



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

**Efecto de la aplicación de GNRH al día 12, 14, 16, 18 y 20 post
inseminación en vacas Holstein mestizas**

CARLOS ALBERTO BUSTOS MARCIAL

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

Septiembre 2022

©2022, Carlos Alberto Bustos Marcial

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

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, titulado **Efecto de la aplicación de GnRH al día 12, 14, 16, 18 y 20 post inseminación en vacas Holstein mestizas**, de responsabilidad del señor **CARLOS ALBERTO BUSTOS MARCIAL**, ha sido prolijamente revisado y se autoriza su presentación.

Ing. Maritza Lucía Vaca Cárdenas; Mag.

PRESIDENTE

Dr. Hermógenes René Chamba Ochoa; Mag.

DIRECTOR

MVZ. Luis Agustín Condolo Ortiz; Mag.

MIEMBRO

Dr. Marco Antonio Rosero Peñaherrera; Mag.

MIEMBRO



Firmado electrónicamente por:
**MARITZA LUCIA
VACA CARDENAS**



Firmado por

**HERMOGENES RENE CHAMBA
OCHOA**



Firmado electrónicamente por:
**LUIS AGUSTIN
CONDOLO ORTIZ**



Firmado electrónicamente por:
**MARCO ANTONIO
ROSERO
PENAHERRERA**

Riobamba, septiembre 2022

DERECHOS INTELECTUALES

Yo, Carlos Alberto Bustos Marcial, declaro que soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este **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.



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS ALBERTO
BUSTOS MARCIAL**

CARLOS ALBERTO BUSTOS MARCIAL

C.I. 180294064-1

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Carlos Alberto Bustos Marcial, declaro que el presente **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, es de mi autoría y que los resultados del mismo proyecto son auténticos y originales los textos constan en el documento que provienen de otra fuente estandar debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Proyecto de Investigación de Maestría.



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS ALBERTO
BUSTOS MARCIAL**

CARLOS ALBERTO BUSTOS MARCIAL

C.I. 180294064-1

DEDICATORIA

A Dios.

Por haberme dado sus infinitas bendiciones y estar presente en todos los momentos de mi vida y así poder disfrutar, de mi familia y estudios, guiándome por el camino del bien.

A mis padres Graciela y Humberto (++)

Por haberme impulsado en todo instante, por sus ejemplos de perseverancia, para vencer obstáculos y cumplir las metas que me he propuesto.

A mis hijos Estuardo y Guadalupe

Por ser el motor principal de mi esfuerzo, y de mis sueños.

A mi esposa Anita

Con profundo cariño y amor dedico esta investigación a mi esposa por ser pilar fundamental con el apoyo moral y además por aportar con sus conocimientos para el desarrollo de la presente investigación.

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, al Instituto de Posgrado y Educación Continua por permitirme realizar mi maestría y aceptarme como estudiante de posgrado.

Al MVZ. Luis Freire por aceptar para realización de la tesis en la hacienda de su propiedad.

Al Dr. René Chamba por admitir ejecutar mi Tesis bajo su dirección, por brindarme su confianza, sus enseñanzas, por sus aportes valiosos e importantes para el desarrollo de la presente investigación.

Al MVZ. Luis Condolo y al Dr. Marco Rosero por sus apreciables aportaciones, enseñanzas, acompañamiento durante la toma de datos en campo y en el desarrollo de esta investigación, sin duda alguna son de gran importancia para mi crecimiento profesional.

A ustedes, mi agradecimiento, ya que fueron pilares primordiales para el desarrollo de esta investigación, darle gracias por educar con excelencia y creer en la educación la misma que representa el desarrollo de la sociedad.

Carlos

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del Problema	1
1.2. Formulación del problema	1
1.3. Justificación de la Investigación	1
1.4. Objetivos de la Investigación.....	2
1.4.1. <i>Objetivo General</i>	2
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i>	2
1.5. Hipótesis	2

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Antecedentes.....	3
2.2 Bases teóricas	4
2.2.1 <i>Fisiología del ciclo estral</i>	4
2.2.2 <i>Dinámica folicular</i>	5
2.2.3 <i>Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas</i>	6
2.2.4 <i>Hormonas en reproducción bovina</i>	7
2.2.5 <i>La progesterona en el desarrollo temprano del embrión</i>	8
2.2.6 <i>Regulación de la progesterona síntesis y acción en el cuerpo lúteo bovino</i>	9
2.2.7 <i>Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo</i>	9
2.2.8 <i>Regresión lúteal</i>	10
2.2.9 <i>Tratamientos hormonales para mejorar la fertilidad</i>	10
2.2.10 <i>Factores que afectan a la fertilidad</i>	14
2.2.11 <i>Diagnóstico de la preñez</i>	17
2.3 Marco conceptual.....	18

CAPÍTULO III

3.	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	20
3.1	Identificación de variables	20
3.1.1	<i>Variable Independiente</i>	20
3.1.2	<i>Variables dependientes</i>	20
3.2	Cuadro de operacionalización de variables	21
3.4	Metodología	23
3.5	Diseño de Investigación	23
3.6	Métodos de investigación	24
3.7	Enfoque de la Investigación	25
3.8	Alcance de investigación	25
3.9	Población de estudio	25
3.10	Unidad de análisis	25
3.11	Selección de la muestra	25
3.12	Tamaño de la muestra	26
3.13	Técnicas de recolección de datos primarios	27
3.14	Instrumentos de recolección de datos primarios y secundarios	27
3.15	Instrumentos para procesar datos recopilados	27

CAPÍTULO IV

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1	Efectividad de la aplicación de GnRH post inseminación artificial sobre el índice deconcepción en vacas lecheras	30
4.2	Efecto de la aplicación de GnRH a diferentes días post inseminación en los nivelesde progesterona en sangre en vacas Holstein mestizas	33
4.3	Viabilidad embrionaria a los 45 días post inseminación	35

CONCLUSIONES	38
---------------------------	----

RECOMENDACIONES	39
------------------------------	----

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3:	El esquema de la tabla ADEVA para el diseño completamente al azar utilizado en la investigación:	24
Tabla 2-3:	Tratamientos objeto de estudio en la investigación experimental.....	24
Tabla 3-3:	Detalles de cada grupo conformado (aplicación de GnRH a diferentes días después de la inseminación artificial) para el desarrollo de la investigación.....	28
Tabla 1-4:	Tabla cruzada que asocia a la utilización o no de la Hormona GnRH con la concepción o no de la vaca reproductora a los 28 días.....	30
Tabla 2-4:	Prueba Chi cuadrado que muestra la asociación entre la aplicación o no de Hormona GnRH con la variable concepción o preñez (sí o no) de la vaca a los 28 días.	31
Tabla 3-4:	Estadísticos descriptivos de los niveles plasmáticos de Progesterona en función de los diferentes días post inseminación.	33
Tabla 4-4:	Análisis de varianza (ADEVA) para los niveles de progesterona en sangre en vacas posparto.	34
Tabla 5-4:	Tabulación cruzada que muestra las frecuencias de la viabilidad embrionaria a los 45 días (%) en los grupos de vacas con y sin GnRH.	36
Tabla 6-4:	Prueba de Chi cuadrado que muestra la asociación entre Aplicación de Hormona GnRH con la viabilidad embrionaria a los 45 días (%).	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-3: Ubicación geográfica del cantón Tisaleo.	23
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-4:	Influencia de la aplicación de hormona GnRH en la concepción o preñez de vacas reproductoras a los 28 días post inseminación.....	31
Gráfico 2-4:	Influencia de la aplicación de Hormona GnRH en la concepción o preñez de vacas reproductoras a los 28 días post inseminación.	32
Gráfico 3-4:	Influencia de la aplicación de Hormona GnRH a diferentes días post inseminación en los niveles de progesterona de vacas Holstein mestizas.	35
Gráfico 4-4:	Viabilidad embrionaria (presencia o ausencia) de vacas mestizas a los 45 días post inseminación artificial.	37

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** APLICACIÓN DE ACETATO DE BUSERELINA 0.00042 MG. A UNIDADES DE ESTUDIO.
- ANEXO B:** RESULTADOS DEL MUESTREO REALIZADO EN LABORATORIO SOBRE LOS NIVELES DE PROGESTERONA.
- ANEXO C:** ECOGRAFÍA VIABILIDAD EMBRIONARIA

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de un análogo sintético de GnRH, post inseminación artificial en vacas Holstein mestizas; utilizándose 30 unidades experimentales, distribuidas en 6 grupos. La dosis hormonal fue de 0.0105 mg de acetato de Buserelina, aplicados intramuscularmente los días 12, 14, 16, 18 y 20, post inseminación, exceptuándose al grupo testigo; se extrajeron muestras por venopunción para posterior determinación de niveles plasmáticos de progesterona. Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SPSS versión de prueba 22 para Windows: En el ANOVA de un factor intersujetos la variable niveles de progesterona en plasma presentó un p-valor =0,049, pues existen diferencias significativas entre grupos que recibieron GnRH con una media de 19,18 ng/ml en comparación con el Grupo testigo (7,00 ng/ml). Para la variable índice de concepción se aplicó la prueba de Chi Cuadrado, determinándose diferencias estadísticas significativas, siendo la tasa de fertilidad del 88% para las unidades experimentales que recibieron GnRH postinseminación, y 60 % para las vacas del grupo testigo. Para la variable viabilidad embrionaria, se realizó chequeos ecográficos al día 45, se evidencian diferencias estadísticas significativas p-valor =0,001 con 88% para el grupo que recibió tratamiento Vs. 20 % para el grupo testigo. La aplicación de GnRH al día 14 post inseminación en vacas Holstein mestizas influyó de forma considerable en la obtención del 100% de viabilidad embrionaria determinada mediante chequeo ecográfico a los 45 días; asumiendo esta información como referencial para sugerir su aplicación como instrumento de mejoramiento de índices de concepción y viabilidad embrionaria.

Palabras clave: <HORMONA>, <POST INSEMINACIÓN>, <PROGESTERONA>, <CONCEPCIÓN>, <PREÑEZ>, <VIABILIDAD EMBRIONARIA>.



0110-DBRA-UPT-IPEC-2022

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the effect of a synthetic GnRH analog, post artificial insemination in crossbred Holstein cows; using 30 experimental units, distributed in 6 groups. The hormonal dose was 0.0105 mg of Buserelin acetate, applied intramuscularly on days 12, 14, 16, 18 and 20, post insemination, except for the control group; samples were extracted by venipuncture for subsequent determination of plasma progesterone levels. For the analysis of the results, the statistical program SPSS test version 22 for Windows was used: In the ANOVA of one inter-subject factor the variable plasma progesterone levels presented a p-value = 0.049, as there are significant differences between groups that received GnRH with a mean of 19.18 ng/ml compared to the control group (7.00 ng/ml). For the conception rate variable, the Chi-square test was applied, determining significant statistical differences, with a fertility rate of 88% for the experimental units that received GnRH post insemination, and 60% for the cows of the control group. For the embryo viability variable, ultrasound checks were performed at day 45, showing significant statistical differences p-value = 0.001 with 88% for the group that received treatment vs. 20% for the control group. The application of GnRH at day 14 post insemination in crossbred Holstein cows had a considerable influence in obtaining 100% embryo viability determined by ultrasound check at 45 days; assuming this information as a reference to suggest its application as an instrument to improve conception rates and embryo viability.

Keywords: <HORMONE>, <POST INSEMINATION>, <PROGESTERONE>, <CONCEPTION>, <PREGNANCY>, <EMBRYO VIABILITY>.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del Problema

En la actualidad las explotaciones ganaderas utilizan la inseminación artificial combinada con la utilización de hormonas, con la finalidad de mejorar el porcentaje de preñez de sus hatos; sin embargo, los resultados alcanzados no han llegado a satisfacer las expectativas generadas, ya que solo se ha cubierto en un 50% la efectividad en relación a la preñez, por lo que, es necesario buscar nuevas alternativas que permitan incrementar el porcentaje de preñez en vacas productoras de leche.

Por ello, a partir de un manejo adecuado del hato ganadero y la aplicación de GnRH en días posteriores a la inseminación artificial se necesita conocer con precisión cuál es el tiempo en que se obtiene el mayor índice de preñez luego de la aplicación de la hormona y la obtención de una mayor eficacia reproductiva, lo que permitirá una mayor producción y una buena rentabilidad.

1.2. Formulación del problema

En la provincia de Tungurahua, Ecuador no se han desarrollado estudios relacionados con la eficacia del empleo de la hormona GnRH post inseminación relacionada con el índice de concepción y la viabilidad fetal en vacas Holstein mestizas.

De todo lo anterior surge el siguiente problema de investigación

¿La aplicación de GnRH a los 12, 14, 16, 18 y 20 días posteriores a la inseminación en vacas Holstein mestizas mejorará el porcentaje de concepción y viabilidad embrionaria en vacas Holstein Mestizas?

1.3. Justificación de la Investigación

La importancia de la investigación radica en medir el desempeño reproductivo de vacas lecheras, con la aplicación de GnRH a diferentes días posterior a la inseminación ya que estimula la liberación de pulsos de la hormona luteinizante (LH) inducidos por la GnRH, que es la responsable de la ovulación. Se ha observado también que un incremento del nivel sérico de los

estrógenos precede la elevación pre ovulatoria de la LH por alrededor de 18 horas.

Por todo lo descrito anteriormente, surge la idea de investigación relacionada con el conocimiento de la influencia hormonal en el índice de concepción, la viabilidad embrionaria en vacas lecheras bajo un sistema de alimentación a base de pastos en el hato de la hacienda Alejandrina ubicada en el Cantón Tisaleo provincia de Tungurahua, así como, la contribución de los productores lecheros de la zona, al generar elementos técnicos que permiten mejorar el manejo de las ganaderías.

1.4. Objetivos de la Investigación.

1.4.1. Objetivo General

Evidenciar el efecto de la aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a los 12, 14, 16, 18 y 20 días post inseminación artificial en vacas Holstein mestizas.

1.4.2. Objetivos específicos

Determinar la efectividad de la aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a diferentes días post inseminación artificial sobre el índice de concepción en vacas Holstein mestizas.

Evaluar la viabilidad embrionaria de vacas Holstein mestizas a los 45 días post inseminación.

Evidenciar el efecto de los niveles de concentración de GnRH a diferentes días post inseminación en los niveles de progesterona en sangre en reproductoras.

1.5. Hipótesis

Hipótesis nula (H₀): La aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH a diferentes días post inseminación artificial no afecta la sobrevivencia embrionaria y el índice de concepción de vacas Holstein mestizas.

Hipótesis alterna o del investigador (H₁): La aplicación de la hormona liberadora de gonadotropinas GnRH a diferentes días post inseminación artificial incide positivamente en la sobrevivencia embrionaria y el índice de concepción de vacas Holstein mestizas.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

La situación actual de las ganaderías se caracteriza por la disminución de la rentabilidad de la producción, sin embargo, constituye un factor de gran importancia y una fuente de ingresos estables, pero para encontrar réditos el incremento de la producción debe realizarse mediante la utilización de técnicas reproductivas.

Aunque existen diversos métodos para mejorar la detección de celo, la sincronización de ovulaciones e inseminación artificial sistemática de animales sin detectar celos, se ha convertido en una alternativa viable y de fácil implementación, con la que se puede alcanzar una fertilidad del 35 al 40% (Giraldo, 2008).

