

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE
DE DIOS.
FACULTAD DE INGENIERIA.
ESCUELA PROFESIONAL DE
MEDICINA VETERINARIA - ZOOTECNIA**



**“CRECIMIENTO FOLICULAR Y NIVELES SERICOS DE
PROGESTERONA EN VACAS CRIOLLAS SOMETIDAS A PROTOCOLOS
DE SINCRONIZACION DE CELO EN EL CENTRO DE DESARROLLO
GANADERO (CEDEGA) - PUERTO MALDONADO”**

TESIS PRESENTADO POR:

BACHILLER: VARGAS OLGADO, Clinton

PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE:

MEDICO VETERINARIO – ZOOTECNISTA.

ASESOR: MVZ. TRONCOSO VARGAS, Ramon.

CO-ASESOR: MVZ. ORMACHEA VALDEZ, Edwin.

PUERTO MALDONADO 2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE
DE DIOS.
FACULTAD DE INGENIERIA**

**ESCUELO PROFESIONAL DE
MEDICINA VETERINARIA - ZOOTECNIA**



**“CRECIMIENTO FOLICULAR Y NIVELES SERICOS DE
PROGESTERONA EN VACAS CRIOLLAS SOMETIDAS A PROTOCOLOS
DE SINCRONIZACION DE CELO EN EL CENTRO DE DESARROLLO
GANADERO (CEDEGA)- PUERTO MALDONADO”**

TESIS PRESENTADO POR:

BACHILLER: VARGAS OLGADO, Clinton

PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE:

MEDICO VETERINARIO – ZOOTECNISTA.

ASESOR: MVZ. TRONCOSO VARGAS, Ramon.

CO-ASESOR: MVZ. ORMACHEA VALDEZ, Edwin.

PUERTO MALDONADO 2018

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, la salud y por haber estado conmigo, brindándome fortaleza para seguir. A mis padres, Francisco Vargas Condori y Vicentina Olgado Mamani, quienes velaron por mi bienestar y educación, siendo mí apoyo en todo momento. A mi esposa Ruth Marilin zuel Ramos y mi hijo Eduardo Francisco Vargas Zuel por sus palabras y confianza, por su amor y brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente. A mis hermanos, Florentino, Mario, Alfonso, Timoteo, Nixon y Delford Smiker por su apoyo durante mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

Dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy y por acompañarme siempre en todo momento, por haber puesto en mi vida a aquellas personas que fueron mi soporte durante mi formación académica y personal.

Un agradecimiento especial a mis padres Francisco y Vicentina, por su apoyo constante, por confiar en mí, gracias por apoyo brindado para así cumplir esta meta. Como también a mis hermanos, por estar unidos siempre y por apoyarme.

Un eterno agradecimiento a mi esposa Ruth Marilyn Zuel Ramos y mi hijo Eduardo Francisco Vargas Zuel, por la motivación y apoyo durante todo este proceso de mi formación profesional.

Agradecer también a la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios (UNAMAD), por ser alma mater de mi formación profesional.

A mis docentes al MVZ. Ramon Troncoso Vargas asesor del presente trabajo de investigación, agradezco por la orientación, supervisión y elaboración del presente trabajo. Como también a mi docente M.Sc. MVZ. Edwin Ormachea Valdez, agradecerlos infinitamente por su apoyo incondicional durante la ejecución y redacción de este trabajo investigativo.

A mis amigos, Eloy, Hipólito, Rui Angel, Juan Carlos y Robinson que me apoyaron en la ejecución de la investigación y por acompañarme en los momentos más difíciles de esta etapa, gracias por brindarme su amistad.

Al Centro Desarrollo Ganadero de Madre de Dios "CEDEGA" por haberme permitido realizar el presente trabajo de investigación en su fundo ganadero.

PRESENTACION

El presente trabajo de investigación estudio el crecimiento folicular y los niveles séricos de progesterona en hembras bovinas de la raza criolla. Por lo tanto, se evaluó el crecimiento folicular a través de ecografía así mismo el nivel sérico hormonal de progesterona (P₄) a través de la técnica de Radio inmunoanálisis (RIA). Existen trabajos de investigación que hacen referencia al crecimiento folicular y nivel sérico de P₄ en ganados bovinos; sin embargo, en la región de Madre de Dios no existen trabajos relacionados a este tema, constituyendo imprescindible dicha investigación, aportando conocimiento al área enfocado a la reproducción animal.

La importancia de conocer el crecimiento folicular y los niveles séricos de progesterona en las vacas, servirá como aporte al estudio de la fisiología reproductiva de ganados, además permitirá poder realizar otros trabajos de investigación en la región de Madre de Dios. Por ello el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento científico para la aplicación de nuevas biotecnologías.

En el presente estudio fueron sometidos ganados de la raza criolla a un estudio por ultrasonografía reproductiva y a la cuantificación del nivel hormonal de P₄ sérico.

RESUMEN.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento folicular y los niveles séricos de progesterona en vacas criollas sometidas a protocolos de sincronización de celo; la investigación fue realizada en el CEDEGA de la ciudad de Puerto Maldonado, que está ubicada en el distrito y provincia de Tambopata, de la Región de Madre de Dios. El centro cuenta con 200 has de pastos con un tipo de producción semi intensivo. Fueron seleccionadas 10 vacas ginecológicamente sanas evaluadas a través de ecografía transrectal. El análisis de la muestra sanguínea fue realizado en el “Laboratorio Clínico Promedicas SRL”- Puno, mediante el método de Radioinmuno-análisis (RIA); las muestras de sangre y el procedimiento de ecografía ovárica fueron tomados en 3 momentos durante el tratamiento con el PROTOCOLO I y II. Para el análisis de datos se usó Statgraphics centurion XVII. El diámetro folicular al momento de colocar y retirar el CIDR fue 10.20mm y 10.32mm respectivamente para el protocolo I; y para el protocolo II fue 9.64mm y 10.52mm, no habiendo diferencia estadística significativa en cada protocolo. El nivel de P₄ para el Protocolo I fue de 5.3 ng/ml (día 0); 4,5 ng/ml (día 8) y 0,17ng/ml (día 10), así mismo el Protocolo II mostro 1,6 ng/ml (día 0); 3,1 ng/ml (día 5) y 0,82 ng/ml (día 7) siendo diferente significativamente ($p > 0.05$), en cada protocolo. Finalmente, el porcentaje de fertilidad en el presente estudio fue; 60% (Protocolo I) y 40% (Protocolo II).

Palabras claves: Criollo, progesterona (P₄), tasa de preñez, crecimiento folicular.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate follicular growth and serum progesterone levels in Creole cows subjected to heat synchronization protocols; the investigation was carried out in the CEDEGA of the city of Puerto Maldonado, located in the district and province of Tambopata, of the Madre de Dios Region. The center has 200 hectares of pastures with a semi-intensive type of production. Ten gynecologically healthy cows evaluated by transrectal ultrasound were selected. The analysis of the blood sample was carried out in the "Laboratorio Clínico Promedicas SRL" - Puno, using the method of Radioimmunoassay (RIA); Blood samples and the ovarian ultrasound procedure were taken at 3 times during treatment with PROTOCOL I and II. Statgraphics centurion XVII was used for data analysis. The follicular diameter at the time of placing and removing the CIDR was 10.20mm and 10.32mm respectively for protocol I; and for protocol II it was 9.64mm and 10.52mm, with no significant statistical difference in each protocol. The P4 level for Protocol I was 5.3 ng / ml (day 0); 4.5 ng / ml (day 8) and 0.17ng / ml (day 10), likewise Protocol II showed 1.6 ng / ml (day 0); 3.1 ng / ml (day 5) and 0.82 ng / ml (day 7) being significantly different ($p > 0.05$), in each protocol. Finally the percentage of fertility in the present study was; 60% (Protocol I) and 40% (Protocol II).

Keywords: Creole, progesterone (P₄), pregnancy rate, follicular growth.

INTRODUCCION

En el trópico del Perú, la ganadería bovina años atrás vino dándose con demasiadas deficiencias, debido a problemas sociales y a la falta de una política por parte del estado; sin embargo, ha mejorado considerablemente la situación económica de la población peruana, como también los problemas sociales disminuyeron posibilitando más oportunidades para la implementación de ganaderías tecnificadas. La hembra bovina es un animal poliéstrica anual y el ciclo estral dura en promedio 18 - 24 días, además el celo presenta una variación entre 6 y 18 horas, con una ovulación que ocurre 24 a 30 h después de haber iniciado el celo (1) (2); a mediados de 1980, varios investigadores comenzaron a usar en tiempo real la ecografía transrectal para monitorear todo el proceso de la dinámica folicular ovárica en los animales domésticos, especialmente en vacunos y caballos (3); (4); (5). Durante el ciclo estral se observan ondas foliculares, estas ondas pueden presentarse en la pubertad (6), el proceso de la gestación y del periodo postparto (7). En las vacas que presentan dos ondas foliculares, el desarrollo de la onda folicular uno surge el día 2 del ciclo y el desarrollo de la segunda onda folicular se da en el día 11, estableciéndose 9 días de diferencias en las emergencias de las ondas. En ciclos que se dan con 3 ondas foliculares, estos se desarrollan en los días 2, 9 y 16 del ciclo estral con diferencias de 7 días entre cada onda (8). La nivel de P_4 en plasma tiene influencia sobre la cantidad de onda folicular que se desarrolla en el ciclo estral (9); (10), los ciclos estrales con tres ondas presentan el periodo luteal más largo (11), por lo tanto, la diferencia estral es más largo, a diferencia del ciclo estral con dos ondas (10). Los antecedentes referentes a estudios de determinación del diámetro folicular y evaluación del nivel sérico de P_4 en vacas, no se ha investigado en nuestra región. La presente investigación determinará el crecimiento de los folículos ováricos y el comportamiento del nivel hormonal de progesterona en vacas con el uso de protocolos de sincronización (PROTOCOLO I y II), los resultados obtenidos servirán como aporte al estudio de la fisiología reproductiva del ganado, cuyos datos permitirán aplicar biotecnologías para la reproducción animal.

