANEXO A. Chequeo ginecológico mediante ecografía



ANEXO B. Materiales y equipos



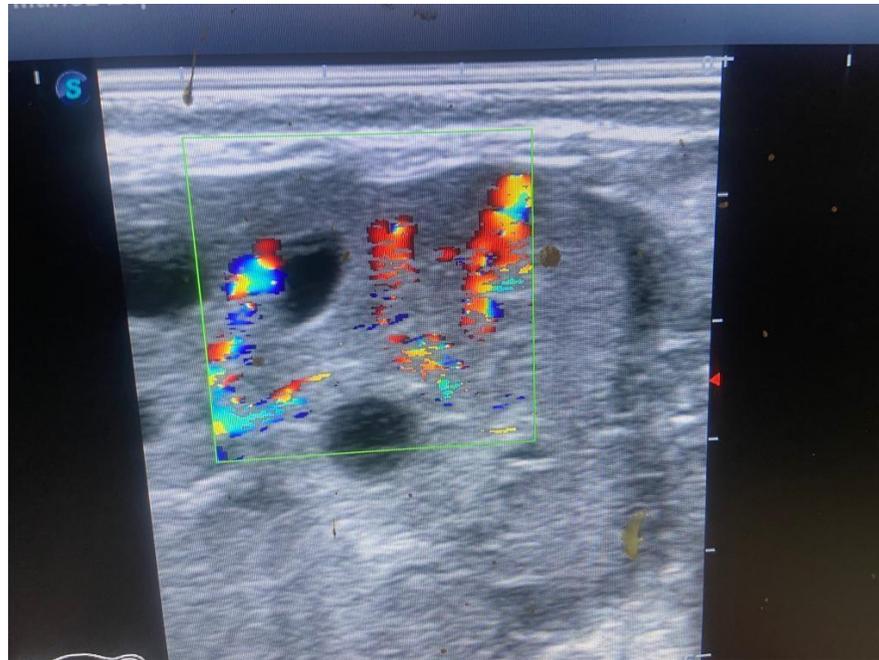
ANEXO C. Inseminación artificial



ANEXO D. Ecografía realizada en campo



ANEXO E. Ecografía de las hembras tratadas



ANEXO F. Lavado y recolección de embriones



ANEXO G. Análisis y observación de estructuras en el microscopio