Una de la problemática actual en la vocación ganadera es la fertilización de los animales, en especial en las vacas repetidoras debido a que aparentemente se encuentran sanas, pasan desapercibido al examen ginecológico del Médico Veterinario, ha tenido un parto como mínimo en la vida y que después de tres inseminaciones o montas sucesivas, con ciclos estrales de duración normal con buen funcionamiento reproductivo, no queda preñada (Lesmes, 2014).

Es por ello, que se requiere la aplicación de hormonas en vacas repetidoras implementando nuevas prácticas tecnológicas en las fincas ganaderas y de esta manera beneficiar económicamente al ganadero con un mejor desarrollo y avance para una mayor productividad.

Sin embargo, es importante realizar la investigación debido a que permite conocer el porcentaje de preñez en vacas repetidoras utilizando hormonas para posteriormente realizar la inseminación artificial; según Raso (2012) de forma histórica la proporción de hembras inseminadas en el país no supera el 4% del rodeo nacional, sin embargo, con la aparición de técnicas de inseminación a tiempo fijo la utilización ha aumentado, estimándose que hoy alcanza entre el 7-8%.

La importancia radica en mantener la productividad de las vacas mediante las diferentes técnicas de inseminación, en la que será de gran utilidad para que los ganaderos incrementen la productividad en las vacas.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Fisiología del ciclo estral

El ciclo estral representa el patrón cíclico de la actividad ovárica que facilita a las reproductoras pasar de un período no reproductivo (receptividad) a un periodo no receptividad (gestación) y el comienzo se produce en el momento de la pubertad, cuando las novillas tienen entre 6 y 12 meses de edad y generalmente entre 200-250 kg de peso. La duración normal de un ciclo estral en la hembra bovina es de 19 – 23 días, con 21 días de promedio (Hernández, 2016); y consta de la fase lútea (entre 14 y 18 días) período durante el cual se forma el cuerpo lúteo proveniente de la ovulación del ciclo ocurrido anteriormente, a menudo designado como metaestro y diestro y la fase folicular (entre 4 y 6 días) que es el período posterior la desaparición del cuerpo lúteo (luteólisis) hasta la ovulación designada comúnmente como más proestro y estro y donde ocurre la maduración final y la ovulación del folículo ovulatorio, y posteriormente el ovocito es liberado permitiendo la fertilización (Matamoros & Salinas, 2017).

El ciclo estral bovino se puede dividir en dos fases: fase lútea (metaestro y diestro) y fase folicular (proestro, estro) (Carvajal & Martínez, 2020; Matamoros & Salinas, 2017).

Estro

Etapa en la que la reproductora acepta la cópula o la monta; y es provocada por el incremento de forma significativa de las concentraciones de estradiol, el cual es producido por el folículo preovulatorio y por la ausencia de un cuerpo lúteo. La duración de la etapa se encuentra entre 8 y 18 horas (Colazo & Mapletoft, 2014).

Metaestro

Es la etapa posterior al estro, con una duración entre cuatro y cinco días, en la misma ocurre la ovulación y el desarrollo del cuerpo lúteo. Después de ocurrida la ovulación se presenta una depresión en el lugar ocupado por el folículo ovulatorio (denominada depresión ovulatoria) y posteriormente se desarrolla el cuerpo hemorrágico (cuerpo lúteo en proceso de formación). En esta etapa las concentraciones de progesterona se incrementan hasta alcanzar niveles mayores de 1 ng/ml, momento a partir del cual se considera que el cuerpo lúteo alcanza a su madurez. Cuando las concentraciones de progesterona son mayores a 1 ng/ml se utiliza como criterio fisiológico para la determinación del final del metaestro y el inicio del diestro; evento hormonal

que consiste en la presentación del pico post ovulatorio de FSH, que permite el desencadenamiento de la primera oleada del desarrollo folicular, sin embargo, algunas vacas reproductoras presentan un sangrado conocido como sangrado metaestral (Colazo & Mapletoft, 2014).

Diestro

Es la etapa de mayor duración del ciclo estral (entre 14 y 18 días), donde el cuerpo lúteo mantiene su plena funcionalidad, generándose concentraciones sanguíneas de progesterona superiores a 1 ng/ml. En esta etapa, es posible encontrar folículos de diferentes tamaños generados por oleadas foliculares. Después de este periodo de tiempo de exposición a progesterona, el endometrio inicia la secreción de PGF2 α , como un patrón pulsátil, evento que concluye con la vida del cuerpo lúteo y con el diestro. Cuando el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad (momento en el cual las concentraciones de progesterona se encuentran por debajo de 1 ng/ml), concluye el diestro y comienza inmediatamente el proestro. Durante la etapa es secretada con frecuencia muy baja la LH, por su parte, la FSH presenta incrementos responsables de las oleadas foliculares (Carvajal & Martínez, 2020; Colazo & Mapletoft, 2014; Hernández, 2016).

Proestro

Se identifica por la ausencia de un cuerpo lúteo funcional y presenta el desarrollo y maduración del folículo ovulatorio, el cual muestra una duración entre 2 y 3 días. En esta etapa se incrementa la frecuencia de los pulsos de secreción de LH, los cuales conducen a la maduración final del folículo ovulatorio y al aumento de estradiol sérico, condiciones que conducen al comienzo del estró (Colazo & Mapletoft, 2014).

2.2.2 Dinámica folicular

Se define como el proceso de crecimiento y desarrollo de folículos antrales producidos de forma continua y que conducen al desarrollo del folículo pre - ovulatorio. Cada onda de desarrollo folicular involucra las fases sucesivas de reclutamiento, el folículo seleccionado para ovular madura con la ocurrencia de la descarga preovulatoria de gonadotropinas y posteriormente la dominancia (Bo, 2014).

Reclutamiento: Las ondas foliculares son precedidas de un pequeño pico de FSH, el conjunto de folículos que crecen como cohorte contienen receptores específicos para FSH y dicho crecimiento

se encuentra condicionado por la hormona gonadotropina. En esta etapa, los folículos en crecimiento no disponen de un número suficiente de receptores de LH encargados de la respuesta a una estimulación de tipo LH, por ello, esta fase del crecimiento recibe el nombre de FSH dependiente (Sagbay, 2012).

Selección: Es el proceso mediante el cual uno o varios folículos son elegidos para ser dominantes, alcanza un diámetro marcadamente superior a los demás folículos, evitan la atresia y adquiere el potencial para llegar a ovular, mientras los demás folículos de esa cohorte se vuelven atrésicos, por la interferencia del folículo más grande sobre la capacidad de crecimiento de los folículos más pequeños de recibir un adecuado soporte gonadotrópico. El folículo seleccionado es aquel que adquiere, primero que el resto, un número mayor de receptores para LH que posibilitan un continuo crecimiento en el entorno con niveles crecientes de LH y decrecientes de FSH (Filipiak et al., 2016).

Dominancia: Tras su selección, el crecimiento, la actividad estrogénica y el plazo de vida de un folículo dominante son controlados por el patrón de pulsos de la LH. De este modo, cualquier cambio que se produzca en el patrón de secreción de la GnRH y, por tanto, de la LH, tendrá un marcado efecto sobre el crecimiento continuo del folículo dominante y su ovulación. En la actualidad se conoce que el incremento de la frecuencia de pulsaciones de LH ocurridos posteriormente a los tratamientos con progestágenos, prolongarán el periodo de dominancia de este folículo entre 2 y 7 días hasta más de 14 días, lo que produce una afectación a la fertilidad del ovocito (Chalacán, 2015).

2.2.3 Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas

La regulación fisiológica de la reproducción de los mamíferos se produce a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Segner et al., 2017); eje que es el componente hormonal de un sistema de intercomunicación neural y endocrina la función primordial es regular la fertilidad (Kaprra y Huhtaniemi, 2018), y que se encuentra bajo el control del sistema nervioso central (Fink, 2015). El eje neuroendocrino hipotálamo-hipófisis-gónadas integra información de señales extrínsecas e intrínsecas para asignar energía y nutrientes a la reproducción, ya sea para sincronizar eventos relacionados con ésta, la diferenciación sexual, el tiempo de maduración y la secreción de hormonas sexuales (Jin y Yang, 2014; Segner et al., 2017). Es el responsable, tanto en la hembra como en el macho, del control de los procesos reproductivos (Montaño y Cortés, 2016), cumpliendo con funciones primordiales: esteroidogénesis y gametogénesis. En la reproducción, la regulación neuroendocrina establece que el eje hipotálamo-hipófisis gónadas inicia con la secreción pulsátil de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Gómez et al., 2014). En las últimas dos décadas

se han identificado a las kisspeptinas y a los péptidos RFamida (RFRP) como los neuropéptidos que actúan como reguladores esenciales en el control de la secreción de GnRH, con un efecto estimulante e inhibitorio, respectivamente (Hu et al., 2019).

En el caso de la kisspeptina, evidencias en animales sugieren que actúa directamente sobre las neuronas de GnRH y estimula su liberación después de la interacción con su receptor, provocando una estimulación aún mayor de los gonadotrofos en la glándula pituitaria para secretar FSH y LH a la circulación periférica (Pinilla et al., 2012; Skorupskaite et al., 2014; Zeeshan Javed, 2015).

La hipófisis está formada por dos porciones: adenohipófisis y neurohipófisis; la adenohipófisis se encarga de la producción de gonadotropinas, entre otras hormonas, así como de su liberación al torrente circulatorio para que actúen sobre el ovario; su función depende de la GnRH que es producida y liberada por el hipotálamo (Andújar et al., 2012). En la neurohipófisis no se sintetiza ninguna hormona, sin embargo, se almacena hormona antidiurética (ADH) y oxitocina (Fernández et al., 2012).

2.2.4 Hormonas en reproducción bovina

Progesterona

La progesterona cuando se combina con los estrógenos (E2) en el inicio de un protocolo, desarrolla un mecanismo de atresia en los folículos antrales (proceso sistémico que implica la eliminación de la FSH) que inhibe el pico de LH; y un folículo en curso de dominancia se atresia debido a las concentraciones plasmáticas de P4, superiores a 2 ng/mL, hasta que es eliminado del dispositivo intravaginal (Graaff et al., 2018).

Principales acciones de la progesterona

Los principales blancos de la progesterona son el aparato reproductor y el eje hipotálamo-hipófisis. Las acciones de la progesterona en el tracto reproductivo se concentran en su preparación para implantar y mantener la preñez. Las altas concentraciones sostenidas de progesterona circulantes, durante la fase lútea media, regulan el receptor de progesterona nuclear en el epitelio luminal del endometrio. Cuando el reconocimiento materno produce la señal de gestación (interferón tau) (día 16 del ciclo estral), significa que no se ha detectado en cantidades suficientes, por lo tanto, la regresión del CL se produce. La PGF es secretada por el útero y es la hormona luteolítica principal en rumiantes (Elvir et al., 2014).

La circulación y concentración de la progesterona se encuentra determinada por un equilibrio entre su producción, el cuerpo lúteo y el metabolismo de P4, procesos que se desarrollan en el hígado, principalmente. Los factores primarios (volumen de tejido lúteo, número y función de células grandes lúteas) garantizan la producción de P4. La tasa de metabolismo se determina por el flujo sanguíneo del hígado y constituye un elemento fundamental en la determinación de las concentraciones circulantes de P4 (Wiltbank et al., 2014); las cuales durante el principio del celo, pueden ser elevadas en el ganado por:

- La inducción de un cuerpo lúteo accesorio, después de la ovulación del folículo dominante de la primera ola, en respuesta a las inyecciones de GnRH y LH.
- Una mayor área de tejido lúteo en respuesta al tratamiento hCG, dos o cinco días después del estro.
- La administración de suplementos de P4 exógeno (Pugliesi et al., 2014).

Durante la fase lútea del ciclo estral, el aumento de las concentraciones de progesterona, provoca una alteración del patrón de la expresión de genes en el útero, los cuales perturban la composición de la histotrofina uterina, interruptor crítico que posibilita el aumento o la disminución sincrónica de genes del endometrio que se requieren para la iniciación de la receptividad uterina (Crowe & Mullen, 2013).

2.2.5 La progesterona en el desarrollo temprano del embrión

El embrión en su crecimiento, a partir del óvulo esférico fecundado, se convierte en feto, y cuando concluye, no sólo aumenta en dimensiones y peso, sino que alcanza varios cambios en la forma. El peso de feto constituye el 70% del peso total de los productos de la gestación. Las velocidades del crecimiento del feto y sus órganos y tejidos componentes varían durante las diferentes etapas de la vida intrauterina. El crecimiento cefálico disminuye en etapas más avanzadas, y en el momento del nacimiento, la cabeza y las extremidades presentan un desarrollo mayor que los músculos. Las velocidades máximas de crecimiento se presentan de forma seriada, primeramente, el sistema nervioso central; y después los huesos y finalmente el músculo y el tejido adiposo (Webster, 2013).

Una vez que se realiza la inseminación artificial, los elevados niveles de P4 tienen una influencia positiva en el desarrollo de los embriones y el incremento de la fertilidad (Wiltbank et al., 2014).

Las concentraciones bajas de P4, circulante entre los días 3 y 8 post - ovulación, se asocian con embriones más pequeños en el día 16, y, en consecuencia, pueden resultar en una dosis baja de

interferón-tau, utilizados para bloquear el proceso luteolítico y mantener la gestación en las reproductoras. El aumento de las concentraciones de P4 dentro de la primera semana después de la concepción se encuentran asociados con una expresión génica alterada en el endometrio que genera alargamiento del conceptus y el aumento de la secreción de interferón-tau (Pugliesi et al., 2014).

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

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria formada por las células secretoras del folículo una vez que se produce la ovulación. La función principal de cuerpo lúteo es la producción de P4, la cual regula diversas funciones de la reproducción, además, juega un papel clave en la regulación de la duración del ciclo estral y en la implantación del blastocisto. El aumento preovulatorio de LH es crucial para la luteinización folicular de células y el mantenimiento del cuerpo lúteo, sin embargo, es menos dependiente de la estimulación de la LH durante la fase lútea temprana. Desde el principio, el cuerpo lúteo requiere el apoyo luteotrópico para su crecimiento y desarrollo, los otros factores apoyan la función de la LH para mantener el desarrollo y funcionamiento del cuerpo lúteo. Se ha comprobado que las prostaglandinas I2 y E2, la oxitocina, noradrenalina y los factores de crecimiento estimulan de manera eficiente la síntesis de P4 en el cuerpo lúteo temprano de los bovinos (Castañeda, (2015).

El cuerpo lúteo en vacas se desarrolla a partir de los componentes del folículo ovulatorio, el cual aloja al ovocito; estructura que permite la formación de pequeñas y grandes células encargadas de formar el cuerpo lúteo que la hormona progesterona (P4), sin embargo, en vacas que no han concebido sufre regresión cuando finaliza el ciclo estral (Cortés-Vidauri et al., 2018). El cuerpo lúteo es una estructura ovárica que produce progesterona, lo cual permite mantener la gestación, y el inicio del crecimiento a partir del tercer día de comenzado el estro creciendo hasta el décimo octavo día (Aréchiga-Flores et al., 2019).