INDICE

CAPITULO I: PROBLEMA DE la INVESTIGACION	1
1.1 Descripción del problema.	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.3 Objetivos.	3
1.4 Variables.....	3
1.5 Operacionalizacion de variables.	4
1.6 Hipótesis.....	4
1.7 Justificación.....	5
1.8 Consideraciones éticas.....	6
CAPITULO II: MARCO TEORICO	7
2.1 Antecedentes de estudio.	7
2.2 Marco teórico.....	9
2.2.1 El bovino criollo.....	9
2.2.2 Importancia socioeconómica del ganado criollo	9
2.2.3 Vida reproductiva en el bovino	11
2.2.4 Ciclo estral.....	12
2.2.5 Dinámica y onda folicular.....	15
2.2.6 Endocrinología reproductiva del bovino.....	18
2.2.7 Aplicación de la ecografía en la reproducción bovina	23
2.2.8 Ecografía de la dinámica folicular ovárica.....	25
2.2.9 Métodos de laboratorio para determinación de hormonas reproductivas... ..	27
2.2.10 Inseminación artificial (IA).	28
2.2.11 Diagnóstico de preñez.....	29
CAPITULO III: METODOLOGIA DE INVESTIGACION	32
3.1 Ubicación del área de estudio.....	32
3.2 Tipo de estudio.	32
3.3 Diseño de estudio.	32
3.4 Población y Muestra.	33
3.5 Métodos y Técnicas.....	34
3.5.1 Determinación del crecimiento folicular.	34
3.5.2 Determinación del nivel hormonal.	36

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES DEL TRABAJO DE INVESTIGACION	38
4.1. Respuesta ovárica en vacas criollas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.	38
4.2. Niveles séricos de progesterona (P ₄), de muestras de sangre en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.	40
4.3. Porcentaje de fertilidad en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.	42
CONCLUSIONES	45
SUGERENCIAS	46
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	47
ANEXOS	56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Selección de animales para el experimento.....	60
Figura 2. Materiales y equipos que se usaron.....	60
Figura 3. Procedimiento de ecografía en bovinos criollos.....	61
Figura 4. Selección de vacas haciendo uso de ecografía transrectal.....	61
Figura 5. Comportamiento de estro en vacas sincronizadas.....	62
Figura 6. Inseminación Artificial al finalizar los protocolos de sincronización de celo.....	62
Figura 7. Imagen ecográfica del folículo ovárico en el día 0.....	63
Figura 8. Diagnóstico de preñez a los 30 días postinseminacion.....	63

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables.	4
Tabla 2. Distribución de animales.....	34
Tabla 3: Periodos de ecografía y toma de muestras de sangre por animal.	37
Tabla 4. Respuesta ovárica en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios....	38
Tabla 5. Niveles séricos de progesterona (P ₄), de muestras de sangre en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.	41
Tabla 6. Porcentaje de fertilidad en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.	42

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Registro de niveles hormonales.....	57
Anexo 2. Registro de identificación de animales.....	58
Anexo 3. Registro de crecimiento folicular por ecografía.	59
Anexo 4. Panel fotográfico de la ejecución de la investigación.	60

CAPITULO I: PROBLEMA DE LA INVESTIGACION

1.1 Descripción del problema.

La región de Madre de Dios durante los últimos años está presentando un crecimiento poblacional acelerado, sin embargo, se viene dando menos importancia a la producción ganadera, especialmente a la producción de ganado bovino, la disminuida importancia se ve reflejada por parte de entidades competentes. Aun no se aplican biotecnologías reproductivas más allá de la inseminación artificial, por existir escasos conocimientos y/o reportes emitidos en relación al clima que presenta esta calurosa ciudad; aspectos como la fisiología reproductiva constituye el pilar para poder entender el comportamiento reproductivo en ganados bovinos.

El éxito de la ganadería bovina está relacionado con un factor importante que es la eficiencia reproductiva. La deficiencia al momento de reconocer de manera clara y específica, las características del ciclo reproductivo y los mecanismos neuro-endocrinos que influyen en el comportamiento reproductivo del animal, bajo ambientes de trópico, constituyen una de las causas de ineficiencia en la reproducción animal, generando pérdidas económicas en los sistemas de crianza bovina (12).

La producción de ganado bovino en áreas tropicales, se desarrolla de manera extensiva dependiendo, de entre muchos factores, el estado de las pasturas y el mantenimiento de las mismas (13,14). Dentro de las causas principales en pérdidas económicas en la producción del ganado bovino en el trópico, se debe de considerar el retraso del desarrollo sexual (15),

asimismo los intervalos prolongados entre parto - partos, y parto - primer celo (16) y de una pobre tecnificación como aspectos limitantes (17). Hoy en día existen diferentes tecnologías, factibles de ser implementadas para contribuir al mejoramiento genético de los animales y de este modo incrementar los índices productivos, como la Inseminación Artificial (IA), considerándose como una técnica para el mejoramiento genético en centros de producción de ganados (18). Sin embargo, es muy limitada la aplicación de esta en manejos de tipo extensivos, esto es principalmente debido a la existencia de dificultades en el manejo animal, un comportamiento de carácter arisco, una conducta de celo menos visible (19). La manipulación del ciclo reproductivo es una alternativa para permitir la facilidad de manejo y contribuir a reducir los prolongados intervalos entre partos, esto se da con el uso de hormonas sintéticas que permiten la sincronización de los celos en un grupo de animales, facilitando así un masivo uso de la IA, como alternativa para el mejoramiento genético (16).

El presente estudio se realizará con el propósito de conocer el diámetro folicular y el nivel sérico de progesterona que existe durante la sincronización de celo con el uso del PROTOCOLO I y II en vacas criollas. Por lo tanto, se tendrá mayor conocimiento de la fisiología reproductiva del bovino, permitiéndonos la manipulación del ciclo estral con hormonas, mejorando así el comportamiento reproductivo de los ganados en la selva de Madre de Dios.

1.2 Formulación del problema.

¿Cuánto es el diámetro folicular y la concentración de los niveles séricos de progesterona en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en la región de Madre de Dios?

1.3 Objetivos.

Objetivo general.

- Evaluar el crecimiento folicular y los niveles séricos de progesterona en vacas criollas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el centro de desarrollo ganadero de la región de Madre de Dios.

Objetivo específico.

- Determinar el diámetro folicular durante la aplicación de protocolos de sincronización de celo.
- Determinar los niveles séricos de progesterona (P₄), de muestras de sangre mediante radio-inmunoanálisis.
- Determinar la tasa de preñez de los protocolos de sincronización de celo.

1.4 Variables.

Variable dependiente

- Nivel hormonal de Progesterona (P₄).
- Diámetro de los folículos
- Taza de preñez

Variable independiente

- Bovinos de la raza Criolla.

1.5 Operacionalización de variables.

Tabla 1. Operacionalización de variables.

Variable dependiente:

Nº	Indicador	Criterios	Definición operacional
1	Diámetro de folículos.	mm	Es la medida del tamaño de los folículos para determinar las ondas foliculares de la raza Criolla. Utilizando un ecógrafo veterinario.
2	Nivel hormonal Progesterona.	ng/ml	Concentración en nanogramos de progesterona/ml de sangre. Análisis laboratorial por Radio-inmunoanálisis (RIA).
3	Taza de preñez	preñez	Manifestacion comportamental de la hembra bovina para lograr la preñez.

Fuente: Elaboración propia.

Variable independiente:

Nº	Indicador	Criterios	Definición operacional
1	Bovinos de la raza Criolla.	Unid	Selección de animales de acuerdo a las características zootécnicas de la raza Criolla

Fuente: Elaboración propia.

1.6 Hipótesis.

Hi: Es probable que los niveles séricos de progesterona y crecimiento folicular sean diferentes para el Protocolo I vs Protocolo II.

Ha: Es probable que los niveles séricos de progesterona y crecimiento folicular sean similares para el Protocolo I vs Protocolo II.

1.7 Justificación.

Los escasos estudios científicos sobre la reproducción animal, en particular en la especie bovina en el trópico de Madre de Dios, constituye un problema, en especial temas en relación a los cambios del nivel hormonal y al crecimiento folicular en los ovarios de ganados durante el tratamiento con métodos de sincronización de celo. Por lo tanto, este conocimiento aportara un peldaño más en la investigación de la ganadería bovina en la región de Madre de Dios; permitiendo mejorar el comportamiento reproductivo de los ganados en la selva de Madre de Dios, aplicar nuevas biotecnologías reproductivas como la IATF, programas de transferencia de embriones, fecundación in vitro y otros; además permitirá elevar el progreso genético de los bovinos y por ende viéndose reflejado en el incremento de la producción de carne y leche, paralelo a ello, mejorar condición de vida de los ganaderos del sector agrario.

En la región de Madre de Dios, la producción de ganado bovino está dirigida para la obtención de carne principalmente, por lo que la mejora de la raza criolla constituye un avance extraordinario en su genética, para el logro de animales más pesados y con elevados índices de ganancia diaria al menor costo, adaptándose a las condiciones climáticas con resistencia a las parasitosis externas.

1.8 Consideraciones éticas.

El propósito principal del trabajo de investigación durante la ejecución fue; desarrollar la investigación con métodos apropiados que incluyan responsabilidades y obligaciones que nos permitan mejorar el bienestar del animal, con el propósito de obtener datos en el estudio. De manera que, mientras más se cubrieron las necesidades, mayor fue el estatus de bienestar del animal.

Para el desarrollo de esta investigación, se tomó los siguientes aspectos éticos: En el proceso de la investigación, no se incurrió en faltas durante la experimentación de los animales. Los animales seleccionados fueron de calidad apropiada, utilizamos el mínimo número requerido para obtener resultados tomando en cuenta la sensibilidad humana sin generar el discomfort, la angustia o el dolor de los animales, se informó correctamente a las personas involucradas sobre el trabajo de investigación, y así también de como los resultados podrían beneficiarlos. Finalmente, no se aplicó la eutanasia de los animales.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de estudio.

En el contexto internacional se tienen varios estudios; D'Enjoy en la investigación **“DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN VACAS BRAHMAN”** evaluó 12 vacas Brahman, donde el ciclo estral tuvo un tiempo promedio de $21,3 \pm 0,7$ días con un rango 19–24 días. El 75% de los ciclos estrales evaluados mostraron dos ondas de desarrollo folicular, apareciendo en los días $1,6 \pm 0,4$ y $8,4 \pm 0,4$ del ciclo estral; mientras el ciclo reproductivo con tres ondas, estos emergieron los días 2, 10 y 17 del ciclo estral. En la investigación la tasa de crecimiento se presenta mayor en el folículo dominante (FD1= $0,78 \pm 0,1$ mm/d; FD2= $0,40 \pm 0,1$ mm/d), comparado con los folículo subordinado (FS1= $-0,01 \pm 0,1$ mm/d; FS2= $0,22 \pm 0,1$ mm/d) (20).

En otro estudio Moreira Viana, *et al.* (2000) (21) en la investigación **“DINÁMICA FOLICULAR EN EL GANADO CEBÚ”** evaluaron el crecimiento folicular ovárico y los niveles séricos de progesterona, reportando ciclos con dos (6,67%), tres (60,00%), cuatro (26,67%) y cinco (6,67%) ondas foliculares y el diámetro máximo del folículo ovulatorio fue mayor que el diámetro de los otros folículos dominantes en ciclos con cuatro ondas, y mayor que el diámetro del segundo folículo dominante en ciclos con tres ondas, las vacas mostraron una duración del ciclo estral de $21,11 \pm 1,76$ y $22,25 \pm 1,71$ días y niveles de progesterona durante el diestro de $4,48 \pm 1,45$ y $5,08 \pm 1,40$ ng / ml en los ciclos con tres o cuatro ondas. La dinámica folicular en el ganado Gyr se

caracteriza por una mayor incidencia de ciclos con tres o cuatro ondas foliculares, asociados a una baja persistencia del folículo dominante.

En otro estudio realizado en Brasil, Coutinho, *et al.* (22) en el estudio **“EVALUACIÓN ULTRASONOGRAFICA DE LA DINÁMICA FOLICULAR Y LÚTEA EN VACAS DE LA RAZA GUZERA”** obtuvieron una duración de ciclo estral ($19,10 \pm 1,86$ días), porcentajes de ondas foliculares en las hembras bovinas Guzerat que fueron ciclos estrales con 3 ondas (50%), ciclos con 2 ondas (37,5%) y 4 ondas (12,5%) respectivamente, obtuvieron un diámetro máximo de los folículos dominantes no ovulatorios de $11,60 \pm 2,37$ mm, y de los folículos ovulatorios de $14,4 \pm 0,5$ mm y finalmente obtuvieron una concentración máxima de P_4 de $5,50 \pm 0,92$ ng / ml en el diestro, concluyeron que las características referentes a la dinámica folicular de la raza Guzerat son similares a otras razas cebuinas.

En el ámbito nacional, un estudio fue realizado en PUNO (Chuquibambilla)-Perú sobre **“LA DINÁMICA OVÁRICA Y TASA DE PREÑEZ”** en este estudio se evaluaron vacas de raza Brown Swiss, siendo sometido a dos protocolos de sincronización, demostrando que no presenta diferencias ($p > 0.01$) en el tamaño referente a los folículos ovulatorios (16,60 mm y 16,56 mm), al tamaño del cuerpo lúteo (CL) de gestación (24,15mm y 23,73mm) y la tasa de fertilidad (66,67% y 68,75% respectivamente). Los dos protocolos de sincronización lograron un buen desarrollo folicular y altas tasa de fertilidad en vacas Brown Swiss manejadas en condición de altura y al pastoreo (23).

En el ámbito regional; Madre de Dios, es una región que está en pleno desarrollo en el ámbito de investigación, por lo cual, aún no existen reportes emitidos que hacen referencia al estudio de la determinación del diámetro folicular y nivel sérico de progesterona en vacas criollas.

2.2 Marco teórico

2.2.1 El bovino criollo

Durante la colonización americana en el siglo XVI, los animales introducidos en dicha época serian causales para la descendencia del ganado criollo, en el transcurso de 500 años, los animales reconfiguraron su constitución genética de acuerdo a las condiciones del lugar de vida (24) Es así como se dio origen al ganado criollo, animal con carácter de triple propósito (carne, leche y tracción con carácter de rusticidad y adaptabilidad) siendo de gran importancia ya que se dio un rápido incremento del total de animales en el país. El bovino criollo en nuestro país está adaptado a su entorno local y es poco estudiada (25). Una característica importante es que los ganado criollos no fueron sometidos a ningún proceso de selección ni mejoramiento, de manera que estos presentan índices productivos bajos; por otro lado están adaptados a entornos muy agrestes, entornos con baja infraestructura y poca disponibilidad de pastos (26).

2.2.2 Importancia socioeconómica del ganado criollo

El ganado de la raza criollo es modesto, cada día es aún más aceptado en diferentes ganaderías de distintos ámbitos del país. El ganado criollo tiene excelentes cualidades, como son: alta tasa de preñez, muy buenas al parto, crías conformación de carne y habilidad lechera, tienen resistencia ecológica, calidad de esqueletos, carne magra, muy resistente a parásitos y enfermedades, longevas entre otras cualidades zootécnicas que fueron bien estudiados por los ganaderos de vacas criollas (27).

2.2.2.1 Características cualitativas y cuantitativas del ganado criollo

La docilidad es una característica representativa del ganado criollo, en el cual se ve afectada por su manejo. La costumbre de pastoreo o ramoneo lo hace distintas de otros miembros del hato (28).

Las características del ganado criollo obedece a la condición de razas del trópico, aunque no muestra la finura y perfección al igual que los ganados europeos, no se pueden desechar estas características, debido a que son seres vivientes que el ambiente ha formado, cuyas fisiologías se ajustan a la condición del hábitat de vida, por tanto tiene un alto valor biológico irremplazable (29).

El ganado criollo es de temperamento dócil, lo cual le brinda una notable domesticación, esta característica facilita su mejor manejo en crianza extensiva, y además se puede desarrollar de programas de retrocruza para la producción de ganado de carne (30) (31).

La adaptación del vacuno criollo se expresa principalmente por soportar elevadas temperaturas de calor, en ningunas de las épocas del año manifiesta síntomas del estrés calórico, la gran adaptabilidad también se puede observar por las formas de soportar la pobreza del suelo, las topografías accidentadas, la escasez de los pasto y el mal manejo (32).

El ganado criollo presenta gran rusticidad como cualidad permitiéndole desarrollarse normalmente en su medio natural sin ocurrir alteraciones desfavorables, siendo una propiedad fisiológica heredable y generalmente se manifiestan en la parte externo del animal, en el comportamiento funcional y en su habitual conducta, su conformación es reflejo de su hábitat, por lo tanto estas razas no presentan la conformación de armonía y la finura propia de las demás razas selectas bien alimentadas (33).

La fertilidad nos indica que tiene la capacidad garantizada de generar prole abundante de forma normal y sana. Por lo tanto, se puede mencionar que esta es una importante cualidad que se exhibe en esta raza, por la gran adaptabilidad a las condiciones naturales del medio en la cual se han desarrollado.

Los animales criollos se han adaptado al ambiente, tolerando al calor, con rusticidad y vigorosidad, por lo tanto; son muy resistentes y sanos, reflejando su longevidad. El ganado criollo presenta un promedio de 12 partos durante su vida, esto da a conocer que tiene una longevidad aproximadamente de 15 años. La longevidad es una característica de importancia económica, debido a que estos nos permiten compensar el retardo en que ocurre o inicia su vida reproductiva, es lógico que una vaca con característica de longevidad y fecundidad, que dan 12 crías en su etapa reproductiva, con periodos cortos de intervalos entre partos, convienen económicamente versus otras vacas que solo puede darnos 5 crías en 8 años (34).

Las vacas criollas son buenas madres, proporcionando una gran cantidad de leche, los amamantan regularmente y manifiestan el instinto materno, las vacas criollas tienden a inhibir la secreción de leche en ausencia de cría (27).

2.2.3 Vida reproductiva en el bovino

La vida reproductiva de las vaquillas empieza con el inicio de la pubertad, el cual incluye primero la ovulación y la conformación del cuerpo lúteo (CL). En el inicio de la pubertad incluye la habilidad del hipotálamo para producir la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en suficientes cantidades, así mismo promover un incremento al máximo nivel de la hormona luteinizante (LH) y una posterior ovulación; esto depende de los factores como la raza o genotipo, peso corporal, nutrición y estación del año. La actividad ovárica disminuye con la edad (senescencia); el 55% de las vacas se considera infértiles a los 13 años de edad (35). Durante su vida reproductiva, las hembras presentan muchos ciclos reproductivos, un ciclo estral es definido como una serie de cambios que ocurren en la mayoría de los mamíferos hembras durante el intervalo desde un estro al próximo estro (35).

2.2.4 Ciclo estral

La hembra bovina es un animal poliéstrico, con un ciclo estral promedio de 18 a 24 días, además un celo con variación de entre 6 a 18 horas, con una ovulación que se da 24 a 30 h luego de haber iniciado el celo (1). El ciclo estral ocurre independiente de la estación del año (2). El ciclo estral se divide en dos fases en función de las estructuras dominantes desarrolladas en el ovario: la fase folicular y luteínica. En la fase folicular, la estructura primaria presente en el ovario es un folículo dominante que produce estradiol; esta fase corta representa (20% del ciclo estral) y se da después de la regresión del CL, con la ovulación del folículo dominante. La segunda fase es la fase luteínica siendo mucho más larga, representando (80% del ciclo estral), donde presenta como estructura dominante, el cuerpo lúteo; que produce P_4 segregando desde la ovulación (36). El ciclo estral del ganado bovino se da en diferentes fases o periodos, denominándose: proestro, estro, metaestro y finalmente el diestro (37) (38).

2.2.4.1 Proestro

La etapa del proestro tiene una duración de 1 a 3 días aproximadamente, en esta fase ocurre una disminución en la secreción de P_4 debido a la regresión del CL (39). El folículo de Graff se desarrolla, de este modo incrementa los niveles de estrógenos (E_2) en sangre, y posterior a esto se da el periodo del estro. También se indica que el proestro se presenta 3 días; esto empieza con la regresión del CL del ciclo reproductivo anterior y termina con la expresión del celo, es importante mencionar que la prostaglandina es el agente que produce luteolisis y que este llega al ovario mediante el mecanismo de contracorriente (40).

Para Arthur, este periodo es la fase anterior al periodo del estro, en donde existe un mayor aumento en la actividad de los órganos reproductivos, donde ocurre de esta manera la ruptura del CL, los folículos se desarrollan rápidamente, el útero se dilata con mucosas congestionadas y edematosas, la mucosa vaginal se vuelve hiperémica y las células epiteliales se cornifican incrementando su secreción (38).

2.2.4.2 Estro

La duración del periodo del estro es variable en el ganado bovino, el promedio es de 18 horas, la ovulación ocurre a las 10 o 14 horas posteriores a la finalización del estro. La hormona ovárica predominante en la etapa del estro es el estrógeno (17 beta estradiol) (39). Bath *et al.* (1982) (41), mencionan que el estro en las vacas incluyen señales como; montar a otras vacas, ponerse tranquila cuando la monta es de otra vaca, un flujo cristalino de la vulva, la dilatación vulvar, están inquietas y a veces hacen los mugidos.