2.2.7 Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo

El primer paso de la esteroidogénesis se produce en la mitocondria. La proteína como máxima responsable del transporte de colesterol desde el exterior al interior de la membrana mitocondrial es la proteína esteroidogénica reguladora aguda (StAR). Esta es sintetizada como una proteína de 37 kDa como precursor y procesado a 30 kDa como proteína madura después de cruzar la membrana mitocondrial. La interacción de StAR con el exterior de la membrana mitocondrial resulta en un cambio conformacional de proteínas y crea una StAR's vinculante al colesterol. El STAR, periféricas y de los receptores de la benzodiazepina, el ligando natural de este receptor

puede encontrarse involucrado en la regulación de la tasa de transporte de colesterol. El mismo autor agrega que la membrana interna mitocondrial se relaciona con el citocromo P450_{scc}, que es el primer componente de la enzima compleja que se une a la cadena de colesterol para formar pregnenolona. Posteriormente, se convierte en pregnenolona por 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/isomerasa (3 β HSD), asociado con el retículo endoplasmático liso. La LH es aceptada como el regulador más importante de la esteroidogénesis lútea, aunque este proceso también está regulado por otros factores luteotrópico (Castañeda, 2015).

Los receptores de membrana de LH se encuentran principalmente en las células lúteas pequeñas. La unión de LH a su receptor, activa al cAMP-dependiente de la activación de la proteína kinasa A (PKA) y aumenta la producción de P4. La cantidad de receptores para LH varía en el curso del ciclo estral, el cual es bajo en los primeros y últimos días del ciclo estral y alto a mediados del ciclo (Castañeda 2015).

2.2.8 Regresión lútea

La regresión del cuerpo lúteo, en animales domésticos de gran tamaño, se inicia debido a la síntesis uterina y liberación de PGF2 α alrededor de los 14 días después de la ovulación, cuyo paso del útero al ovario se produce a través de la transferencia sistémica general, o a través una transferencia contracorriente a nivel local (Cunningham, 2014).

La transportación de la PGF2 α (liberada en una serie de cinco a ocho pulsos, que ocurren a intervalos de 6 a 8 horas y comienzan inmediatamente antes de la regresión lútea) desde el útero hacia el cuerpo lúteo es realizada desde las venas uterinas hacia la arteria ovárica por un mecanismo de contracorriente (Castañeda, 2015).

2.2.9 Tratamientos hormonales para mejorar la fertilidad

a. Progesterona

Se ha demostrado en estudios experimentales que las vacas infértiles tienen una función lútea anormal, lo cual se refleja en concentraciones subnormales de progesterona. El cuerpo lúteo formado luego de la ovulación por la acción de la LH es el encargado de producir progesterona, la misma que prepara al útero para la implantación del embrión y mantiene la gestación. El hipotálamo ejerce un efecto de feed back negativo junto con la inhibina, hormona que es producida por el folículo ovárico e interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH (Orellana, 2015, p. 21).

La secreción de la progesterona comienza antes de la ovulación, desde el folículo destinado a la liberación del óvulo. La progesterona es producida por el ovario bajo la influencia de las hormonas hipotálamo – hipofisiarias (FSH y LH), principalmente por el cuerpo amarillo que presenta durante la segunda mitad del ciclo menstrual y a partir del tercer mes del embarazo por la placenta (Orizaba, Alba, y Ocharán, 2013).

La progesterona natural tiene una vida media muy corta de entre 3 a 4 minutos, por lo cual necesita de utilizar altas dosis. La alternativa es imitar la fase lútea del ciclo, usando progestágenos o análogos de la P4, los cuales requieren dosis menores, sin producir efectos secundarios (Macas, 2017).

b. Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)

Los tratamientos con GnRH son muy utilizados al momento de la inseminación para afrontar insuficiencia en la concepción de las vacas y así, poder mejorar la fertilidad, lo que se fundamenta en el concepto de que estas hormonas se encargan de sincronizar la ovulación con el momento de la inseminación, e influyen en la prevención de ovulación retardada y mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo (Velastegui, 2012).

La secreción de la hormona GnRH se presenta dos formas: La primera forma es la periovulatoria o cíclica y es estimulada por los estrógenos durante el estro. Para la segunda tenemos de forma pulsátil o tónica la cual está regulada por estímulos externos (fotoperiodo, bioestimulación y amamantamiento), y por estímulos internos (metabolitos, hormonas metabólicas y hormonas sexuales) (Hernández, 2016).

La FSH, promueve el crecimiento del grupo folicular y la maduración del folículo pre ovulatorio, los niveles basales de LH actúan en conjunto con la FSH para la selección del folículo dominante e inducir la secreción de estrógeno, el folículo dominante adquiere más receptores de LH en sus células de la granulosa que sus subordinados y es capaz de cambiar su dependencia de FSH a LH. Durante el período de baja FSH, continúa creciendo mientras que los folículos subordinados que requieren FSH sufren regresión. La LH estimula el crecimiento y desarrollo normal de un folículo dominante competente, e induce la ovulación y luteinización del mismo (Fuentes et al., 2019).

Los receptores de FSH en las células de la granulosa del folículo, están presentes y funcionalmente activos durante el desarrollo pre antral y antral temprano del grupo folicular, esto

nos da a entender que la FSH cumple un papel importante desde las primeras etapas del desarrollo folicular, el aumento periódico de las concentraciones de FSH circulantes, son responsables de inducir las emergencias de las ondas foliculares, por lo tanto, las vacas con 2 ondas tienen 2 picos de FSH y las vacas con 3 ondas igualmente 3 picos de FSH. La FSH se suprime desde la adenohipófisis por un feedback negativo, a través de señales que son enviadas por el estradiol y la inhibina producida por el folículo en dominancia de la onda, en ese momento los folículos en crecimiento de la onda posterior sufren atresia (Mapletoft et al., 2019).

Análogos de la hormona GnRH

Los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) tienen la capacidad de unirse con mayor afinidad al receptor de GnRH de manera que producen una supresión hipofisaria tras un crecimiento inicial en la liberación de gonadotropinas. La sustitución de un solo aminoácido de cadena polipeptídica puede cambiar la afinidad y la actividad de la molécula GnRH formando una agonista, mediante las modificaciones de la cadena lateral que interactúa con el sitio de unión del receptor y / o estructural en la conformación del péptido (Ramos y Nolasco, 2016).

Mecanismos de acción de los análogos de la GnRH

El modo de acción de la GnRH se basa en la unión a los receptores en la hipófisis los cuales inducen la liberación de grandes cantidades de hormonas FSH y luteinizante LH (efecto flare-up), y el aumento de receptores de GnRH (up-regulation), sin embargo, después entre 7-14 días de exposición se genera una desensibilización hipofisaria del complejo agonista de GnRH-receptor de GnRH lo que desencadena un descenso del número de receptores de GnRH conocido como down-regulation (Barros, 2014).

Acetato de busarelina.

La busarelina es un fármaco péptido agonista de GnRH, formado por nueve aminoácidos en total (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (tBu) Leu-Arg-Pro-NH-Et; que funciona como hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y constituye un análogo sintético de LHRH (hormona liberadora de gonadotropina [GnRH]). La hormona agonista LHRH (LHRHa) estimula, inicialmente, la liberación de la hormona luteinizante (LH), conocida como gonadotropina, que provocan una elevación transitoria en andrógenos en suero en hombres y estradiol en suero en mujeres (D'Hondt et al., 2014).

Antagonista de la GnRH

Los antagonistas de la GnRH pueden ser competitivos y no competitivos: los primeros se pueden superar mediante el incremento de la dosis del fármaco; por lo tanto, el presenta una acción reversible a nivel del receptor. El efecto de un antagonista no competitivo no puede ser superado completamente, independiente a la dosis, lo que puede deberse a la unión irreversible del antagonista con el receptor (aunque el agonista no se une) que impide el inicio del efecto. La actuación de los antagonistas de la GnRH se centra en bloquear el receptor de GnRH, producir una supresión rápida y profunda; y evitar el efecto flare-up (Blasco et al., 2011); además compiten de forma directa por el receptor de la GnRH, y ocasionan una inmediata y profunda supresión de la secreción de gonadotropinas.

Los antagonistas de la GnRH tienen ventajas potenciales sobre los agonistas. La duración del tratamiento asignado con un antagonista es más corta que con un agonista. El tratamiento con antagonistas (su finalidad es prevenir un pico prematuro de LH endógena) puede posponerse hasta un momento más avanzado del desarrollo folicular (después de 5-7 días de estimulación con gonadotropinas). El principal efecto de las gonadotropinas es promover la gametogénesis o, en su defecto, la producción de esferoides sexuales (Barzallo, 2013).

Prostaglandina F2 α (PGF2 α)

Es un agente luteolítico natural que finaliza la fase lútea (cuerpo amarillo del ciclo estral y además permite el inicio de un nuevo ciclo estral en ausencia de una concepción. La cantidad de PG en los folículos en el ovario aumentan a medida que estos maduran, la PGF2 α produce unas contracciones en la musculatura lisa del útero y también provoca la apertura del cuello del útero. Es la encargada de regular la duración del cuerpo lúteo, pues se considera que induce la luteólisis del mismo (Brito, 2013).

La PGF2 α se ha utilizado durante varios años para la inducción electiva de regresión lútea, ya que su administración durante la etapa media del ciclo estral causa luteólisis en el ganado. Recientemente, se ha estudiado la dinámica de las ondas foliculares y se han diseñado protocolos para inducir la emergencia de estas, así como de la ovulación, e incluso se ha eliminado la necesidad de detectar el estro (Jonczyk et al., 2019). El cuerpo lúteo recién formado es resistente a la luteólisis inducida por PGF2 α exógena hasta el día 5 del ciclo estral. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a estos efectos diferenciales de PGF2 α todavía no se comprenden completamente (Mapletoft et al., 2019).

Estradiol

Los principales estrógenos en los mamíferos son 17β -estradiol, estrona, estriol. Se producen en los folículos ováricos y en la placenta. Actúan sobre el SNC para inducir el comportamiento estral en la hembra; sin embargo, en algunas especies como la vaca y la oveja se necesitan pequeñas cantidades de progesterona con estrógenos para inducir el estro. Además, podemos mencionar que ejerce un efecto en el útero para aumentar la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y la $PGF2\alpha$ (Brito, 2013).

Los estrógenos, son responsables del control de las funciones del sistema reproductivo, así como del desarrollo de características sexuales secundarias que aparecen durante la pubertad y la madurez sexual. El estradiol, es secretado principalmente por las células de la granulosa de los folículos ováricos (Fuentes et al., 2019).

2.2.10 Factores que afectan a la fertilidad

La baja fertilidad es un problema preocupante para los ganaderos, investigadores y profesionales que están relacionados con la ganadería, las principales causas que pueden disminuir la fertilidad en vacas lecheras se agrupan de la siguiente forma:

a) Zona de confort de temperatura

La temperatura ideal para las vacas lecheras se encuentra entre 5° y 25° C; si sobrepasan los 25° C pueden interferir en la fisiología del organismo y en el desempeño reproductivo. El efecto del estrés calórico en el sistema metabólico llega a influenciar en el desempeño reproductivo de vacas lecheras, debido a que los animales disminuyen la ingesta voluntaria de alimento, condición que desencadena problemas de balance energético negativo postparto. Los mismos autores encontraron que temperaturas ambientales superiores a los 20° C disminuyen de forma marcada la tasa de concepción. La disminución de la ingesta de materia seca (MS), contribuye a disminuir las concentraciones en sangre de hormonas metabólicas y factores de crecimiento, que repercuten el desarrollo normal del folículo y calidad del ovocito (De Rensis et al., 2017).

b) Detección de celo

El factor humano es un elemento que puede intervenir en el desempeño reproductivo, al no observar con regularidad y exactitud, la cantidad de vacas que entran al celo y que se encuentran efectivamente en el estro, por lo tanto, regularmente se inseminan vacas que no se encuentran

encelo, lo que altera la eficiencia en una explotación ganadera (Martini, 2016).

c) Balance energético negativo (BEN)

El BEN es un evento que se produce durante el período de transición debido a la reducida ingesta de materia seca y un incremento en la demanda de energía para la producción láctea de la vaca. La mayoría de las vacas de alta producción se encuentran en BEN en el primer mes de lactación, lo cual, significa que la cantidad de energía que se necesita para producir leche y para el mantenimiento de la vaca es mayor que la cantidad de energía contenida en la ración que la vaca es capaz de consumir. Por ello, para apoyar la producción láctea y su mantenimiento, debe utilizar sus reservas corporales (Goff, 2015; McArt et al., 2018).

La ingesta de materia seca se normaliza entre las 8 y 10 semanas después del parto, debiendo movilizar tejido adiposo y liberar ácidos grasos, con el consecuente incremento en las concentraciones séricas de estos ácidos y la formación de cuerpos cetónicos tales como el β -hidroxibutirato, acetoacetato y acetona (Constable et al., 2017). En este período, el hígado desempeña un papel importante, ya que capta los ácidos grasos circulantes en el torrente sanguíneo y los oxida para producir energía en el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), así como, a través de la síntesis de cuerpos cetónicos como una fuente alternativa de energía para el músculo y el sistema nervioso central (SNC); además, de la formación de triglicéridos que se almacenan en el hígado. Por otro lado, cuando la acumulación de triglicéridos es excesiva, se produce el hígado graso (Goff, 2015).

d) Enfermedades Posparto

En el estudio desarrollado por Ribeiro et al., (2016), se menciona que las enfermedades posparto se presentan con frecuencia en los hatos ganaderos y afectan de forma importante al desarrollo y eficiencia reproductiva en vacas lecheras. En la investigación se encontró que una enfermedad inflamatoria antes del servicio disminuye la fertilización de los ovocitos, impide la elongación del conceptus y secreción de IFN-tau en la luz del endometrio. Las enfermedades postparto se relacionan con la eficiencia productiva y reproductiva de los hatos lecheros, debido al incremento del período parto – primer servicio, parto – concepción, intervalo entre partos, e incremento de vacas sacrificadas por el Síndrome de Vaca Repetidora (SVR).

Vallejo et al. (2017), reportaron que las principales afecciones clínicas durante el período posparto se presentan mayormente a los 15 días posteriores, por lo que, se le considera un período de mayor riesgo y donde se debe poner más énfasis. Las patologías más frecuentes se encontraron en dicho

estudio fueron: neumonía, mastitis, metritis, retención placentaria, cardiopatías y cojeras; las cuales incrementan los días abiertos, por lo que se puede predecir la causa temprana de la ineficiencia reproductiva.

Beñaldo (2018), observó que en vacas multíparas que atravesaron por enfermedades postparto del tracto reproductor, tuvieron una mayor tendencia de no quedar gestantes a los 200 días de lactación.

e) Disfunciones Ováricas

Las disfunciones ováricas se encuentran presentes de forma regular durante los primeros días posteriores al parto, presentándose varios factores que pueden causar su aparición, entre ellos, se encuentran los genéticos, fenotípicos y ambientales. Sin embargo, se acepta la hipótesis en la que se menciona que el desarrollo de un quiste se debe a una alteración de la LH liberada por la hipófisis. Los quistes ováricos pueden desencadenarse por una ausencia del pico preovulatorio de LH, o a su vez la presencia del pico ocurre en un momento no indicado para el folículo (poca afinidad de los receptores del folículo) (Fitsum, 2017).

f) Pérdidas Embrionarias

La mortalidad embrionaria es considerada la principal causa responsable por el aumento en el intervalo entre partos en los bovinos, ocurriendo la mayoría de las muertes embrionarias durante el periodo embrionario de la gestación (< 45 d) tanto en bovinos de carne como de leche, y conforme la mayoría de las muertes embrionarias ocurre en los primeros días después de la fecundación y durante el proceso de implantación. Varios factores que pueden estar involucrados con la falla en la fecundación o mortalidad embrionaria/fetal en bovinos. Problemas de fecundación o abortos pueden ser causados por enfermedades infecciosas, o infecciones localizadas y restrictas a órganos específicos tales como útero, o glándula mamaria. Causas no infecciosas, sin embargo, probablemente contribuye para la mayoría de las pérdidas. Algunas de esas causas son anomalías cromosómicas, factores externos (por ejemplo, estrés, productos tóxicos, teratogénicos o abortivos y nutrición) y factores maternos (por ejemplo, desequilibrio hormonal, lactación y edad) (Sartori, 2011).