Durante esta fase, dada a las concentración alta de estrógeno, este logran alcanzar el umbral en la estimulación del centro cíclico hipotalámico, de manera que las células neuronales hipotalámicas llega a generar el pico de GnRH y el pico de LH respectivamente (37). Aproximadamente 4 a 12 horas después de la onda de LH, existe incrementos en la concentración basal y amplitud de los pulsos de FSH (41).

El estro es el periodo en que la vaca presenta receptividad, dando inicio al ciclo ovárico presentándose de 15-21 horas (con una amplitud entre 6-24 horas). El estradiol logra alcanzar niveles altos, a diferencia de la P₄ que desciende a niveles mínimos. La ovulación es dada debida al estradiol y se da entre 24 y 36 horas después de haber iniciado el estro. Dicho estradiol estimulara la liberación de GnRH, que a su vez provocara la liberación de la LH a nivel hipofisario (36).

2.2.4.3 Metaestro

Ocurre después del estro, que dura entre 3 a 4 días, existe una disminución del nivel estrogénico y a la vez ocurre el desarrollo del CL. En esta fase comienza a existir secreción de P₄ con un incremento progresivo durante este periodo, otro hecho importante es que se puede lograr observar descarga de sangre vaginal en las vacas adultas (50%) y en vaquillas (90 %) (39).

Existen características internas que ocurren durante este periodo como: la ruptura del folículo y la ovulación, el útero tiene un tono erecto, el endometrio se prepara para recibir el posible embrión, finalmente existe un estímulo del crecimiento inicial del CL (37).

Por otro lado hay autores que clasifican el ciclo estral en forma diferente a la clasificación tradicional (42), siendo 3 fases: fase folicular o de regresión lútea (proestro), fase preovulatorio (estro y metaestro), fase luteal (diestro).

El ciclo reproductivo posee un lapso de 20 días (novillas) y 21 días (vacas) en condiciones normales y el periodo normal es de 18 a 22 y 18 a 24 días (38). Las conductas sexuales de maneras rítmicas en las vacas se inician en la pubertad y continúan en las vacas por el resto de sus vidas reproductivas a intervalos regulares, interrumpiendo cuando se da la concepción. El periodo entre celo y celo se denominará ciclo estral. El tiempo que durara del ciclo estral es variable entre 18 a 22 días, en las vacas adultas este periodo puede variar desde 17 a 25 días en (promedio general se da cada 21 días). El ciclo reproductivo consta de 4 fases: pro estro, estro, metaestro y diestro. Las fase del proestro y estro son denominados como fase folicular ó estrogénica y las fases de metaestro y diestro son denominadas como fase lútea o progestacional (39). El periodo del ciclo estral es de 18 a 24 días con una media de 21 días y la ovulación se da de 10 a 15 horas después de culminado el estro (37).

2.2.4.4 Diestro

El diestro, tiene una duración de entre 12 - 15 días, caracterizándose por la existencia del CL y la liberación de P₄ es mayor comparando con el periodo del metaestro (39). Es el periodo donde se producirá la lisis del C (37). Por último, el diestro constituye el periodo más largo del ciclo estral, transcurren desde el día 5 al 18 del ciclo ovárico y es el periodo donde el CL es completamente funcional y las concentraciones de progesterona es alto y termina con la regresión del CL (36).

2.2.5 Dinámica y onda folicular.

Durante los años de 1980, varios investigadores empezaron a usar en tiempo real la ecografía transrectal, para monitorear la dinámica folicular ovárica en los animales domésticos, especialmente en vacunos y caballos (3); (4); (5).

2.2.5.1 Ondas foliculares

Una onda de crecimiento folicular se desarrolla durante el ciclo estral del bovino que llevara a cabo la ovulación. Una onda folicular completa, constituye el desarrollo sincrónico entre 3 a 6 folículos pequeños, empezando con tamaños de 4 a 5 mm, con la selección de un folículo dominante (43); (44). A través de una observación constante de ondas foliculares vía ecografía, el bovino tiene en cualquier parte, de una a cuatro ondas foliculares (45); (43). Además, los estudios han mostrado que un 95% de ciclos estrales de bovinos contienen dos o tres ondas (46); (47); (48).

Un animal con 2 ondas foliculares, tendrán la emergencia de las ondas foliculares aproximadamente el día 2 y el día 10 del ciclo estral (45). Un animal con 3 ondas foliculares, tendrán la emergencia de ondas al alrededor de los días 2, 9, y 16 (45). Una cuarta onda es observada y se caracteriza por luteolisis tardía o fracaso para ovular, el número de ondas no parece estar relacionado con los factores tal como la raza, edad, o estación (46).

La primera onda folicular se inicia casi seguida después de la ovulación (en un corto período), posteriormente la segunda onda se inicia entre los 8 a 10 días y la tercera onda cuando el folículo dominante está destinado a ovular se va iniciar aproximadamente en el día 18 del ciclo estral (43). La emergencia de la primera onda normalmente ocurre en los días 0 y 1 del ciclo reproductivo (Día 0 = ovulación), pueden ser detectados hasta 24 folículos (cohorte folicular), de aproximadamente 4 a 5 mm de diámetro. En el periodo de crecimiento, los folículos de cada cohorte continúan creciendo por un periodo de 2 o 3 días adicionales (49). Normalmente, un folículo simple es seleccionado y continúa creciendo (folículo dominante), en tanto que el resto

de los folículos (folículos subordinados) detienen su crecimiento. La selección se da cuando el folículo dominante es de tamaño aproximado de 8.5 mm de diámetro (6). El folículo dominante crece hasta un diámetro de 12-20 mm (fase dominante) aproximadamente, seguido ya sea por atresia u ovulación. En el periodo medio del ciclo estral, el CL esta aun activo, de modo que el folículo dominante sufre atresia y una nueva onda folicular emerge. Sin embargo, si el CL regresa, el folículo dominante continúa creciendo y ovula, finalmente las células que se encuentran alrededor de la pared folicular (células de la teca y células granulosa) quedan luteinizadas para la formación del CL (50).

2.2.5.2 Dinámica folicular

Es el proceso continuo del crecimiento y regresión de los folículos antrales que llevan al desarrollo de la pre-ovulación de un folículo y el reclutamiento es la primera fase de la Dinámica Folicular (44); (51); (52).

La Dinámica Folicular se describe en cuatro pasos: 1) Reclutamiento de pequeños folículos antrales 2) Crecimiento de los folículos 3) Selección de folículos potencialmente ovulatorios y 4) la dominancia de folículos ovulatorios (44).

a) Reclutamiento de Folículos Primordiales

El reclutamiento de los folículos incluye dos fases: El reclutamiento inicial y el reclutamiento cíclico (53). El reclutamiento inicial incluye la dotación de los folículos primordiales en la vida temprana (el promedio es de 133,000 en el ganado bovino) y manteniéndolos en un estado de descanso (54); (55); (56); (53). El reclutamiento inicial podrá darse debido a una liberación de los estímulos inhibitorios que se encargan de mantener los folículos en estados de reposo o profase I de la meiosis (51); (56). Frecuentemente los folículos primordiales sufren atresia o muerte del folículo (55); (48). El ovocito empieza a crecer en este punto, pero todavía es inmaduro para la ruptura de la vesícula germinal (53). Si el estímulo gonadal es óptimo, los folículos son entonces “liberados” en la fase de reclutamiento cíclica (55).

b) Crecimiento Folicular.

En este punto el folículo reclutado se vuelve dependiente de las gonadotropinas para la emergencia y el crecimiento de ondas foliculares (52). La Hormona Foliculo Estimulante (FSH) es una gonadotropina requerida para el crecimiento de todos los folículos secundarios (46); (52); (57). Las concentraciones de la hormona FSH se incrementan el día de la ovulación (día 0), el incremento de esta hormona antecede siempre durante la emergencia de cualquier onda folicular (58);(59).

c) Selección de Folículos Reclutados.

La selección es el proceso de reducir los folículos reclutados a un porcentaje menor para que ocurra la ovulación en una especie-específico (44); (52). Los folículos seleccionados empiezan a secretar estrógeno, dando inicio a mecanismos de retroalimentación negativa, regulando las gonadotropinas FSH y LH durante el ciclo. La hormona folículo estimulante es decisivo para el desarrollo folicular y la LH es crucial para los folículos ovulatorios (43, 49). Al final de una onda, cuando ocurre la ovulación, sobre el folículo las concentraciones de FSH circulantes aumentan 1.5 a 2 veces durante los siguientes 2 días y alcanza un máximo en 12 a 24 horas aproximadamente antes de la emergencia de una onda folicular (59).

d) Dominancia de los Folículos Ovulatorios

La fase final de la dinámica folicular es la dominancia (51). En este punto hay una emergencia del folículo más desarrollado que 4 mm o 5 mm de diámetro (51); (60); (61); (57); (62).

El folículo secundario en desarrollo emerge aproximadamente 6 a 7 horas del primer folículo en desarrollo y ellos continúan creciendo en sincronía con el otro hasta que el folículo en desarrollo alcance aproximadamente a 8.5 mm. (60). El tamaño promedio del folículo dominante en animales de dos y tres ondas ha sido reportado aproximadamente cerca de 13 mm y en animales de tres ondas, los folículos dominantes en cada onda respectiva crecen aproximadamente 12 mm, 10 mm y 13 mm respectivamente (45). El folículo

dominante es definido por este criterio: 1) el folículo dominante en una onda es al menos 1 a 2 mm de largo que el próximo folículo en desarrollo, y 2) el crecimiento de todos los folículos secundarios en las mismas ondas cesa; la divergencia ocurre cuando los folículos en desarrollo o subordinados detienen su crecimiento (57).

e) Ovulación

El control hormonal conduce a una secuencia de eventos en el desarrollo del folículo ovulatorio, por lo tanto las hormonas también sostienen la ovulación del folículo dominante. Una disminución de la progesterona permite un incremento del estradiol y esto retroalimenta negativamente sobre la GnRH permitiendo liberar LH necesario para la ovulación (63).

Algunos investigadores demostraron que el tiempo de ovulación es variable, un estudio realizado posteriormente, mostró que en vacas Holstein la ovulación tuvo un promedio total de 27.6 ± 5.4 horas después del inicio del estro, este promedio incluye todas las ovulaciones tal aquellas inducida por la $PGF2\alpha$ y aquellos que fueron espontáneos (64).

2.2.6 Endocrinología reproductiva del bovino.

El control del ciclo reproductivo de las diversas especies, se ejerce a partir de las interacciones entre el hipotálamo, hipófisis, ovarios y el útero (65). Las hormonas son moléculas bioactivas que controlan una amplia variedad de funciones en el cuerpo, incluyendo la gametogénesis y otras funciones sexuales, pero no limitando a los procesos reproductivos como la pubertad (66). En el hipotálamo las células neurales parvicelulares producen la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que regula la liberación y secreciones de LH y la FSH, sin embargo; existe controversias sobre la posible existencia de hormonas liberadoras hipotalámicas separadas para la LH y la FSH, la razón es que no siempre se detectan pulsos claros de FSH, inclusive siguiendo inyecciones pulsátiles de GnRH (65); (67).

2.2.6.1 Hormonas implicadas en la sincronización de celo.

a) Hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH)

Las hormonas liberadoras de las gonadotropinas o GnRH, viene a ser un péptido de 10 aminoácidos, presentando un peso molecular de 1183 Daltons, siendo sintetizados y almacenados en el hipotálamo medio basal. La GnRH permite establecer un enlace de tipo humoral de dos sistemas (neuronal y endocrino). En respuestas a las señales neuronales, son liberados pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisario para la liberación de LH y FSH en la adenohipofisis (68).

b) Progesterona intravaginal

Los progestágenos son hormonas secretadas por distintos órganos como el cuerpo amarillo ovárico, la corteza suprarrenal, la placenta, y los testículos en menor cantidad. Dentro de los progestágenos más importantes se tiene a la P₄ y al pregnanediol. Estas hormonas son compuestos que presentaran actividad progestacional que incluirán tanto la progesterona endógena y progestágenos sintéticos, estos ultimos están diseñadas para imitar su funcion (69). La P₄ es sintetizada en el CL durante cierta fase del ciclo estral o durante la gestación, sin embargo, existen algunas especies que producen también en la placenta y en las glándulas adrenales. La función de esta hormona es el mantenimiento de la preñez en hembras. En vacas ciclando, la principal acción es regular la duración del ciclo estral gracias a su efecto de inhibir el celo y la ovulación. La P₄ natural presenta una vida media demasiado corta, entre 3 a 4 minutos (70).

La progesterona es la hormona principal liberada por el CL, derivada de la transformación del colesterol sanguíneo (lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Los receptores encargados para esta lipoproteína presente en la célula luteal, permitirán el ingreso del

colesterol a la célula. Entonces esta se transformara en pregnenolona en la mitocondria antes de ser convertido en progesterona por la 3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa/isomerasa (3β -HSD) (71). Según Ungerfeld, 2002 (72), indica que la progesterona es la hormona de la preñez, es la principal hormona de secreción del CL. La P_4 endógena como la exógena se fundamenta en que ambos bloquearan la liberación de la FSH y la LH y cuando esta es retirado se incrementara gradualmente la concentración de estas gonadotropinas, principalmente de la LH que terminara en una oleada ovulatoria; aproximadamente a las 48 horas después de haber sido retirado el efecto de la progesterona en las vacas que responden al tratamiento (73).

c) La Hormona folículo estimulante (FSH).

Es una glicoproteína, esta hormona en la hembra estimulara el desarrollo folicular y participaran junto con la LH para estimular la síntesis del estradiol en los folículos en desarrollo. Las células de las granulosa son las que poseerán receptores para la FSH y producirán además del estradiol la inhibina, que actuarán para suprimir la liberación de FSH. La vida media de esta hormona es de 2 – 5 h (74).

d) Hormona Luteinizante (LH).

La Hormona Luteinizante es una glicoproteína liberado en la hipófisis anterior (63) y se regula a través del mecanismo de retroalimentación negativa del estrógeno y la progesterona (51). La LH está compuesta por una subunidad alfa y beta con un peso molecular de 30,000 daltons y 216 aminoácidos en el vacuno con una vida media de 30 minutos. La subunidad alfa es el mismo entre todas otras glicoproteínas y la subunidad beta define la actividad biológica de la hormona (75).

El papel de la LH en la selección folicular no está completamente claro; sin embargo, varios estudios sugieren que LH está involucrado con la desviación o selección folicular (26; 38; 39)

La LH desencadena el proceso ovulatorio alrededor de las 24 horas después de alcanzado su pico y después de la ovulación se forma el CL. Es bien conocido que la LH está asociada con el crecimiento final y la maduración del folículo dominante (77). A medio ciclo, P4 esta aun alta, suprimiendo los pulsos de la LH y evita la ovulación. Como una consecuencia, una nueva onda folicular empieza. Al final del ciclo, cuando P4 es bajo, la LH puede alcanzar un pico pre-ovulatorio el cual se caracteriza por una alta frecuencia pero la amplitud de los pulsos es baja y por consiguiente ovula el folículo dominante (50).

e) Estrógeno

El estrógeno es una hormona esteroidea, es secretado por la granulosa del ovario al ser estimuladas por la FSH. Esta hormona cumple funciones como: controlar la ovulación; preparar el aparato reproductor para la fecundación e implantación. También controla la aparición de la pubertad y ciertas características sexuales de la hembra bovina, mediante su efecto directo controlan el crecimiento y desarrollo de la vagina, el útero y los oviductos. Junto a otras hormonas favorecen el desarrollo de la glándula mamaria y las diferencias de conformación corporal de las hembras (78). En animales no gestantes, el E₂ es secretado por las células de la granulosa del ovario, mientras que en animales gestantes esta hormona es secretado fundamentalmente por la unidad feto placenta (72) (78).

- **Cipionato de estradiol (CE):** Es un éster de estradiol (sal de estradiol) el cual es un derivado semisintético con acción prolongada y es sintetizadas por los folículo ováricos, poseen una vida media más larga por la baja solubilidad en agua, llevando así a un atraso y una alta dispersión del día de la emergencia de la nueva onda de crecimiento folicular (79). En los protocolos de sincronizaciones de celo con IATF en vaquillonas y vacas cebuínas primiparas, reemplazó al Benzoato de estradiol por CE el día 8, con muy buenos resultados en TP (60 al 70 %), en dosis 1 mg/animal (79).

- **Benzoato de estradiol (BE):** Son derivados sintéticos del 17- B Estradiol, que es una hormona esteroidea sintetizada por el folículo del ovario; esta hormona es usado para mejorar los resultados reproductivos en tratamientos con progestágenos en vacas. Usar esta hormona (día 0), provocara el desarrollo de una nueva onda folicular y la aplicación del BE al momento de la extracción del progestágeno inducirá un pico preovulatorio de LH a través del feed back positivo del estradiol sobre el GnRH y LH lo que resultaría en una alta sincronía de ovulaciones. El empleo de BE se recomienda celo silencioso, en anestro posparto, y como sincronizador de celos (79).

f) Prostaglandina (PGF₂α)

Las prostaglandinas son ácidos grasos insaturados. La PGF₂α es un agente luteolítico natural (la función es la destrucción del cuerpo lúteo en casos de que no se produzcan una gestación), permitiéndose de este modo el comienzo del desarrollo de un nuevo ciclo. Clínicamente la PGF₂α es utilizada para inducir el aborto en gestaciones no deseadas. En el parto se libera gran cantidad que inicia la contracción del útero y acelera la luteólisis del CL de la gestación. Hoy en día en el mercado, el cloprostenol es el análogo más importante y utilizado para la regulación del ciclo reproductivo (80).

g) La gonadotropina Corionica Equina (Ecg)

Es una compleja glicoproteína, desde un punto de vista farmacodinamico, presenta una actividad semejante a las hormonas FSH y LH. La eCG al ser administradas algunas horas previo a la ovulación folicular, estimulara el crecimiento del folículo a través de su acción de FSH y LH, logrando aumentar el tamaño del folículo pre-ovulatorio, incrementando así las concentraciones plasmáticas de P₄ posterior a la ovulación, finalmente mejora el desarrollo embrionario y el mantener la preñez (81).

La eCG es obtenida del suero de las yeguas preñadas durante las primeras mitades de las gestaciones. Si se tiene las necesidades de un efecto foliculoestimulante exclusivo, puede ser conseguido como hormona

foliculoestimulante preparada. Esta hormona se encuentra en la placenta, y es secretada en las copas endometriales que se han formado alrededor del día 40 de gestación. Tienen una vida media de aproximadamente 2 días o 40 horas en las vacas y persisten por más de 10 días en la circulaciones sanguíneas (82).

2.2.7 Aplicación de la ecografía en la reproducción bovina

La evolución del ultrasonido no es muy antigua. El primer estudio reportado de ecografía transrectal fue realizado por los años de 1980, en ese entonces Palmer y col (2004), realizaron un estudio en yeguas vacías y en estado de gestación haciendo uso de un ecógrafo como ayuda para el diagnóstico. El ultrasonido transrectal dio mejoras en el avance del conocimiento de la reproducción. Como herramienta de manejo, la ecografía transrectal brindo un elemento importante de diagnóstico para dar mejoras en el manejo reproductivo en granjas de leche. Hoy en día hay muchas aplicaciones de la ecografía en la reproducción, la combinación de la ecografía para el diagnóstico temprano de gestación en unión con la determinación de gestaciones gemelares podría resultar el uso más frecuente para esta tecnología (83).

2.2.7.1 Estructuras Ováricas Como Ayudas Diagnósticas

Dentro del examen reproductivo de rutina se debe incluir la observación o su ausencia de las principales estructuras en cada ovario. La palpación rectal es un método preciso para detectar una preñez, pero constituye un método poco confiable para definir los folículos ováricos (84). Por lo tanto la imagen que brinda el ultrasonido nos permite con precisión y rapidez poder evaluar todas las estructuras del ovario (85). Con frecuencia las personas practicantes realizan un escaneo solo del útero, olvidando así el escaneo de los ovarios, esto constituye un error, debido a que los ovarios nos brindan mucha información que podría ser usado para un diagnostico reproductivo.

Así por ejemplo se puede decir que la ausencia o presencia de un cuerpo lúteo sirve de ayuda en el diagnóstico de gestación, principalmente en gestaciones tempranas.

- **Folículos Ováricos.**

A todo el proceso de formación de folículos maduros, que tienen la capacidad de ovular se conoce como foliculogénesis (55). El folículo ovárico es una estructura llena de un fluido, a la vez está rodeado de una capa interna de células de la granulosa como también de una capa externa de células de la teca. El oocito se encuentra suspendida en el antrum por células de la granulosa denominado cúmulo ooforo. En veterinaria, la mayoría de ecógrafos pueden escanear folículos desde 2 a 3 mm. Además el crecimiento de estos folículos podría ser seguido por una ecografía seriada (3). La ecografía nos ha permitido de forma no invasiva hacer este tipo de seguimiento durante el ciclo estral del bovino. Mejorando nuestro conocimiento de la fisiología reproductiva.