Inseminación artificial bovina

La inseminación artificial es la biotecnología de la reproducción que consiste en depositar el

semen mecánicamente en el tracto reproductivo de la hembra, con mayor desarrollo y masificación ha alcanzado en bovinos de producción lechera (García et al., 2017).

2.2.11 Diagnóstico de la preñez

Los métodos más comunes para detectar la preñez incluyen el no retorno al celo, primeramente, además de la palpación rectal, la ultrasonografía y los niveles de progesterona en la leche. Cada método posee ventajas y desventajas. A partir de los 25 o 28 días post- inseminación es posible detectar el saco gestacional con la precisión (95%) y con mínimo riesgo de pérdida debido a la escasa o nula manipulación del aparato genital. Pudiendo detectar la gestación aun en forma más precoz (20 días post- inseminación) esta crece de sentido práctico ya que entre los 20 y 56 días post - inseminación el porcentaje de perdida de gestación en el ganado lechero oscila entre el 6 y 14%. Por lo tanto, de rutina todas las hembras diagnosticadas preñadas por ultrasonografía alrededor de los 25 días post - inseminación deben ser explorados nuevamente a los 60 días, momento en el cual disminuye la tasa de pérdida (Sagbay, 2012).

a. Ecografía

Para el diagnóstico reproductivo de los animales se ha implementado el uso del ecógrafo, que ayuda al estudio de los diferentes aspectos de la función reproductiva, no solo a nivel de investigaciones, sino también en el área clínica (Ochoa, 2013, p. 37).

El ecógrafo debe estar equipado con un transductor lineal de 5 o 7.5 MHz, el cual se protege con un guante de palpación que contiene gel y se introduce vía rectal. Se puede diagnosticar a los 25 días después de la inseminación artificial, pero para fines más prácticos y menos falsos negativos se la puede realizar a los 30 días post inseminación, donde se podrá observar sin dificultad la vesícula amniótica y el latido cardíaco. En el diagnóstico precoz se debe tomar en cuenta, que se encontrará un número mayor de vacas gestantes, algunas de las cuales perderán irremediablemente la gestación y regresarán en calor, para lo cual se debe informar al propietario de los animales esta situación. Con el chequeo también se pueden identificar a las vacas vacías cuando muchas de ellas están en el diestro temprano (días seis al ocho del ciclo); esto, permite sincronizarlas o re- sincronizarlas (Hernández, 2016, pp. 70-71).

b. Palpación rectal

Las vacas que fueron diagnosticadas previamente como preñadas mediante palpación rectal, entre

los días 30 y 36 post - inseminación, tuvieron un intervalo entre partos dos semanas más largo que aquellas examinadas más tarde, adicionalmente s, comprobó si el diagnóstico de preñez por palpación rectal es eficiente, obteniendo que el 3,4% de las vacas supuestamente preñadas manifestaron el celo y fueron inseminadas, que un 1.5% de las vacas fueron encontradas vacías en un examen posterior, y que el 5% de las vacas diagnosticadas vacías parieron en el período correspondiente a la supuesta edad de preñez (Ungerfeld, 2002).

Aunque la muerte embrionaria es importante durante los estadios temprano de preñez, puede aumentarse iatrogénicamente durante el diagnóstico temprano de preñez por el método de la palpación. La mortalidad embrionaria luego de efectuar el diagnóstico de preñez por palpación rectal antes del día 35 post - inseminación es de 5,8%, entre los días 35 y 45 es de 6% y luego del día 45 es menor al 1%. Otros autores confirmaron que la palpación rectal es una causa importante de muerte embrionaria y fetal. Ungerfeld (2002) reportaron una mortalidad embrionaria de 7,5% y 5,6% luego de realizar el deslizamiento de membranas como signo positivo de preñez antes y después del día 50 post - inseminación respectivamente.

2.3 Marco conceptual

Balance energético: se refiere a la relación entre el ingreso y egreso de energía del organismo. Cuando el balance energético es cero existe un equilibrio entre la cantidad de energía que ingresa al organismo y la cantidad de energía que es utilizada (McNamara et al., 2003). Un balance energético negativo en animales incrementa la susceptibilidad a hígado graso y cetosis (Science&Solutions, 2019).

Ciclo estral: es la manifestación de receptividad sexual en las hembras asociada al periodo de estro. Es el tiempo de ovulación de la vaca que transcurre dependiendo de las oleadas foliculares compuestas de ciclos de tres oleadas (entre 22 y 23 días) o dos oleadas (entre 19 y 20 días); se divide en cuatro fases; el Estro (etapa donde la vaca segrega una sustancia llamada limo y afloran los signos del celo (entre 12 a 24 horas de duración); el Metaestro (se enmarca su comienzo por el día 0 del ciclo ya que todas las sustancias del estro comienzan a cambiar, se desarrolla el cuerpo lúteo, las concentraciones de progesterona incrementan hasta niveles mayores de 1 ng/ml, se genera un sangrado metaestral (entre 4 a 5 días de duración); el Diestro (donde el cuerpo lúteo completa su desarrollo y se generan altos niveles de progesterona, que la prepara para recibir el embrión (la etapa de mayor duración entre 12 a 14 días) y el Proestro (se da ausencia del cuerpo lúteo funcional y ocurre la maduración del folículo ovulatorio e incrementan las concentraciones de estradiol (Hacienda El Cucharó, 2019).

Condición corporal (CC): se utiliza para estimar la proporción de grasa corporal que el animal

posee, y es reconocida por científicos, técnicos y productores como una herramienta importante en el manejo nutricional del ganado (Roche et al., 2009).

Ecografía bovina: es una prueba diagnóstica en la que se emplean ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos de bovinos y equinos (Info Ganadería, 2018).

Gestación: estado en el cual la hembra lleva un embrión o feto, periodo que transcurre desde la implantación del óvulo fecundado en el útero hasta el momento del parto. A partir de que el óvulo es fecundado se producen cambios en el cuerpo, tanto fisiológicos como metabólicos, destinados a proteger, nutrir y proporcionar todo lo necesario para el desarrollo adecuado del feto. Su duración promedio es de 285 días (9 meses) y los factores que intervienen en su duración son la edad de la madre, factores fetales como el sexo y factores genéticos (INTA, 2018).

Grasa: componente del tejido adiposo del ganado bovino, ovino y caprino; rica en ácidos grasos saturados, superando el 50% de su composición en rumiantes (ALEPH, 2021).

Hato ganadero: hace referencia a una porción de ganado mayor (vacas, toros, bueyes, búfalos, caballos, etc.) y a las fincas destinadas a la crianza de estos animales (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018).

Inseminación artificial: es todo aquel método de reproducción asistida que consiste en depositar los espermatozoides obtenidos del macho en el aparato genital de la hembra mediante instrumental especializado y utilizando técnicas que reemplazan a la copulación, con el fin de lograr la gestación. Técnica que consiste en lograr la fertilización del óvulo mediante la utilización de medios mecánicos (Hernández et al., 2017).

Leche: se entiende como leche al producto integral del ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene que produce la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, sin aditivos de ninguna especie (Murad, 2013).

Periodo de transición: etapa en que el animal debe adaptarse a las nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas que le exigen pasar de un estado de preñez y sin producir leche a un estado de no preñez y producción de grandes cantidades de leche (Jairo, 2011).

Periodo postparto o puerperio: es la fase inmediata después del parto, donde ocurren cambios fisiológicos y estructurales en el útero, ocurridas por la gestación, después del cual el organismo debe prepararse para la nueva gestación (Dr. Bruno Rutter. 2002). Facultad de Veterinaria, Univ. De Bs. As.). Es el periodo comprendido entre el parto y la presentación del primer estro fértil; constituye un proceso fisiológico de cambios en los órganos del aparato reproductor de la vaca (Contexto ganadero, 2020).

Vida útil o productiva de una vaca: Se divide en dos fases: crianza (se extiende desde el nacimiento de la ternera hasta su primer parto (novilla) y producción (se extiende desde el primer parto hasta el descarte o muerte) (Revista GENÉTICA (2020).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1 Identificación de variables

3.1.1 *Variable Independiente*

El factor de estudio lo constituye el tiempo transcurrido post inseminación de vacas lecheras (es la variable independiente ya que es manipulada por parte del investigador en la investigación) y los tratamientos son los días transcurridos después de la inseminación artificial de vacas reproductoras, incluido el tratamiento testigo como se muestra a continuación.

T0. Vacas sin aplicación de GnRH.

T1. Vacas con aplicación de 2,5 ml de GnRH al día 12 post inseminación. T2. Vacas con aplicación de 2,5 ml de GnRH al día 14 post inseminación. T3. Vacas con aplicación de 2,5 ml de GnRH al día 16 post inseminación. T4. Vacas con aplicación de 2,5 ml de GnRH al día 18 post inseminación. T5. Vacas con aplicación de 2,5 ml de GnRH al día 20 post inseminación.

3.1.2 *Variables dependientes*

Niveles de progesterona en plasma (ng/mL). Índice de concepción o preñez (%).

Viabilidad embrionaria a los 45 días (%).

3.2 Cuadro de operacionalización de variables.

Concepto	Dimensiones	Indicadores	Ítems básicos	Técnica e instrumento
Efecto de la GnRH post inseminación en vacas Holstein mestizas. Se trata de una investigación en la cual se va a identificar, apreciar la importancia de la aplicación de GnRH post inseminación en el índice de concepción y viabilidad embrionaria.	Entorno Reproductivo	Preñez No preñez	Número de vacas preñadas	Ecografía -ecógrafo
GnRH. Producto de origen natural o sintético que permite el manejo del ciclo estral y promueve la inducción del celo.	Porcentaje	% de preñez	Número de vacas preñadas	Ecografía - ecógrafo
Progesterona. Hormona producida por el cuerpo lúteo de gestación, como señal de reconocimiento y mantenimiento de gestación	Concentraciones	Niveles de P4 en Plasma(ng/ml)	Concentraciones séricas de p4	Química sanguínea

3.3 Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	VARIABLES	Indicadores	Técnica	Instrumento
Necesidad de conocer la relación entre la aplicación de GnRH post inseminación sobre el porcentaje de concepción y viabilidad embrionaria en vacas Holstein mestizas	Evaluar el índice de concepción con la aplicación de GnRH post inseminación	1. Hipótesis nula (H0): La aplicación de GnRH post inseminación no mejora el índice de concepción y la viabilidad embrionaria en vacas Holstein mestizas	Tratamiento post inseminación	Días de tratamiento	Aplicación intramuscular	Jeringa
Se desconoce la relación entre la aplicación de GnRH post inseminación sobre el índice de concepción y viabilidad embrionaria en vacas Holstein mestizas.	Determinar en cuál de los días aplicados mejora el porcentaje de concepción. Evaluar la viabilidad embrionaria a los 45 días post inseminación	Hipótesis alternativa (H1): La aplicación de GnRH post inseminación mejora el índice de concepción y la viabilidad embrionaria en vacas Holstein mestizas.	Índice de concepción Viabilidad embrionaria	Número de vacas preñadas % de sobrevivencia	Ecografía	Ecógrafo

3.4 Metodología

El estudio investigativo se realizó en el hato ganadero La Alejandrina, cantón Tisaleo, Provincia Tungurahua, el cual limita con el cantón Ambato por el norte y occidente, y con Mocha y Cevallosal sur y oriente. Se encuentra en las coordenadas geográficas 1° 21' 0" de Latitud Sur y 78° 40' 0" de Longitud Oeste a una altitud de 3.214 msnm (Figura 1-3).



Figura 1-3: Ubicación geográfica del cantón Tisaleo.

Fuente. GADM Tisaleo (2022).

3.5 Diseño de Investigación

Investigación de tipo experimental debido a la intervención del investigador en las unidades de estudio, ya que se manipula el factor de estudio, en este caso la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días posteriores a la inseminación artificial de vacas lecheras.

Para el desarrollo de la investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (Gutiérrez y Salazar, 2012) con 6 tratamientos en función de aplicación de la hormona GnRH a diferentes días posteriores a la inseminación artificial de vacas lecheras, con el siguiente modelo matemático:

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

Donde:

Y_{ij} : observación obtenida en el i -ésimo tratamiento y la j -ésima observación realizada en cada réplica en los grupos conformados.

μ : media poblacional de la variable respuesta.

τ_i : indica el efecto del i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} : error experimental

Tabla 1-3: El esquema de la tabla ADEVA para el diseño completamente al azar utilizado en la investigación:

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F Calculado	p-valor
Tratamientos	SCTr	k-1	$\frac{SCTr}{k} - 1$	$\frac{SCTr}{SCE}$	
Error	SCE	n-k	$\frac{SCE}{n} - k$		
Total	SCT	n-1			

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

El experimento estuvo conformado por cinco réplicas, en este caso las cinco vacas que forman cada grupo, las cuales fueron seleccionadas mediante la técnica del muestreo aleatorio simple, a las cuales se les ofertó la hormona GnRH a diferentes días posterior a la inseminación artificial (12, 14, 16, 18 y 20 días) distribuidas de forma completamente al azar. El manejo de las reproductoras fue homogéneo en los seis grupos conformados con cinco vacas cada uno (Tabla 2).

Tabla 2-3: Tratamientos objeto de estudio en la investigación experimental.

Tratamientos	Condición de las vacas reproductoras
T0	Sin aplicación de GnRH.
T1	Con aplicación de GnRH al día 12 post inseminación.
T2	Con aplicación de GnRH al día 14 post inseminación.
T3	Con aplicación de GnRH al día 16 post inseminación.
T4	Con aplicación de GnRH al día 18 post inseminación.
T5	Con aplicación de GnRH al día 20 post inseminación.

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

3.6 Métodos de investigación

La investigación es de tipo explicativo debido a que se busca demostrar relaciones de causalidad entre la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días posteriores a la inseminación artificial, el índice de concepción o preñez y la viabilidad embrionaria a los 45 días en vacas lecheras Holstein mestizas; es de tipo perspectivo ya que los datos fueron recolectados por el propio investigador constituyéndose en datos primarios sin sesgos de medición, transversal, ya que se realizó una sola medición de las variables dependientes en las unidades de estudio y analítico, debido a que se analizaron varias variables, en este caso, la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días posteriores a la inseminación artificial, la viabilidad embrionaria, el porcentaje de concepción y los niveles de progesterona en sangre de las vacas lecheras de la raza Holstein mestizas.

3.7 Enfoque de la Investigación

El enfoque de la investigación es cuantitativo ya que hace acto de presencia la estadística como herramienta para el procesamiento de los datos primarios recolectados con lo cual se garantiza la toma de decisiones con un fundamento matemático-científico. Previo a la revisión de los antecedentes investigativos como parte de la revisión teórica y el marco conceptual de la investigación.

3.8 Alcance de investigación

Establecer una posible relación de causalidad entre la aplicación de GnRH post inseminación con el índice de concepción o preñez, la viabilidad embrionaria a los 45 días y niveles de progesterona en plasma en vacas Holstein mestizas ubicadas en el hato ganadero La Alejandrina, cantón Tisaleo, Provincia de Tungurahua.

3.9 Población de estudio

Para la investigación se utilizó una población de estudio conformada por 70 vacas Holstein mestizas que forman parte del hato ganadero La Alejandrina, parroquia La Matriz, cantón Tisaleo, provincia de Tungurahua.

3.10 Unidad de análisis

Las unidades de estudio o de análisis estuvieron constituidas por vacas Holstein Mestizas productoras de leche que conforman cada grupo estructurado en función de la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días post inseminación artificial, en las cuales se medirán las siguientes variables.

- A) Porcentaje de concepción o preñez a los 28 días
- B) Niveles de progesterona en sangre.
- C) Viabilidad embrionaria a los 45 días.

3.11 Selección de la muestra

Previo a la determinación del tamaño de la muestra, se realizó una selección de los animales

experimentales bajo los siguientes criterios de inclusión:

1. Reproductoras en periodo posparto.
2. Vacas que no hayan tenido partos distócicos.
3. Reproductoras sin presencia de enfermedades metabólicas.
4. Vacas en etapa reproductiva aparente con una edad entre cuatro y cinco años.

3.12 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra para garantizar la máxima representatividad del estudio se determinó según criterio y experiencia del investigador en el área del conocimiento, donde se constituyeron seis grupos de cinco vacas cada uno, para un total de 30 vacas en el estudio, seleccionadas mediante muestreo aleatorio simple, donde cada animal del hato ganadero tuvo la misma posibilidad de ser elegido y conformar cada grupo.

La población de estudio corresponde a 70 vacas en producción en la hacienda La Alejandrina, con los siguientes criterios de inclusión.

1. Raza Holstein mestiza.
2. Condición corporal 2.5 - 3.5; en la escala de 1 a 5
3. Edad entre 4-5 años, de segundo y tercer parto.
4. Alimentación a libre pastoreo (Trébol blanco, Ray Grass anual y Ray Grass neozelandés), concentrado 1 kg/día/animal y consumo de agua add libitum.

Considerando un marco muestral conocido de 70 vacas se utilizó el siguiente algoritmo matemático para efectuar el cálculo del mínimo tamaño muestral.

$$n = \frac{N * (Z_{1-\alpha})^2 * S^2}{(d)^2 * (N - 1) + (Z_{1-\alpha})^2 * S^2}$$

$$n = \frac{70 * (1,96)^2 * 1,69}{(0,5)^2 * 69 + (1,96)^2 * 1,69}$$

$$n = \frac{70 * 3,84 * 1,69}{0,25 * 69 + 3,84 * 1,69}$$

$$n = \frac{454,272}{17,25 + 6,4496}$$

$$n = \frac{454,272}{23,7396}$$

Donde:

$n = 19,14 \sim 20$

Marco muestral: $N=70$ vacas

reproductoras. Alfa (máximo error tipo

I). $\alpha = 0,05$.

Nivel de Confianza $1-\alpha/2$

$= 0,975$. $Z(1-\alpha/2) = Z(1-$

$0,05/2) = 1,96$.

Varianza (s^2) = 1,69.

Precisión: 0,5.

Tamaño de la muestra (n) = 20 vacas.

El mínimo tamaño de la muestra en función de la población de vacas de que se dispone es de 20 vacas, pero como se cuenta con 6 tratamientos se escogieron 30 animales que se distribuyeron de forma aleatoria, cinco vacas en cada uno.

3.13 Técnicas de recolección de datos primarios.

La técnica utilizada para la recolección de los datos fue la observación mediante ecografía. Para el caso de los niveles plasmáticos de progesterona en sangre se realizaron determinaciones analíticas en el Laboratorio Clínico ALMOLAB de Ambato.

3.14 Instrumentos de recolección de datos primarios y secundarios

Los datos primarios fueron recolectados en 30 reproductoras seleccionadas a partir de la selección aleatoria, a las cuales se les realizó ecografía a los 28 días post inseminación para determinar el índice de concepción o preñez y la presencia o ausencia de embrión a los 45 días mediante la técnica de ecografía. En cada vaca seleccionada se tomó una muestra de sangre de 10 ml. en la vena yugular, la cuales fueron colocadas en tubos Vacutainer de tapa roja y ubicadas en Cooler con refrigeración para garantizar mantener las muestras en una temperatura promedio de 4°C; las mismas que fueron transportadas inmediatamente al Laboratorio Clínico ALMOLAB de Ambato, para la determinación de los niveles de progesterona en sangre.

3.15 Instrumentos para procesar datos recopilados

Los datos primarios recolectados como parte de la investigación fueron organizados en columnas a partir de los grupos conformados (Tabla 3) para su ordenamiento en una matriz

de datos que permita su procesamiento estadístico.

Tabla 3-3: Detalles de cada grupo conformado (aplicación de GnRH a diferentes días después de la inseminación artificial) para el desarrollo de la investigación.

Tratamiento	Código	Tamaño de la Muestra	Número de repeticiones	Total
I.A sin GnRH	T0	1	5	5
I.A + 2,5 ml de GnRH al día 12	T1	1	5	5
I.A + 2,5 ml de GnRH al día 14	T2	1	5	5
I.A + 2,5 ml de GnRH al día 16	T3	1	5	5
I.A + 2,5 ml de GnRH al día 18	T4	1	5	5
I.A + 2,5 ml de GnRH al día 20	T5	1	5	5
Total				30

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

La descripción estadística del comportamiento de cada grupo de vacas donde se aplicó o no la hormona GnRH, evaluadas a los diferentes días post inseminación en relación con los niveles plasmáticos de progesterona se realizó mediante el cálculo de medidas de resumen de datos, dentro de las que se encuentran la media aritmética, desviación típica o estándar, error típico o estándar de la media, mínimo y máximo.

Para conocer si se presentan o no diferencias estadísticamente significativas entre los grupos conformados de vacas reproductoras (formadas a partir de la aplicación de GnRH posterior a la inseminación artificial y el grupo donde no se utilizó la hormona), en función del índice de concepción o preñez y la presencia o ausencia de embrión a los 45 días, se utilizó la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado de Pearson, debido a que las variables medidas viabilidad embrionaria (presencia o ausencia de embrión) y concepción (si o no) son variables categóricas dicotómicas. La presencia o no de diferencias estadísticas significativas entre los grupos de vacas conformados para la investigación en función de los niveles de progesterona en sangre se determinó mediante el Análisis de varianza (ADEVA) de un factor inter grupos. Cuando se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos; se aplicó la prueba de rangos y comparaciones múltiples de Duncan, la cual permite establecer entre que tratamientos se presentan diferencias o similitudes.

Por otro lado, la posible relación entre la aplicación de GnRH a los diferentes días y la viabilidad embrionaria, concepción o preñez y niveles de progesterona en sangre se estableció mediante el coeficiente de correlación rho de Spearman.

La comparación de los dos grupos de vacas (con aplicación de GnRH y sin GnRH) para conocer la presencia o no de asociación con la concepción o preñez (sí o no) de las vacas a los 28 días y la viabilidad embrionaria se realizó mediante la prueba Chi-cuadrado de Pearson, previa elaboración de tablas de contingencias bidimensionales, donde se establecen las frecuencias absolutas y relativas de las categorías de las variables analizadas.

El procesamiento de los datos recolectados como parte de la investigación se realizó con el programa estadístico SPSS versión 25 de prueba para Windows, con una confiabilidad en la estimación del 95% y un nivel de significancia del 5,0 % ($\alpha=0,05$). La representación gráfica de los resultados se realizó mediante gráficos de barras simples y de barras agrupadas.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efectividad de la aplicación de GnRH post inseminación artificial sobre el índice de concepción en vacas lecheras

La tabla de contingencia muestra la distribución de frecuencias absolutas y relativas del estado de concepción o preñez dentro de cada grupo de vacas estudiado (con aplicación de GnRH y sin aplicación de GnRH), evidenciándose que dentro del grupo sin aplicación de la hormona GnRH, el 60% (3/5) de las vacas reproductoras presentaron concepción o preñez a los 28 días y el resto, o sea, el 40% (2/5) no la obtuvo; y dentro del grupo de vacas a las cuales se les aplicó la hormona GnRH analizadas a los 28 días, el 88,0% (22/25) alcanzaron la concepción o preñez y el 12% (3/25) no la alcanzó, sin embargo, para conocer si la asociación entre las dos variables es significativa se debe realizar la prueba de hipótesis de Chi-cuadrado de Pearson (Tabla 4).

Tabla 1-4: Tabla cruzada que asocia a la utilización o no de la Hormona GnRH con la concepción o no de la vaca reproductora a los 28 días.

Concepción o preñez (28 días)		Hormona GnRH		Total
		Con GnRH	Sin GnRH	
Sí	Recuento	22	3	25
	% dentro de la aplicación de GnRH	88,0%	60,0%	83,3%
	% dentro del total	73,3%	10,0%	83,3%
No	Recuento	3	2	5
	% dentro de la aplicación de GnRH	12,0%	40,0%	16,7%
	% dentro del total	10,0%	6,7%	16,7%
Total	Recuento	25	5	30
	% dentro de la aplicación de GnRH	100%	100%	100%
	% dentro del total	83,3%	16,7%	100,0%

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

La prueba Chi-cuadrado de Pearson muestra un p-valor=0,049; valor menor a 0,05; por lo tanto, se presentan diferencias estadísticas significativas; presentándose evidencia estadística suficiente para aceptar que se presenta una asociación entre la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días post inseminación y el estado de preñez o índice de concepción en vacas, lo que puede estar condicionado por el desarrollo del cuerpo lúteo (Tabla 5-4).

Tabla 2-4: Prueba Chi cuadrado que muestra la asociación entre la aplicación o no de Hormona GnRH con la variable concepción o preñez (sí o no) de la vaca a los 28 días.

Estadísticos	Valor	gl	p-valor
Chi-cuadrado de Pearson	2,352	1	0,049
N de casos válidos	30		

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

Existen investigadores que manifiestan que son muy aceptados los tratamientos con GnRH, debido a que mejoran el desarrollo del cuerpo lúteo y por ende una mayor producción de progesterona, lo que contribuye a prevenir las ovulaciones retardadas y mejorar el índice de concepción o preñez, aunque los resultados varían de acuerdo a las condiciones geográficas y de acuerdo al número de servicio de las vacas.

Los resultados muestran que cuando se aplicó la hormona GnRH en vacas reproductoras se alcanzó un porcentaje de concepción o preñez del 88% (22/25) y solamente un 12% (3/25) de vacas no alcanzaron a obtener la concepción (Figura 2-4).

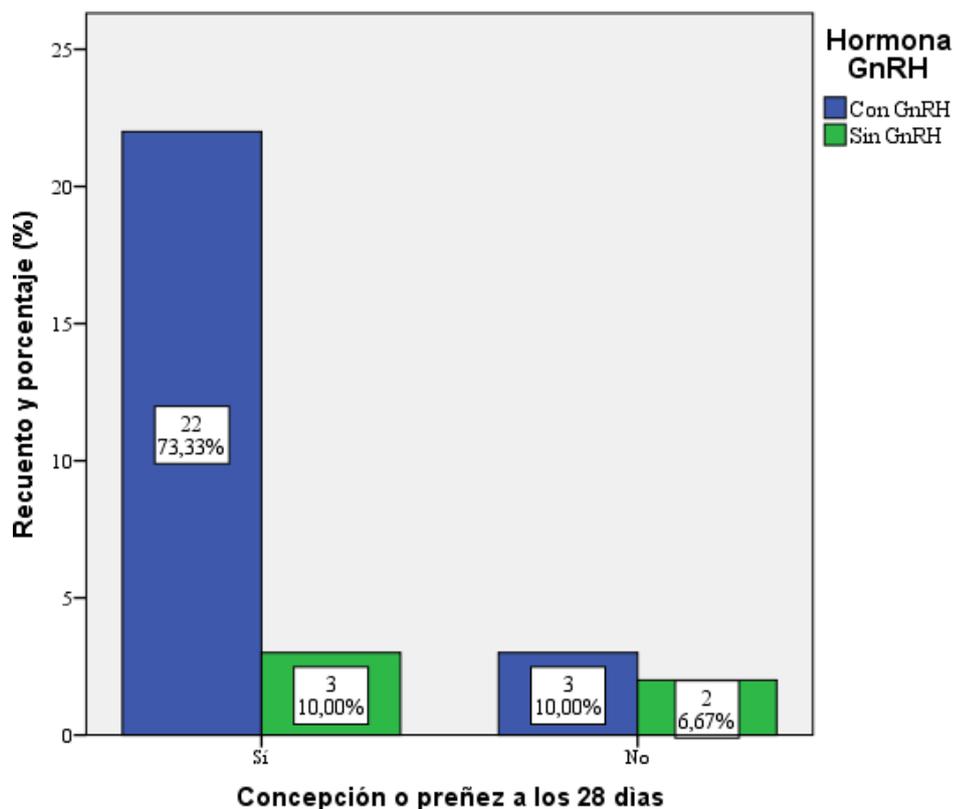


Gráfico 1-4: Influencia de la aplicación de hormona GnRH en la concepción o preñez de vacas reproductoras a los 28 días post inseminación.

Realizado por: Bustos, Carlos. 2022

Se presentan diferencias estadísticas entre el grupo con aplicación de la hormona GnRH y el grupo sin aplicación de GnRH en lo referente a la tasa de concepción o preñez en vacas reproductoras a los 28 días post inseminación, los resultados del presente estudio igual a los

obtenidos por Flaquer (2007) de 73.33%, al aplicar 75 mg GnRH (Acetato de Gonadorelina) a los 12 días post inseminación en vacas lecheras y superiores a los encontrados por Sheldon y Dobson (1993) con un 60% al aplicar 10 microgramos de la hormona GnRH (Buserelina) a los 11 días post inseminación en vacas reproductoras, valor que supera los obtenidos por Iglesias (2002) del 26.36% al aplicar 84 microgramos de GnRH (Acetato de Buserelina) en 44 vacas lecheras de diferentes razas a los 12 días post inseminación artificial.

Efecto de la aplicación de la GnRH a diferentes días post inseminación artificial en el porcentaje de concepción o preñez

La mayor la efectividad de la hormona GnRH en relación con el porcentaje de concepción o preñez se alcanzó a los 14 y 18 días post inseminación 100%, sin embargo, a los días 12, 16, 20 de efectuada la inseminación se alcanzó un porcentaje de concepción del 80%, mientras que en el tratamiento testigo (sin GnRH) alcanzó un porcentaje de concepción del 60%. La utilización de la hormona GnRH favorece un mejor desarrollo del cuerpo lúteo y desencadena una mayor producción de progesterona; además mantiene la gestación (Figura 3-4).