- **Ondas Foliculares.**

Los diversos estudios científicos haciendo uso de la ecografía transrectal en bovinos, permitió esclarecer la naturaleza del desarrollo de los folículos antrales (4).

Cada onda folicular comienza con la emergencia de un grupo de folículos pequeños exactamente antes del día de la ovulación. Al paso de los días solo uno, dentro del grupo de folículos continúa su crecimiento, de esta manera se hace dominante, llamado folículo dominante, y los demás son denominados folículos subordinados; todo ello ocurre dentro de una onda folicular. Es así que solo el folículo dominante continúa su crecimiento y los demás llegan a la atresia. En ciclos con dos ondas la segunda onda emerge el día 10 después de la ovulación, y en ciclos de 3 ondas, una tercera onda emerge el día 1 después de la ovulación. Para ambos casos de estos ciclos, el folículo que llegara a ovular será de la última onda que exista (4).

Existen factores que puedan influenciar en el número de ondas dentro de un ciclo estral, en ganados de leche incluye la ingesta en la dieta, número de parición, la edad, y el estado de lactancia (44).

- **Cuerpos Lúteos.**

El CL es una glándula endocrina que permanece de manera temporal, formado a partir de los tejidos del folículo tras la ovulación. De esta manera podría ser observado como la etapa final dentro del desarrollo folicular. Algunos cuerpos lúteos aparecen como masas de tejido sólido, otras con cavidades de fluidos. El 79 % de los cuerpos lúteos en vaquillas en base a exámenes, presentaron cavidades desde menos de 2 mm a más de 10 mm de diámetro en algún momento dado del ciclo estral e inicio de la preñez (86) (5).

El CL dentro de las características del ultrasonido como el diámetro transversal, el área luteal y su ecogenicidad, han sido relacionados con la estructura y el funcionamiento de este (87) (86) (5). Aun con el uso del ultrasonido en la reproducción es difícil poder distinguir entre un cuerpo lúteo en desarrollo con uno en regresión (88).

2.2.8 Ecografía de la dinámica folicular ovárica.

Luego de haberse implementado la ecografía transrectal en animales de la especie bovina, permitió esclarecer los mecanismos ováricos que ocurren luego del parto, el ciclo estral (ondas foliculares, dinámica del CL, el proceso de ovulación), estimación del número de folículos preovulatorios en los procesos de transferencia embrionaria y/o tratamientos de superovulación, identificación de ciertas patologías como los quistes foliculares o luteales (89).

Ovario activo. En vacas en anestro el estroma del ovario presenta una ecogenicidad homogénea. Las estructuras como el CL y los folículos no suelen ser visibles, por otro lado los ovarios anestrícos presentan un tamaño pequeño encontrándose solo en vaquillonas prepúberes y en vacas en parto temprano. En la evaluación por ecografía de un ovario activo se

encuentran diferentes estructuras, como; el estroma, folículos y CL, todas estas estructuras tienen diferente ecogenicidad, apareciendo en diferentes tonalidades de gris (90).

Folículo ovárico. La ecografía de los folículos ováricos puede ser visualizada, supervisados y cuantificados en secuencia a partir de los 2 a 3 mm.(3), los folículos son mostrados por el ecógrafo a través de imágenes anecogénicas de color negro en forma redonda o en su defecto en estructuras irregulares causadas por la compresión de otros folículos alrededor de este, a la del CL, o a la compresión del estroma del ovario. Más precisamente los folículos preovulatorios son mostrados como estructuras en forma redonda de imagen anecogénica, con un promedio de 15 a 17 mm. (91).

Cuerpo lúteo. La ecografía del CL del ovario bovino se presenta en las dos terceras partes del Ciclo reproductivo. El aspecto que se visualiza es una imagen ecogénica clara dentro del estroma ovárico, es completamente normal la visualización de una cavidad central (llena de líquido) que en muchas ocasiones suele confundirse con la presencia de quistes luteales. La diferencia entre un CL normal con cavidad central y un quiste lúteo es que el CL normal presenta una cavidad llena de líquido inferior a 25 mm de diámetro ocupando menos de un tercio del CL entero. Generalmente el CL se visualiza por ecografía 4 días después del proceso de ovulación, al no haber fertilización del ovulo, el CL regresiona a los 16 días después del proceso de ovulación, por lo tanto es importante la información que nos puede ofrecer la ecografía de los cambios del CL durante el ciclo estral bovino (90).

2.2.8.1 Ecografía del embrión bovino

El embrión bovino en ecografía se presenta a través de imágenes anecogénicas, como es el caso de los folículos, es posible visualizar el embrión como una imagen ecogénica a partir del día 27 luego de la fecundación (92). Una ecografía antes de esta fecha o por la presencia del líquido en el útero no es confiable, debido a que puede ser confundido con alguna patología (piométrica) (92).

2.2.9 Métodos de laboratorio para determinación de hormonas reproductivas.

2.2.9.1 Técnicas para determinación hormonal

Se han venido integrando diversas técnicas con el propósito de poder realizar los perfiles hormonales en sangre, técnicas como el inmunoensayo de fluorescencia con resolución temporal (TRFI), el radio-inmunoensayo (RIA), el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA), el inmunoensayo de polarización fluorescente (FPI) y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) (93). Todas estas técnicas emplean un ligando y un aglutinante, en donde las cuantificaciones de una sustancia dependerá de la saturación progresiva de un aglutinante específico para ellas, como de la determinación de la distribución de sus fases y libres, estos se realizan empleando un sistema indicador de la unión, ya sea por fluorescencia (inmunofluorescencia), radioactividad (RIA) o por enzimas (ELISA) (94). Aunque Basu et al. (93) establece que las técnicas CLIA y TRFI son más sensibles, y no son prácticos para su uso en diagnóstico clínico, por lo que las técnicas de ELISA y Radioinmunoensayo son las que más se emplean.

La técnica Radioinmunoensayo (RIA), se basará por la existencia de competencia entre una hormona marcada con otra no marcada, por escasos números de sitios de uniones sobre las moléculas de anticuerpo, para ello se hace la reacción de cantidades conocidas del anticuerpo con cantidades conocidas de la hormona marcada con un hisopo marcador, solamente variando las concentraciones de la hormona presente en la muestra para el análisis. Tras el paso de un tiempo óptimo de incubación, se procede a separar las partes que estén unidas y libres mediante un lavado, y se hace la determinación de la radioactividad residual usando un equipo especialmente diseñado, de esta manera se establece que a mayores radioactividades residual, es menor las concentraciones de la hormonas en la muestra estudiada (95).

2.2.10 Inseminación artificial (IA).

Es una biotecnología, se fundamenta en la aplicación del semen en el tracto reproductivo en el momento óptimo. La IA es una técnica individual importante, creada para el mejoramiento genético de animales, esto es debido a que unos pocos machos que son seleccionados tendrán la capacidad de producir suficientes espermatozoides para la inseminación de miles de hembras al año (68).

Dentro de las ventajas se tiene: Evitar las transmisiones de enfermedades venéreas, facilitar el transporte y las distribuciones del semen, permiten realizar un rápido mejoramiento genético, mediante el uso de toros probados, evitar las presencias de los machos en las ganaderías, costos de su mantenimiento así mismo nos permite eliminar el peligro que representa, nos posibilitan las implementaciones de programas de sincronizaciones y cruzamientos, permite hacer pruebas de progenie de los sementales, es más rápido que con monta natural, pueden servirse a las vaconas y vacas de tamaños pequeños sin causar daños o generar problemas, a veces se presentan el caso cuando se sirven con monta natural utilizando los toros muy pesados, y las posibilidades de utilizar toros valiosos genéticamente después de muertos gracias a la criogenización de semen (96).

De cierto modo también presenta ciertas desventajas como: los altos costos inicialmente de programas de inseminación artificial (adquisición de equipo y construcciones de instalaciones), las enfermedades venéreas se pueden difundir rápidamente con el uso de sementales enfermos, apariciones de consanguinidades al hacer uso de una sola genética durante muchos años, implica la contratación de un personal técnico. El momento óptimo para realizar la inseminación artificial está determinado por las propias características de ambos gametos (espermatozoide y ovulo): es de importancia saber que la vida útil del óvulo luego de la ovulación es de sólo 10 ó 12 horas, mientras que la del espermatozoide puede sobrevivir entre 24 y 48 horas, una vez que es puesto en el tracto reproductor de la hembra

bovina, Aunque, por la larga vida del espermatozoide, pareciera que el tiempo en el que se insemina no sería un factor determinante, no hay que olvidarse que los espermatozoides deben permanecer en el tracto reproductivo de la hembra entre 4 y 6 horas antes de ser capaz de llevar a cabo la fertilización del óvulo. Estos explicarían por qué se obtienen mayores los índices de concepción cuando se insemina en la mitad o al final del ciclo que cuando se hace después del final de ciclo (96).

2.2.11 Diagnóstico de preñez.

El diagnóstico de las gestaciones constituye unas prácticas comunes en los centros ganaderos y tiene como finalidad la identificación a las vacas vacías para reintroducirlas a los programas de inseminaciones. Esta práctica la realiza una persona capacitada en la práctica. El retorno del celo es el primer recurso para la identificación de las hembras que no están gestando; sin embargo, existe una baja deficiencias en la detección de calores, más de la mitad de las vacas vacías no son observadas en celos y llegan hasta el diagnóstico de la gestación. Existen técnicas para el diagnóstico de preñez, técnicas como: El no retornos de los celos, determinaciones de los niveles séricos de P₄, ecografía transrectal, palpaciones transrectal y finalmente las exploraciones vaginales (97).

a) No Retorno al Celos

En ganado bovino se describe de la siguiente manera: “Si no repiten los celos a los 21 días después del servicio (inseminación artificial o monta) se pueden presumirse que las vacas quedaron preñadas. Pero es también de importancia mencionar que el no retorno al celo no necesariamente podría deberse a ello, si no que en algunos de estos casos las vacas no repiten celos debido a las presencias de quistes (problemas reproductivos), o en otros casos el animal repiten el celo, pero no son detectados por los productores (98).

b) Determinación de los Niveles de Progesterona

La determinación de las concentraciones de P_4 entre los días 20 a 24 post inseminación artificial permite saber con mayor objetividad el retorno al celo. De tal forma que, concentraciones basales ($< 1\text{ng/ml}$) indicaría que ha ocurrido la regresión luteal, permitiendo asumir al 100% de precisión, que la vaca está vacía. Por otra parte, concentraciones altas ($> 1\text{ng/ml}$), permitiría concluir con una precisión del 75 a 85 %, que la vaca esta gestante (97).