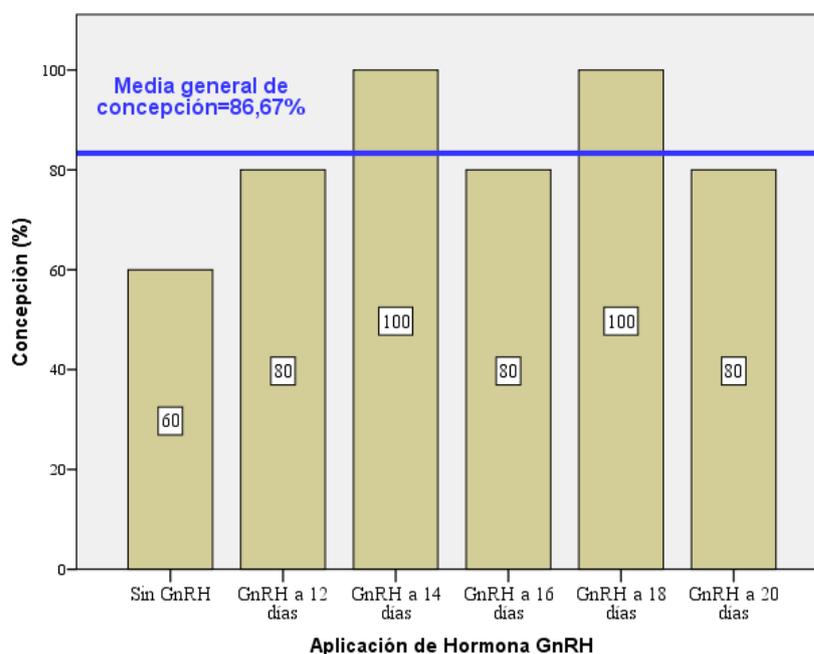


Gráfico 2-4: Influencia de la aplicación de Hormona GnRH en la concepción preñez de vacas reproductoras a los 28 días post inseminación.

Realizado por: Bustos, Carlos. 2022

Los resultados obtenidos en la presente investigación se corroboran con lo obtenido por Sreenan y Diskin (1994) quienes establecieron que el índice de fecundación se incrementa hasta un 90%

posterior a la inseminación de la reproductora, sin embargo, se observan resultados distintos con los obtenidos por Velázquez et al. (2009), quienes demostraron que los índices de fecundación son bajos cuando se utiliza GnRH, lo que puede producirse por diferentes factores.

López et al. (2006) desarrollaron un estudio donde investigaron a tres grupos de vacas (el grupo control con n= 431, el grupo con aplicación de la hormona GnRH al momento de la inseminación con un n=429, y el grupo donde se aplicó la hormona GnRH a los 12 días después de la inseminación artificial con un n=429) en condiciones de altas temperaturas y obtuvieron una tasa de gestación en el grupo 1 de 21% (89 preñadas de 431 muestreadas), en el grupo 2 se obtuvo un 31% de preñez (132 gestadas de 429 muestreadas) y en el grupo 3 se alcanzó un 35% (152 vacas preñadas de 429 analizadas), demostrándose que se aumenta la tasa de preñez en vacas de alta producción lechera en el periodo de temperatura más alto.

En un estudio realizado por Ladino y Villeda (2013) para conocer el efecto del Acetato de Gonadorelina aplicado al día 21 posterior a la inseminación no encontraron diferencias estadísticas significativas a los 30 y 45 días, entre el grupo de vacas con la aplicación de 150 ug de la hormona a los 21 días y el control en relación al porcentaje de concepción o preñez.

4.2 Efecto de la aplicación de GnRH a diferentes días post inseminación en los niveles de progesterona en sangre en vacas Holstein mestizas

En la Tabla 6-4. se caracteriza la variable niveles plasmáticos de progesterona en función de los días transcurridos posteriores a la inseminación artificial, donde se obtiene para el grupo de vacas con aplicación de hormona valores promedio ($n = 25$ vacas; $\bar{X} = 19,18$ ng/mL) menores que lo obtenido en el grupo de vacas donde no se aplicó la hormona GnRH ($n = 5$ vacas; $\bar{X} = 31,6$ ng/mL).

Tabla 3-4: Estadísticos descriptivos de los niveles plasmáticos de Progesterona en función de los diferentes días post inseminación.

Tratamientos	n	Media \bar{X}	Desviación estándar (S)	Mínimo	Máximo
Sin GnRH	5	7,01	5,03	1,63	14,26
Con GnRH (12 días)	5	14,81	5,60	7,70	21,30
Con GnRH (14 días)	5	22,11	7,62	9,34	29,37
Con GnRH (16 días)	5	29,83	22,81	3,67	53,50
Con GnRH (18 días)	5	15,78	4,70	9,43	20,21
Con GnRH (20 días)	5	13,38	6,99	2,57	22,11
Subtotal con GnRH	25	19,18	12,33	2,57	22,11
Total	30	17,15	12,28	1,63	53,50

Nota: La unidad de medida de los niveles de progesterona en sangre es en ng/mL.

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

El contraste de hipótesis evidencia que la distribución de los niveles de progesterona en plasma (%) presentan diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos estudiados (días transcurridos después de la aplicación de GnRH post inseminación, o sea, a los 12, 14, 16 18 y 20 días) y el grupo de vacas sin utilización de hormona GnRH, ya que el p-valor obtenido en la prueba paramétrica de ANDEVA (0,049) es menor al nivel de significancia restablecido previamente ($\alpha = 0,05$), por lo que se demuestra que los valores de progesterona en plasma de vacas reproductoras se encuentran influenciado por la hormona GnRH (Tabla 7-4).

Tabla 4-4: Análisis de varianza (ADEV) para los niveles de progesterona en sangre en vacas posparto.

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Tratamientos	1548,652	5	309,730	2,631	0,049
Error experimental	2825,029	24	117,710		
Total	4373,681	29			

Coefficiente de variación (CV)=40,9%.

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

El mayor valor de progesterona en sangre se obtuvo a los 16 días post inseminación artificial (29,83 ng/mL) no diferente estadísticamente a los valores obtenidos a los 12 días post inseminación (14,81 ng/mL), 14 (22,11 ng/mL), 18 (15,78 ng/mL) y 20 (13,38 ng/mL), sin embargo, si presentó diferencias estadísticas con el grupo testigo al que no se aplicó GnRH donde se obtuvo una media de 7,01 ng/mL, condicionada posiblemente por la acción de la GnRH sobre el tejido blanco, que induce la producción de progesterona en el cuerpo lúteo para asegurar la preñez. La progesterona es una hormona de la gestación y factor asociado a tener en cuenta paramantener la preñez o gestación. Cuando ocurre la gestación la GnRH contribuye a inhibir la actividad contráctil del útero estimulándose el desarrollo de sus glándulas (Hincapié et al., 2005) (Figura 4-4).

En un estudio realizado por (Wiltbank et al., 2014). Indica que niveles séricos de P4 iguales o superiores a 10 ng/mL denotarían cuerpos lúteos de media-alta producción de P4 compatibles con el período de gestación.

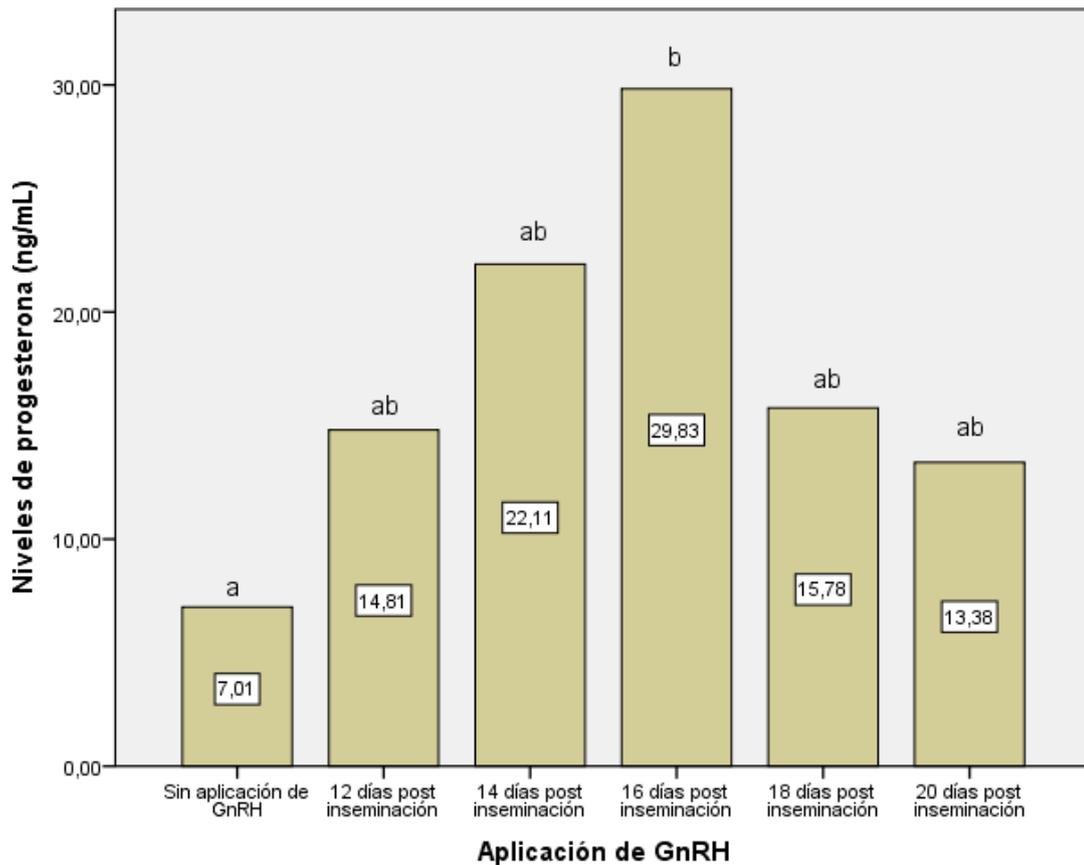


Gráfico 3-4: Influencia de la aplicación de Hormona GnRH a diferentes días post inseminación en los niveles de progesterona de vacas Holstein mestizas.

*Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor < 0,05.

Realizado por: Bustos, Carlos. 2022

La media de los niveles de progesterona en el presente estudio es de 19.18 ng/ml cuando se aplicó la hormona GnRH y de 31,60 ng/ml sin aplicación de GnRH, valor que supera a los obtenidos por Pitti y Sánchez (2012) en una investigación realizada en Zamorano–Honduras, con el objetivo de determinar los porcentajes de preñez y las concentraciones de progesterona en plasma sanguíneo en vacas de aptitud lechera tratadas con GnRH post inseminación artificial; La concentración de progesterona más alta se obtuvo en el tratamiento de GnRH al día 7, con una media de 10.03 ng/ml, al día 12, 7.62 ng/ml y control 8.72 ng/ml.

4.3 Viabilidad embrionaria a los 45 días post inseminación

Las frecuencias absolutas y relativas de la presencia o no de viabilidad embrionaria a los 45 días dentro de los grupos conformados a partir de la aplicación o no de la hormona GnRH se muestra en la tabla de contingencia bidimensional, donde se observa que dentro del total de vacas analizadas a las cuales se les aplicó la hormona GnRH (n=25), el 88,0% (22/25) presentaron viabilidad embrionaria y el 12% (3/25) no la alcanzó. Dentro del grupo de vacas donde no se

aplicó la hormona GnRH (n=5), el 20% (1/5) presentaron viabilidad embrionaria, no así, el 80% (4/5) restante (Tabla 8-4).

Tabla 5-4: Tabulación cruzada que muestra las frecuencias de la viabilidad embrionaria a los 45 días (%) en los grupos de vacas con y sin GnRH.

Viabilidad embrionaria a los 45 días (%)		Hormona GnRH		Total
		Con GnRH	Sin GnRH	
Presencia	Recuento	22	1	23
	% dentro de la aplicación de GnRH	88,0%	20,0%	76,7%
	% dentro del total	73,3%	3,3%	76,7%
Ausencia	Recuento	3	4	7
	% dentro de la aplicación de GnRH	12,0%	80,0%	23,3%
	% dentro del total	10,0%	13,3%	23,3%
Total	Recuento	25	5	30
	% dentro de la aplicación de GnRH	100%	100%	100%
	% dentro del total	83,3%	16,7%	100%

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

El contraste de hipótesis evidencia que la distribución de viabilidad embrionaria a los 45 días (%) presentan diferencias estadísticas significativas entre las categorías de aplicación de la hormona GnRH y el grupo de vacas sin utilización de hormona GnRH, ya que el p-valor (0,001) obtenido en la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado es menor al nivel de significancia restablecido previamente ($\alpha = 0,05$), por lo que, se demuestra que la viabilidad embrionaria de vacas reproductoras se encuentra influenciado por el empleo de la hormona GnRH (Tabla 9-4).

Tabla 6-4: Prueba de Chi cuadrado que muestra la asociación entre Aplicación de Hormona GnRH con la viabilidad embrionaria a los 45 días (%).

Estadísticos	Valor	gl	p-valor
Chi-cuadrado de Pearson	10,770 ^a	1	0,001
N de casos válidos	30		

Realizado por: Bustos, Carlos, 2022.

Los resultados evidencian que cuando se aplicó la hormona GnRH en vacas reproductoras se alcanzó una alta viabilidad embrionaria a los 45 días de realizada la inseminación artificial, o sea, un 88% (22/25) y solamente un 12% (3/25) de vacas no alcanzaron la viabilidad embrionaria. En el grupo de vacas donde no se aplicó la hormona GnRH se obtuvo una baja viabilidad embrionaria a los 45 de realizada la inseminación artificial con un 80% (4/5) de vacas sin viabilidad (Figura 5-4).

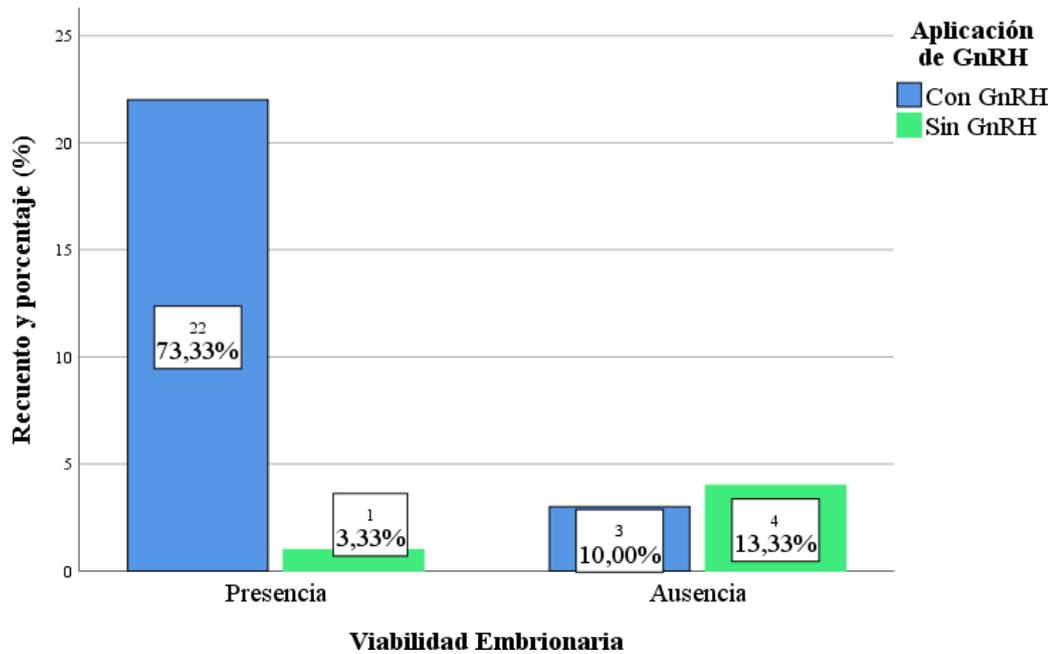


Gráfico 4-4: Viabilidad embrionaria (presencia o ausencia) de vacas mestizas a los 45 días post inseminación artificial.