Luego de llevarse la fecundación de los gametos, el ciclo estral se interrumpe debido a la persistencia del cuerpo lúteo, continuando con la secreción de progesterona a lo largo de toda la preñez. Así mismo, la presencia de P_4 en la leche luego de 21 a 23 días del servicio (monta o inseminación) puede ser utilizada como una herramienta de diagnóstico para detección de la preñez (98).

c) Ultrasonografía

Es una técnica de diagnóstico basado en imágenes, esta técnica se basa en la capacidad de reflejar las ondas de sonidos de alta frecuencia que poseen los distintos órganos. Siendo esta una propiedad que es traducida en la generación de imágenes, observándose en el monitor del ecógrafo. El uso de esta técnica en el campo de la Medicina veterinaria, especialmente en estudios del aparato reproductivo de bovinos, siendo esta técnica la que permite confirmar o desestimar la valoración de la palpación rectal realizada por el Médico Veterinario. La evaluación por ecografía transrectal del aparato reproductivo de la hembra, permite hacer diagnósticos precoces de gestación, hallar enfermedades en el útero o en los ovarios o revelar secuencialmente los cambios foliculares durante el ciclo ovárico, debido a que es una técnica no invasiva. Finalmente la mayor ventaja es la evaluación precoz y certera de la presencia del embrión en el claustro materno (diagnóstico de preñez), precisamente a partir del día 25 de gestación (99).

d) Palpación Transrectal

Esta técnica se realiza de 40 a 45 días después de ocurrido el último servicio, siempre y cuando no haya ocurrido repeticiones de celo. Alternativamente puede realizarse una ecografía entre los 30 y 40 días post-servicio, siendo importante reconfirmar la gestación entre los 60 y 70 días post-servicio (99).

CAPITULO III: METODOLOGIA DE INVESTIGACION

3.1 Ubicación del área de estudio.

El presente estudio se desarrolló en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la ciudad de Puerto Maldonado, este centro está ubicado en el distrito de Tambopata, provincia de Tambopata de la Región de Madre de Dios, a 16 km de la carretera Puerto Maldonado- Cusco, presenta una altitud de 219 msnm, latitud sur de 12°38'30.02" y longitud oeste de 69°17'03.49", con una temperatura media anual de 25.4°C. El centro cuenta con un área de 200 has de pastos, con vegetación mayoritaria de la familia Poaceae, encontrando especies de *Brachiaria decumbens* y *Brachiaria brizantha*. El tipo de producción que maneja el centro es semi intensivo.

3.2 Tipo de estudio.

El nivel de estudio es explicativo, siendo experimental. Consistió en evaluar el diámetro folicular y determinar el nivel hormonal de Progesterona (P_4) en tres momentos durante los tratamientos con protocolos de sincronización de celo (PROTOCOLO I y II) en vacas criollas.

3.3 Diseño de estudio.

Para determinar el diámetro de folículos y el nivel hormonal de P_4 , en hembras criollas, se realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA), con el siguiente modelo estadístico.

$$X_{ij} = \mu + A_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

X_{ij} = Variable respuesta.

μ = media general.

A_i = efecto del factor del diámetro folicular y/o niveles hormonales en bovinos criollas.

ϵ_{ij} = efecto residual.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico utilizando el Statgraphics centurion XVII.

3.4 Población y Muestra.

3.4.1 Selección de animales en estudio.

Se seleccionaron 10 vacas multíparas de la raza Criolla utilizando un muestreo por conveniencia, antes de iniciar el estudio, los animales entraron a una evaluación ginecológica mediante palpación rectal con el uso del ecógrafo veterinario, como también a una evaluación de la condición corporal y a un examen clínico general (100).

Se evaluaron animales con una condición corporal (CC) de 3 de 5, donde el puntaje del 3 representa una condición optima (media) en la escala del 1-5, establecida por Lowman, *et al.* (101). Vacas con periodos post parto no menores de 60 días y ovarios funcionales y no gestantes para el estudio fueron los criterios de selección que se tuvo. La distribución de los animales en estudio fue distribuidos al azar.

Todos los animales seleccionados fueron alimentados en base a un sistema de pastoreo con pasto *Brachiaria brizantha* y/o *B. decumbens*, mas aporte de sal y acceso libre a agua.

Tabla 2. Distribución de animales.**GRUPO I: Tratamiento I**

Animales	Muestreo de sangre	N° de Ecografías	
		Ovario Derecho	Ovario Izquierdo
Vaca Criolla 01	3	2	2
Vaca Criolla 02	3	2	2
Vaca Criolla 03	3	2	2
Vaca Criolla 04	3	2	2
Vaca Criolla 05	3	2	2

GRUPO II: Tratamiento II

Animales	Muestreo de sangre	N° de Ecografías	
		Ovario Derecho	Ovario Izquierdo
Vaca Criolla 01	3	2	2
Vaca Criolla 02	3	2	2
Vaca Criolla 03	3	2	2
Vaca Criolla 04	3	2	2
Vaca Criolla 05	3	2	2

Fuente: *Elaboración propia.*

3.5 Métodos y Técnicas.

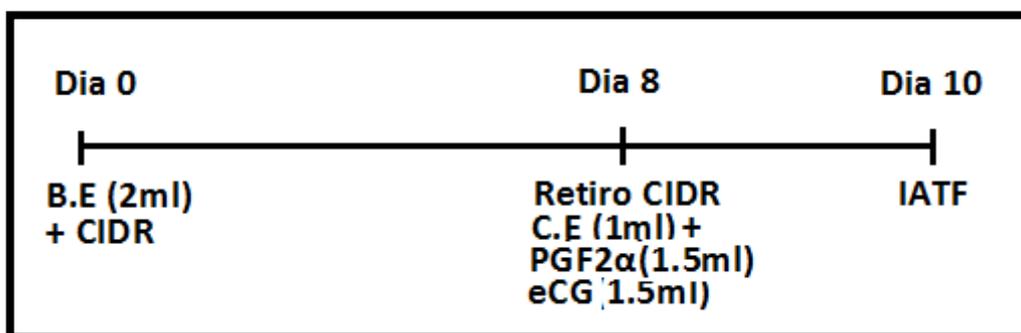
3.5.1 Determinación del crecimiento folicular.

La evaluación del ovario se realizó en vacas criollas; durante el periodo de la experimentación se utilizó un ecógrafo portátil veterinario CONTEC modelo CMS600S-VET, con el uso del transductor lineal, con una frecuencia de 7.5 MHz. En 02 momentos durante el tratamiento de sincronización:

- 1.- Primer examen de ultrasonido se realizó el día 0 (día del inicio de la sincronización) sobre las vacas de estudio y fueron tomadas las muestras de sangre a cada animal de la vena coccígea.

2.- Las muestras de sangre fueron recogidos en 3 momentos y el procedimiento de ecografía ovárica fueron tomados en 2 momentos, durante el tratamiento con el PROTOCOLO I y II.

PROTOCOLO I



Adaptación propia.

En el día 0 se aplicó el benzoato de estradiol y el implante del dispositivo CIDR; al día 8 del protocolo se retiró el dispositivo, se administró Cipionato de estradiol, prostaglandina y eCG; finalmente el día 10 se realizó la inseminación artificial a tiempo fijo.

PROTOCOLO II



Adaptación propia.

En el día 0 se aplicó GnRH y el implante del dispositivo CIDR; al día 5 del protocolo se retiró el dispositivo, se administró prostaglandina; finalmente el día 8 se realizó el procedimiento de inseminación artificial a tiempo fijo y GnRH.

3.5.2 Determinación del nivel hormonal.

Para determinar el nivel hormonal de P₄, se procedió de la siguiente manera:

➤ **Toma de muestras de sangre:**

Las 10 vacas seleccionadas de la raza Criolla, fueron sometidos a la toma de muestras de sangre (volumen de 5 ml), se realizó la punción sobre la vena coccígea, para ello se hizo uso de agujas 21G x 1 ½ como también jeringas estériles de 10 ml; posteriormente la muestra fue contenida en tubos vacutainer estériles sin anticoagulante con el fin de ser centrifugadas a 5000 rpm durante 15 minutos separando el plasma del coágulo; el plasma se empaco en tubos sin anticoagulante, debidamente rotulado y congelado a 4°C, para la posterior determinación hormonal de Progesterona (P₄), mediante la prueba de Radio-Immuno-Análisis (RIA) en un laboratorio, garantizando así los resultados. Todos los sueros fueron analizados simultáneamente.

3.5.2.1 Métodos de determinación Hormonal en laboratorio

Las muestras se remitirán a laboratorio garantizado con ISO 2001

➤ **Radioinmuno-analisis (RIA).**

Se determinara la hormona Progesterona porque Derivaux menciona que la P₄ constituye un factor imprescindible para la iniciación y regulación de la gestación, porque contribuye en mantener el cuerpo lúteo y controla el ciclo estral durante el diestro (102).

Tabla 3: Periodos de ecografía y toma de muestras de sangre por animal.

Protocolo I y II	Momentos para la toma de ecografía		Momentos para toma de muestra de sangre	
	Prot. I	Prot. II	Prot. I	Prot. II
Día 0	M 1	M 1	M 1	M 1
Día 1				
Día 2				
Día 3				
Día 4				
Día 5		M 2		M 2
Día 6				
Día 7				
Día 8	M 2		M2	M 3
Día 9				
Día 10			M 3	

Fuente: Elaboración propia.

3.5.3 Diagnóstico de preñez.

El porcentaje de fertilidad de la preñez se realizó en el día 30 días post-inseminación artificial mediante ecografía transrectal. Se basó en la presencia de líquido uterino intraluminal (89), lo cual fue mostrado a través de imágenes no ecogénicas, como en el caso de los folículos, es posible observar el embrión como una imagen ecogénica a partir del 27 posterior a la fecundación con una especificidad del 86%, un diagnóstico antes de esta fecha o por la presencia de líquido en el útero no es tan confiable, ya que puede confundirse con alguna patología como el piométra (92).