Realizado por: Bustos, Carlos. 2022

El porcentaje obtenido como media general en la presente investigación (76,7%), o sea, 22 vacas con viabilidad embrionaria de 30 estudiadas, se asemeja a los indicados por Gonzales (2004), quien obtuvo en vacas reproductoras entre el 60 y 70% de viabilidad embrionaria, sin embargo, Hincapié et al. (2005) sugieren como parámetro aceptable de viabilidad embrionaria valores iguales o mayores al 55% (Figura 6-4).

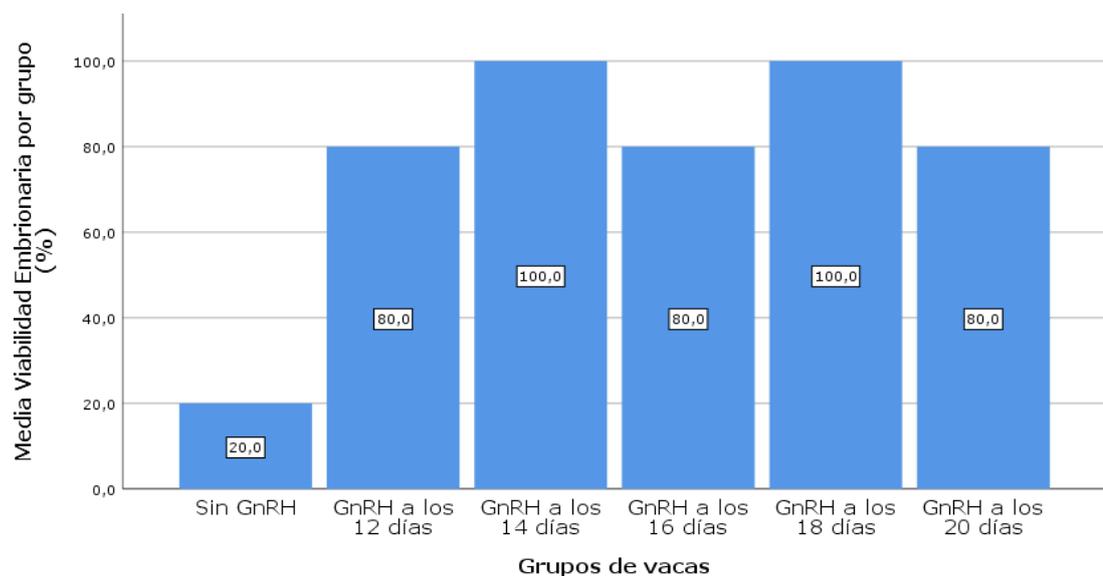


Figura 6-4. Influencia de la aplicación de la hormona GnRH a diferentes días post inseminación en la viabilidad embrionaria de vacas Holstein mestizas a los 45 días.

Realizado por: Bustos, Carlos. 2022

CONCLUSIONES

1. El índice de concepción o preñez fue mayor y diferente estadísticamente (88%) en el conjunto de vacas donde se aplicó la hormona GnRH en comparación con el grupo control (60%) donde no aplicó, lo que evidencia el efecto positivo que presenta en el desarrollo del cuerpo lúteo y la producción de progesterona en vacas Holstein mestizas. El mayor porcentaje de concepción en vacas Holstein mestizas se presentó a los 14 y 18 días post - inseminación con una efectividad del 100%.
2. Los niveles de progesterona en sangre de vacas Holstein mestizas presentaron diferencias estadísticamente significativas en función de la aplicación o no de la hormona GnRH a diferentes días post inseminación, sin embargo, los valores alcanzados se incrementan progresivamente a partir del día 12; además se demuestra un efecto significativo de la hormona GnRH en la progesterona en comparación con el grupo de reproductoras a las que no se le aplicó la hormona.
3. La aplicación de la hormona GnRH en vacas Holstein mestizas alcanzó una viabilidad embrionaria a los 45 días de realizada la inseminación artificial del 88% (22/25) y solamente un 12% (3/25) de vacas no la alcanzaron, lo que puede estar condicionado por el efecto de los cambios bruscos de temperatura debido al cambio climático. En el grupo de vacas donde no se aplicó la hormona se obtuvo una viabilidad embrionaria del 20% (1/5) diferente estadísticamente al 88% alcanzado en el grupo con aplicación de GnRH.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios relacionados con la aplicación de la hormona GnRH en vacas post inseminación artificial con mayor número de unidades experimentales por tratamiento.
2. Efectuar investigaciones tomando en cuenta el número de servicios de las vacas frente a la aplicación de GnRH, ya que el efecto de la hormona es preparar al animal para el siguiente celo y de esta manera determinar el incremento índice de concepción y viabilidad embrionaria.
3. Aplicar GnRH al día 14 post inseminación en vacas Holstein mestizas, ya que, de acuerdo a los resultados de la presente investigación, la GnRH suministrada en este día influye considerablemente en los porcentajes de viabilidad embrionaria en relación a los demás tratamientos.

GLOSARIO

Análogo: Que tiene similitud, que es semejante, se dice de los medicamentos que tienen la misma o muy parecida forma de acción, aunque son de origen o estructura diferentes.

Anestro: Ausencia del ciclo estral.

Antagonista: Es la sustancia que frena la acción o el efecto de otra sustancia.

Ciclo Estral: Ciclo estral de 21 días en promedio durante el cual el ovario de la vaca libera un folículo y el útero se prepara a sí mismo para una posible preñez. El ciclo estral se encuentra controlado por hormonas.

Concepción: Una preñez confirmada luego de un servicio.

Condición Corporal: Reserva corporal (principalmente en la forma de tejido graso) determinada por observación visual o palpación rectal (sinónimo: reserva corporal).

Correlación: Es el cambio en el valor de una variable asociado con el cambio en otra variable. La correlación varía de 0, cuando el cambio de una variable no afecta la otra, a 1;0, donde el cambio de una unidad de una variable es asociado con el cambio de 1,0 en la otra variable.

Cuerpo Lúteo: Masa amarilla de células secretoras de hormonas que se desarrolla en la superficie del ovario desde los restos del folículo luego de que el óvulo ha sido liberado (ovulación). Un cuerpo lúteo activo secreta progesterona, lo que previene el desarrollo completo del folículo y mantiene la preñez (sinónimo: cuerpo amarillo).

Días Abiertos: Los días abiertos son el periodo comprendido entre el parto y la siguiente preñez de la vaca, con un período ideal de 85-90 días y de esta forma se lograría un intervalo entre parto de un año, es decir un ternero y una lactancia cada año por vaca

Ecografía: La ecografía o ultrasonografía es una técnica en la que se emplea ondas de sonido de alta frecuencia para producir imágenes de los tejidos blandos y órganos internos, las cuales podemos visualizar a través de la pantalla del ecógrafo.

Embrión: Ovulo fertilizado en sus estadíos tempranos de desarrollo.

Espermatozoide: Gameto masculino (célula reproductora) que contiene la mitad del material genético de una célula normal. El espermatozoide posee una cola larga, fina y móvil utilizado para propulsión.

Estro: Período de cerca de seis a 30 horas que cada vaca o novilla posee una vez cada 21 días durante el cual muestra signos de excitación sexual. Los signos típicos incluyen el montar o dejarse montar por otras vacas o el toro. Esta conducta es menos pronunciada en vacas Bos Indicus (cebú) que en las Bos Taurus (vacas europeas como Jersey). La liberación de un óvulo ocurre 10 a 14 horas luego de que los signos de celos finalizan (sinónimo: celo).

Estrógeno: Es una hormona esteroidea producida principalmente por el ovario y responsable por generar el estro y las características sexuales femeninas secundarias.

Fértil: Capaz de producir gametos (espermatozoides, óvulos) que pueden conducir a la

concepción (lo opuesto a estéril).

Fertilización: Proceso en el que dos gametos (un óvulo y un espermatozoide) se unen para formar un cigoto.

Feto: Es el ternero en gestación desde el momento que se implanta en el útero (45 días de preñez) hasta el nacimiento.

Folículo: Estructura vesicular que contiene un óvulo y crece hasta que el mismo madura. Un folículo maduro posee la forma de una ampolla en la superficie del ovario.

Frecuencia:

- Número de mediciones dentro de un intervalo (como en un histograma);
- Número de veces en la que un evento ocurre en una serie de ensayos sobre el total de ensayos que se consideran.

Gestación: Período de cerca de 282 días para las vacas durante el cual un feto en desarrollo se lleva desde la concepción hasta el nacimiento (sinónimo: preñez).

Glándula Endocrina: Glándula carente de conductos como la Pituitaria anterior, tiroides y glándulas adrenales cuyas secreciones pasan directamente desde las células de la glándula al torrente circulatorio.

Glucoproteína: Compuesto formado por una proteína y un hidrato de carbono.

Gónada: Órgano que produce los gametos; un testículo o un ovario.

Gonadotropinas: Grupo de hormonas que actúan o estimulan las gónadas.

Hipotálamo: Parte del cerebro que se encuentra comprometido con la regulación hormonal de la reproducción por medio de la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). El hipotálamo se encuentra también involucrado en la regulación de procesos básicos para el cuerpo tales como temperatura corporal.

Hormona Folículo Estimulante (FSH): Hormona glucoproteica secretada por la pituitaria anterior que estimula el crecimiento de los folículos en el ovario y la producción de estrógenos por el folículo en la hembra; en el macho estimula la producción de espermatozoides.

Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH): Hormona peptídica secretada por el hipotálamo que estimula la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) desde la hipófisis anterior. La GnRH puede inyectarse en pequeñas cantidades para causar la ovulación de óvulos maduros.

Hormona Luteinizante (LH): Hormona Glucoproteica secretada por la glándula pituitaria anterior. En la hembra, la LH induce la ovulación, el desarrollo del cuerpo lúteo y la producción de progesterona. En el macho la LH estimula la producción de espermatozoides y de la hormona testosterona.

Hormona: Sustancia (ya sea proteína, péptido o esteroide) que se secreta en pequeñas cantidades en un órgano, y es transportada por la sangre y es capaz de estimular la función de otro órgano por medio de actividad química.

Implantación: Adherencia del embrión a la pared uterina, proceso que comienza el día 18 de la preñez y se completa el día 45.

Índice de Concepción: Porcentaje de vacas que son confirmadas preñadas luego del servicio. La división de uno por el índice de concepción es igual a servicio por concepción.

Infertilidad: Es una falla transitoria y reversible del estado de fertilidad (por ej.: nutrición, tricomoniasis, vibriosis, etc.). Puede tratarse o prevenirse.

Inseminación Artificial: Es una técnica por medio de la cual un técnico deposita el semen de un toro seleccionado en el útero de una vaca en el momento del estro.

Intervalo entre partos: Intervalo entre dos partos sucesivos de las vacas, generalmente se expresa en meses.

Luteólisis: Degeneración del cuerpo lúteo.

Mastitis: Inflamación de la ubre, causada generalmente por infecciones microbianas y que resultan en dolor y producción de leche con un alto contenido de células blancas de la sangre (se llama conteo de células somáticas).

Medio Ambiente: Es la combinación de todos los factores externos al animal que influyen la expresión de sus genes. (Esto incluye no solo los factores tales como temperatura, humedad y bienestar físico, pero también la historia del crecimiento del animal, nutrición, enfermedades, alimentación actual, la época del año, el número de lactancias, etc.).

Metritis: Inflamación del útero.

Muerte Embrionaria: Pérdida de un embrión antes de la implantación en el útero (primeros 45 días de preñez).

Nanogramo (ng): Masa igual a una billonésima parte de un gramo o 1×10^{-9} (0,000000001 g). La concentración de progesterona es unos pocos nanogramos por mililitro de sangre en la vaca lechera.

Novilla: Término utilizado para referirse a una hembra bovina joven desde el nacimiento.

Ovulación: La liberación de un óvulo (desde un folículo) en uno de los dos ovarios 10 a 14 horas luego del final del estro.

Óvulo: Célula reproductiva femenina que contiene la mitad del material genético de una célula normal (sinónimo: gameto femenino).

Palpación Rectal: Manipulación de varias partes de los órganos reproductivos con una mano insertada en el recto de la vaca, generalmente, para detectar la presencia de un feto en crecimiento o estructura (cuerpo lúteo) en la superficie del ovario.

Pituitaria: Pequeña glándula endócrina adherida a la base del cerebro, y conectada al hipotálamo. La glándula pituitaria secreta hormonas tales como hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y oxitocina.

Preñez: Proceso en que la vaca lleva un feto en desarrollo dentro del útero.

Progesterona: Hormona esteroidea secretada por el cuerpo lúteo y que prepara al útero para la

preñez, previene la recurrencia de ciclos estrales deprimiendo la liberación de FSH y LH por la pituitaria.

Prostaglandina: Hormona secretada por el útero que provoca la regresión del cuerpo lúteo al final de un ciclo estral o la preñez.

Puntaje de Condición Corporal: Puntaje generalmente que varía de 1 (emaciación) a 5 (obesidad) basado en la observación visual o palpación manual de las caderas, base de la cola y tuberosidad isquiática de la vaca para estimar la condición corporal.

Raza: Tipo de animal (vaca) que posee una característica heredable reconocible; especialmente en tipos desarrollados y mantenidos intencionalmente (ejm., Holstein, Pardo Suizo).

Semen: Mezcla de espermatozoides y fluidos producidos en los órganos reproductores masculinos y que es eyaculado durante el apareamiento. El semen puede ser también colectado, procesado y almacenado en tanques de nitrógeno líquido antes de ser utilizado para la inseminación artificial.

Servicio: Apareamiento natural o artificial

Servicios por Concepción: Número de servicios requeridos para obtener una preñez. Servicios por preñez es igual a 1 dividido por el índice de concepción.

Suero: Líquido claro y amarillento que se obtiene al separar los componentes líquidos y sólidos de la sangre entera.

Útero: Órgano del aparato reproductor femenino en el que el feto se desarrolla y crece. El útero posee una pared muscular y se encuentra localizado en la cavidad pelviana.

Vaca Repetidora: Se caracteriza por ser clínicamente sana, pero falla en quedar preñada luego de 3 o más inseminaciones.

Vacia (vaca): Una vaca no preñada

Viabilidad Embrionaria: Es la capacidad de los embriones para ser viables y culminar en terneros vivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aleph (2021). ¿Cómo se llama la grasa de vaca? Obtenido de: <https://aleph.org.mx/como-se-llama-la-grasa-de-vaca>.
- Aréchiga-Flores, C; Cortés-Vidauri, Z; Hernández-Briano, P; Flores-Flores, G; Rochín-Berumen, F; Ruiz-Fernández, E. (2019). Revisión: Función y regresión del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de la vaca. *Revista Abanico Veterinario*. Enero-diciembre 2019; 9(1):1-21. Obtenido de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/abanico/av-2019/av191ze.pdf>.
- Arias, J., & Villasís, M. Á; Miranda, M. G. (2016). El protocolo de investigación III : la población de estudio The research protocol III . Study. *Rev Alerg Méx*, 63(2), 201–206.
- Barros, M. (2014). Agonistas versus antagonistas: resultados en FIV e ICSI. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/29230/TFM_MariaJesusBarrosSanCristobal.pdf;jsessionid=B7DBF10A2419629D915B42C5296CEDEB?sequence=3
- Bearden, J; Fuquay, W. (1982). *Reproducción animal aplicada*.
- Brito , M. (2013). *Efecto de la progesterona post-inseminación en la preñez en vacas Holstein posparto*. (Tesis Maestría en Reproducción Animal). Universidad de Cuenca, Cuenca
- Carvajal, A., & Martínez, E. (2020). El ciclo estral en la hembra bovina y su importancia productiva. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, (246).
- Castañeda, L. (2015). *Fisiología de la reproducción bovina: Desde la monta hasta la implantación embrionaria*. Universidad de la Salle. Retrieved from <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5640/T14.09C275f.pdf?sequence=1>.
- Clemente, M., Fuente, J. D. La, Fair, T., Naib, A. Al, Roche, J. F., Rizos, D., & Lonergan, P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium?, 4. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0152>
- Colazo, M., & Mapletoft, R. (2014). Fisiología del ciclo estral bovino. *Revista ciencias veterinarias*, 16, 31–46.
- Contexto ganadero (2020). ¿Sabe qué es el puerperio y cómo se da en las vacas? Descargado de: <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/sabe-que-es-el-puerperio-y-como-se-da-en-las-vacas>
- Cortés-Vidauri, Z; Aréchiga-Flores, C; Rincón-Delgado, M; Rochín-Berumen, F; López-Carlos, M; Flores-Flores, G. (2018). Revisión: El Ciclo Reproductivo de la Yegua. *Abanico Veterinario*. 8(3):14-41. ISSN-e 2007- 428X, ISSN 2448-6132. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.83.1>
- Crowe, M. A., & Mullen, M. P. (2013). Regulation and Function of Gonadotropins Throughout

the Bovine Oestrous Cycle.

Cunningham, J. (2014). *Fisiología Veterinaria: Quinta edición 607 pp.* (Elsevier, Ed.). España.

Descaragado de:

https://www.academia.edu/31697589/Cunningham_Fisiologia_veterinaria_Evolve_5th_Edition

Chalacán Ramos, J. O. (2015). Evaluación de la dinámica folicular administrando vitaminas y oligoelementos quelatados en el ganado lechero en la Hcda. Santa Ana de Pasochoa, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha (Bachelor's thesis, Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria Y Zootecnia).

D'Hondt, M; Fedorova, M; Peng, Chien-Yu; Gevaert, Bert; Taevernier, Lien; Hoffmann, Ralf; DeSpiegeleer, Bart (2014). Dry heat forced degradation of buserelin peptide: kinetics and degradant profiling. *Int J Pharm.* 5;467(1-2):48-9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.03.043. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24657556/>

Flaquer, J. (2007). Respuesta a la inducción y sincronización del celo con CIDR, GnRH y PGF 2α en vacas de doble propósito en anestro. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 15 p.

Filipiak, Y., Viqueira, M., & Bielli, A. (2016). Desarrollo y dinámica de los folículos ováricos desde la etapa fetal hasta la prepuberal en bovinos. *Veterinaria (Montevideo)*, 52(202), 2–2.

Galina, C; Saltiel, A. (1995). *Reproducción de Animales Domésticos.* (LIMUSA S.A., Ed.). México.

Retrieved from https://www.google.com/search?q=Reproducción+de+Animales+Domésticos,+en,+México+-+México,+Edit.+LIMUSA+S.A.,+pp.+5759.&rlz=1C1CHBD_esEC745EC745&sxsrf=ACYBGNRhxnY9GTlt9_s6y3ANgEYK6cNOog:1575837982221&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=AENA_srmLiKleM%253A%252C7

García, R. (1998). Verdades y Mentiras de la información reproductiva. Jornadas Nacionales CABIA y I del, 75.

Giraldo, J. (2008). Sincronización y resincronización de celos y de ovulaciones en ganado de leche y carne. La Sallista.

De Graaff, W., & Grimard, B. (2018). Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. *Theriogenology*, 112, 34–43.

Gonzales, C. (2004). Inovacion y tecnologia en la ganaderia de doble proposito. Madrid.

Gutiérrez, J. C; Palomares, Gonzalez, R; Portillo, G; Montero, M; Rubio, J; Hernandez, H.

Soto, E. (2009). Shortening the Postpartum Anoestrous Interval in Suckled Crossbred Dual Purpose Cows Using Progestagen Intravaginal Sponges plus eCG and PGF 2 a. *Reprod DomAnim*, 44, 48–54. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00989.x>

- Hacienda el Cucharo (2019). Ciclo Estral de las Vacas. <https://www.haciendaelcucharo.com/post/ciclo-estral-de-las-vacas>
- Hafez, E., & Hafez, B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. (M.-H. Interamericana., Ed.). México. Retrieved from [http://biblioteca.udla.edu.ec/client/en_US/default/search/detailnonmodal/ent:\\$002f\\$002fSD_ILS\\$002f0\\$002fSD_ILS:7077/ada?qu=Hafez.%2C+E.+S.+E&ic=true&te=ILS&ps=300](http://biblioteca.udla.edu.ec/client/en_US/default/search/detailnonmodal/ent:$002f$002fSD_ILS$002f0$002fSD_ILS:7077/ada?qu=Hafez.%2C+E.+S.+E&ic=true&te=ILS&ps=300).
- Hafez, E. S. (2002). *Reproducción e inseminación artificial*. (T. G. F. E. O. 7, Ed.) (ed. Intera). Carolina del Sur, E.E.U.U.
- Hernández, C; Morales, R. (2001). Falla en la concepción en el ganado lechero :Evaluación. *Veterinaria México*, 32(4), 279–287.
- Hernández, J. (2008). *Manual de prácticas de reproducción animal*. Universidad Nacional Autónoma de México. Retrieved from http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60_Reproduccion_Animal.pdf
- Hernández, J. (2016). Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández, J. A; Benítez, J. A; Gómez, A; Moreno, L Antonio (2017). Inseminación artificial animal: Historia y evolución. Obtenido de: <http://tecnocientifica.com.mx/libros/40-Inseminaci%C3%B3n-artificial-animal.pdf>
- Hincapié, J; Campo, E; Blanco, G. (2005). *Trastornos reproductivos en la hembra bovina*. (L. Editores, Ed.) (2da. Ed). Tegucigalpa, Honduras.
- Iglesias, C. (2002). Aplicación posparto de GnRH y PGF2 a para estimular la reactivación ovárica y la fertilidad en ganado lechero. Doi: 10.13140/RG.2.2.24644.27520 https://www.researchgate.net/publication/331135679_Aplicacion_posparto_de_GnRH_y_PGF2a_para_estimular_la_reactivacion_ovarica_y_la_fertilidad_en_ganado_lechero
- Info Ganadería (2018). Los beneficios de la ecografía bovina. Obtenido de: <https://infonegocios.com.py/infoganaderia/los-beneficios-de-la-ecografia-bovina#:~:text=La%20ecograf%C3%ADa%20bovina%20es%20una,tecnol%C3%B3gicos%20para%20su%20mejor%20aplicaci%C3%B3n.&text=%E2%80%9CDiversos%20%C3%B3rganos%20pueden%20examinarse%20por%20ultrasonograf%C3%ADa>.
- INTA (2018). Gestación, parto y cuidados del ternero al nacimiento en bovinos de cría. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_-_gestacion_parto_y_cuidados_del_ternero_al_nacimiento_en_bovinos_de_cria_0.pdf
- Jairo, H. J. (2011). Efecto del manejo del pastoreo y la suplementación alimenticia en vacas lactantes de sistemas especializados sobre su metabolismo energético y proteico

- y el contenido de proteína en la leche. Bogotá: Tesis de doctorado. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/5273/1/hectorjairocorreacardona.2011.parte1.pdf>
- Ladino, M. P; Villeda, J. J. (2013). Efecto de la aplicación de Acetato de Gonadorelina al día 21pos inseminación sobre el porcentaje de reabsorción embrionaria en vacas lecheras). Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1679/1/CPA-2013-047.pdf>
- Lenis, Y; Tamayo, L; Rodríguez, N; Duque, L; Naranjo, J; Carrillo, D, Duque, M; Maldonado, J; Tarazona, A. (2014). *Reproducción de la vaca. Manual didáctico sobre la reproducción, gestación, lactancia y bienestar de la vaca*. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.
- Lesmes, L. (2014). La vaca repetidora (VR) y alternativas de apoyo. Obtenido de Provet: <http://www.laboratoriosprovet.com/expertos-a-su-disposicion/articulos-tecnicos/36-la-vaca-repetidora-vr-y-alternativas-de-apoyo>
- López, G. F., P. Santolaria, A. Martino, F. Deletang, F. De Rensis (2006). The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology* 65(4): 820-830.
- Macas, F. (2017). *Efecto de progesterona inyectable (p4) aplicada en el día 3 postinseminación sobre el cuerpo lúteo y la fertilidad en vacas Brahman y Brown Swiss en el trópico ecuatoriano*. (Tesis Magister en Reproducción Animal). Universidad de Cuenca, Cuenca.
- McNamara, S., Murphy, J. J., Rath, M., & O'mara, F. P. (2003). Effects of different transition diets on energy balance, blood metabolites and reproductive performance in dairy cows. *Livestock Production Science*, 84(3), 195-206.
- Mapletoft, R. J., Bó, G. A., Baruselli, P. S., Menchaca, A., & Sartori R. (2019). Evolución del conocimiento sobre la fisiología ovárica y su contribución a la aplicación de las biotecnologías reproductivas en sudamérica. Simposio Internacional de Reproducción Animal
- Matamoros, R., & Salinas, P. (2017). *Fundamentos de fisiología y endocrinología reproductiva en animales domésticos*. Santiago: Universidad Santo Tomás.
- Murad, S. (2013). La Leche y sus propiedades nutricionales. Obtenido de <https://www.zonadiet.com/bebidas/leche.htm>
- Okuda, K., & Sakumoto, R. (2003). Multiple roles of TNF super family members in corpus luteum function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1, 1–10.
- Orellana, S. (2015). *Efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG) en la tasa de preñez con protocolo de IATF en vacas Swis*. (Tesis pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.
- Orizaba, B., Alba, G., y Ocharán, M. (2013). Farmacocinética de la progesterona. *Rev Hosp Jua*

- Mex*, 80(1), 59-66.
- Pugliesi, G. (2014). Corpus Luteum Development and Function after Supplementation of Long-Acting Progesterone During the Early Luteal Phase in Beef Cattle. *Reproduction in domestic animals*, 49(1), 85-91.
- Ramírez, F. D. (2013). *inseminación artificial y transferencia de embriones en animales domesticos*. Bogota: grupo latino editores.
- Ramos, S., y Nolasco, C. (2016). *Efecto de la aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores de inmunosupresión de hormonas sexuales en lagomorfos*. (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga.
- Raso, M. (2012). *Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (I.A.T.F)*. Obtenido de http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ganaderia46_inseminacion_ovina.pdf
- Rekawiecki, R; Kowalik, M. K, Slonina, D, K. J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. *J Physiol Pharmacol.*, 59(9), 75-89. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261973>.
- Revista GENÉTICA (2020). *Cuál es la vida productiva de una vaca lechera* Obtenido de: <https://revistageneticabovina.com/reproduccion/vaca-lechera/>
- Roche J.R. 2009. Invited Review: Body condition score and its associations with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy. Sci.* 92:5769-5801
- Science&Solutions (2019). *Cómo abordar el balance energético negativo en vacas lecheras*. Obtenido de: <https://bmeditores.mx/ganaderia/como-abordar-el-balance-energetico-negativo-en-vacas-lecheras-2324/>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2018). Obtenido de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/que-es-un-hato-ganadero-y-como-esta-conformado-en-mexico>
- Sheldon, I.M.; H. Dobson. 1993. Effects of gonadotropin releasing hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. *Vet. Rec.* 133: 160-163.
- Sreenan, J. M; Diskin, M. G (1986). El alcance y el momento de la mortalidad embrionaria en lavaca. *Mortalidad embrionaria en animales de granja*, 1-11. doi: 10.1007 / 978-94-009-5038-2_1. ECSC, EEC, EAEC, Brussels-Luxembourg.
- Ungerfeld, R. (2002). *Reproducción en los Animales Domésticos*. Montevideo—Uruguay, Tomo I y II, Edit. Melibea, pp. Retrieved from <https://isbn.cloud/9789974659230/reproduccion-de-los-animales-domesticos-t-1/>
- Vargas, J. (2003). *Curso Intensivo de Inseminación Artificial Bovina, Asociación de Ganaderos de la Sierra y Oriente (AGSO), y Centro de Desarrollo Genético y Capacitación (GENES)*. Quito-Ecuador.
- Velázquez, Cruz J. E. Vázquez Elizondo, C. A. Arvizu Ulloa, R. García Fernández, I.G. (2009).

Efecto de la GnRH pos inseminación sobre la concentración de progesterona y las tasas de concepción en vacas repetidoras Holstein en condiciones de estrés calórico. *Técnica Pecuaria en México* 47(1):107-115.

Velastegui, E. (2012). *Administración de GNRH y HCG POST Inseminación Artificial, para Incrementar la Fertilidad en Vacas Holstein*. (Tesis pregrado). ESPOCH, Riobamba.

Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Cunha, A. P., Giordano, J. O., Fricke, P. M., Diskin, M. G. (2014). Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8(SUPPL. 1), 70–81. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000585>

ANEXOS

ANEXO A: APLICACIÓN DE ACETATO DE BUSERELINA 0.00042 MG. A UNIDADES DE ESTUDIO.



**ANEXO B: RESULTADOS DEL MUESTREO REALIZADO EN LABORATORIO SOBRE
LOS NIVELES DE PROGESTERONA**



LABORATORIO CLINICO ALMOLAB

DIRECCION EN AMBATO: Francisco Flor 620 y Juan Benigno Vela. Sector la Yahura.
Teléfonos: Laboratorio: 032 421 326 0987839296
RUC: 1801633445001 e-mail: almolablaboratorio@gmail.com
Atendemos a domicilio

Ambato, 31 de octubre del 2019

**RESULTADOS DE NIVELES DE PROGESTERONA SÉRICA EN VACAS HOLSTEIN MESTIZAS, CON
APLICACIÓN DE ACETATO DE BUSERELINA 0.00042 mg.**

Grupos de Estudio (Código)	Niveles de Progesterona (ng/mL)
T0	16.26
T0	1.63
T0	2.84
T0	8
T0	6.3
T1	12.55
T1	19.67
T1	21.3
T1	7.7
T1	12.84
T2	23.68
T2	9.34
T2	22.26
T2	29.37
T2	25.89
T3	24.33
T3	14.13
T3	3.67
T3	53.5
T3	53.5
T4	16.83
T4	12.52
T4	20.21
T4	9.43
T4	19.89
T5	14.3
T5	2.57
T5	13.3
T5	14.62
T5	22.11

DR. Juan Antonio Álvarez

TECNICO DE LABORATORIO ALMOLAB

ANEXO C: ECOGRAFÍA VIABILIDAD EMBRIONARIA