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

4.1. Respuesta ovárica en vacas criollas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

Las respuestas ováricas en vacas con referencia al diámetro del folículo al momento de colocar el DIB intravaginal para el Protocolo I, fue de 10.20mm y al momento del retiro del DIB el diámetro de los folículos fue de 10.32mm. Sin embargo, en el protocolo II el diámetro del folículo encontrado fue de 9.64mm y 10.52mm al momento de retirar el DIB. No habiendo diferencia estadística ($p > 0.05$), tal como se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Respuesta ovárica en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celos en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

Tratamiento	Protocolo I (10 Días)	Protocolo II (8 Días)
Número de animales	5	5
Folículo dominante al momento de colocar el DIB (mm)	10.20 ^a	9.64 ^a
Folículo dominante al retiro del DIB (mm)	10.32 ^a	10.52 ^a
Desviación estándar	0.06	0.03
Coefficiente de variabilidad	2.94	6.4
Porcentaje de ovulación	4/5 (80%)	3/5 (60%)

Letras iguales indican no hay diferencias significativas ($p > 0,05$)

Guzman A. en su estudio “Efecto del diámetro del folículo preovulatorio en el momento de la IATF y de la expresión de estro sobre la tasa de preñez en vacas Nelore con cría al pie”, encontró un promedio del folículo preovulatorio el día de la IATF de $11,1 \pm 0,71$ mm, observo de manera clara que la tasa de preñez mejora, mientras mayor es el diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF (103). Estos resultados fueron similares también para Sa Filho et al. Quienes reportaron un diámetro promedio de $11,1 + 0,3$ mm en vacas Nelore. El diámetro del folículo preovulatorio a la IATF influyó la tasa de preñez en este trabajo obteniendo mejor tasa de preñez a medida que aumentaba el diámetro del folículo preovulatorio (<7,5 mm: 15,4%; 7,5 a 11 mm: 51,6%; 11,1 a 14,4 mm: 72,0%; >14,4 mm: 66,7%) (104), esto concuerda con lo reportado por Martins et al. (2014) donde se observó que el diámetro folicular a la IATF afectó la tasa preñez [10,8 a 15,7 mm (51,5%) vs. <10,7 mm (23,6%)] en vaquillonas Nelore (105).

El crecimiento de los folículos en el ovario se da en forma de ondas, denominada ondas foliculares, dichas ondas están conformadas por una cohorte de folículos previamente seleccionadas, para desarrollarse a partir de las reservas en reposo, de manera que estos inician un crecimiento rápido bajo el estímulo de la FSH, se evidencia en ellos un incremento del ácido ribonucleico mensajero (RNAm) para la enzima aromatasa P450, que es responsable del proceso de biotransformación de andrógenos en estradiol (E2) (58,81). Se establece una competencia por la dominancia entre los folículos reclutados en cada onda, por la cual solamente uno de la cohorte folicular adquieren el desarrollo funcional y estructurales, permitiéndole seguir desarrollándose en un ambiente de nivel bajo en la concentración de gonadotropina, simultáneamente sus compañeros de la cohorte sufren el proceso de atresia folicular (106).

Por lo tanto, los científicos tienen la responsabilidad de seguir investigando mejores tratamientos de sincronización de celos en diferentes ámbitos climáticos, con el objetivo de mejorar los métodos de sincronización de la ovulación, mejorar la comprensión de los parámetros endócrinos y

fisiológicos que presenta una influencia en la competencia reproductiva en el ganado y finalmente el de diseñar nuevos protocolos de sincronización de celos dentro de las limitaciones de productos farmacéuticos disponibles para complementar estos descubrimientos científicos básicos. Fue a través de esta forma de pensar que se desarrolló el presente trabajo investigativo con el protocolo de 5 días CO-Synch + CIDR (mejor resultado) en ganados criollos en la zona de Madre de Dios.

Estos datos sirven como referencia investigativa en el área de reproducción animal, no siendo estadísticamente datos representativos, debido al tipo de muestreo no probabilístico, pero brinda una visión del panorama actual sobre tasas de preñez en ganados criollos con estos métodos de sincronización de celos.

4.2. Niveles séricos de progesterona (P₄), de muestras de sangre en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

La concentración sérica de progesterona fue evaluada secuencialmente desde el día de la aplicación de los dispositivos (CIDR) hasta la finalización de los protocolos. En el presente estudio se encontró una media de 5.3 ng/ml de P₄ en el día 0, una media de 4,5 ng/ml en el día 08 y una media de 0,17ng/ml en el día 10 del Protocolo I, así mismo el Protocolo II muestra valores medios de 1,6 ng/ml en el día 0, una media de 3,1 ng/ml en el día 5 y 0,82 ng/ml en el día 8. Los niveles de progesterona en los diferentes días durante la aplicación del Protocolo I presentan diferencias significativas, del mismo modo los niveles de progesterona en ganados aplicados con el Protocolo II muestran diferencias significativas ($p > 0.05$).

La diferencia en la concentración de P₄ entre el día 0 (inicio) y el día 10 (celo) para el Protocolo I fue de 5.3 ng/ml versus 0.17 ng/ml respectivamente

mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$). Asimismo, la diferencia en la concentración de P₄ entre el día 0 (inicio) y el día 8 (celo) para el Protocolo II fue de 1.16 ng/ml versus 0.82 ng/ml respectivamente mostrando diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 5. Niveles séricos de progesterona (P₄), de muestras de sangre en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

Tratamiento	Protocolo I			Protocolo II		
	(10 días)			(7 Días)		
Número de animales	5			5		
Días de tratamiento	0	08	10	0	5	8
Nivel hormonal de Progesterona (ng/ml)	5.3 ^a	4.5 ^b	0.17 ^c	1.6 ^a	3.1 ^b	0.82 ^c
Desviación estándar	6.98	7.44	0.05	1.84	2.59	0.91

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Quintero Chanis en su investigación “Concentración plasmática de Progesterona y tasa de preñez en vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales nuevos o de segundo uso en la cuenca lechera de Chiriqui- Panama”, encontró en su experimento I en vacas tratadas con el protocolo I, concentraciones de progesterona (2.93 ± 0.12 ng/ml), haciendo uso con dispositivos CIDR nuevos. Más precisamente el día del celo (día 10) encontró un 0.68 ng/ml de P₄ y en el diestro una media de 4.84ng/ml de P₄ (107).

El fundamento fisiológico para el uso del método Ovsynch (similar) fue revisado por Pursley *et al.* 1995 (108). La primera inyección de GnRH tiene la intención de inducir la liberaciones de la LH y causar el proceso de ovulación de del folículo de graaf funcional que es (dominante > 10 mm de diámetro), que inducirá el desarrollo de nuevas ondas foliculares aproximadamente 2 días más tarde y el incremento de la probabilidades de tener un gran folículo en crecimiento al momento de la inyección de PGF₂α (109)(110). Por lo tanto, para ambos Protocolos evaluados, los niveles de Progesterona al momento

de la inseminación artificial a tiempo fijo muestran niveles basales de esta hormona (Prot.I:0.17ng/ml y Prot.II: 0.82ng/ml).

4.3. Porcentaje de fertilidad en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

El porcentaje de fertilidad en el presente estudio en los dos protocolos mostró los siguientes resultados; para el Protocolo I mostro un 60% y para el Protocolo II un porcentaje de fertilidad del 40%.

Tabla 6. Porcentaje de fertilidad en vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) de la región de Madre de Dios.

Tratamiento	Protocolo I (10 días)		Protocolo II (8 Días)	
	Nº	%	Nº	%
Número de animales	5		5	
Número de animales preñadas	3 ^a	60	2 ^a	40
Número de animales vacías	2 ^b	40	3 ^b	60

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Quintero Chanis en su investigación “Concentración plasmática de Progesterona y tasa de preñez en vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales nuevos o de segundo uso en la cuenca lechera de Chiriqui- Panama”, encontró en el Protocolo I, una tasa de preñez de 43.0%, al hacer uso del CIDR (107).

Sin embargo Ochoa Mejia en su investigación “Efecto de la permanencia del dispositivo con P4 y dosis adicional de prostaglandina sobre la dinámica folicular y tasa de preñez en vacas lecheras sincronizadas con el protocolo Co-synch” para el protocolo II, encontró una tasa de preñez de

56.9% obtenida al día 35 post IATF cuando aplico solo una dosis de PGF2 α , por otro lado al hacer uso de dos aplicaciones de PGF2 α encontró una tasa de preñez numéricamente menor siendo un 42.3%, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos (111). Además, concluye que la aplicación de dos dosis de PGF2 α en intervalo de 12 horas a partir del retiro del dispositivo, no logro aumentar la tasa de preñez que puede ser obtenidas en vacas lecheras sincronizadas con el Protocolo Co-synch de 5 días.

Por otro lado Gonzalo M. en su investigación “Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas de leche”, encontró para el protocolo II (Co-synch + CIDR de 5 días) una tasa de preñez del 85%, sobre vaquillonas Holstein (112).

Guzmán A. en su estudio “Efecto del diámetro del folículo preovulatorio en el momento de la IATF y de la expresión de estro sobre la tasa de preñez en vacas Nelore con cría al pie”, encontró para el Protocolo I un porcentaje de gestación en vacas multíparas de 59.0% y para vacas primíparas de 58.0%, no habiendo diferencias estadísticas (103).

Existen estudios sobre la respuesta de PGF2 α en diferentes estadios del ciclo estral bovino, donde se informa que solo una dosis de PGF2 α no es efectivo en la regresión de un cuerpo lúteo recién formado (113).

Los factores fisiológicos y endócrinos que influyen en la probabilidad de concepción en el ganado han sido investigados y varios de ellos fueron la base para el desarrollo del protocolo de 5 días CO-Synch + CIDR (114).

El protocolo I (10 días) muestra una tasa de preñez de 60%, por el contrario, el Protocolo II (CIDR + CO-SYNCH de 5 días) muestra una tasa de preñez del 40%.

Avances a cerca del protocolo CIDR + CO-SYNCH de 5 días indican que aún se pueden mejorar las tasas de preñeces en vacas (ganados de

carne) adicionando una segunda dosis de PGF2 α 12 horas después de su primera aplicación. Souto et al., 2009 indica que solo una dosis de PGF2 α aplicado en el protocolo CIDR + CO-SYNCH de 5 días no fue eficaz en la inducción de la luteolisis en todas las vacas de carne en lactación (115). Así mismo Kasimanickam et al., 2009 confirma la necesidad de dos dosis de PGF2 α en el protocolo CIDR + CO-SYNCH de 5 días, porque cuando solamente se administra una dosis única de PGF2 α (ya sea Cloprostenol o Dinoprost trometamina) se redujo el éxito de preñez con la IATF; con una dosis de PGF2 α muestra un 53,1% por el contrario con dos dosis muestra un 69,0% (116). De este modo las tasas de preñeces del Protocolo II fueron similares a los encontrados por Kasimanickam y Souto, siendo importante la mención por parte de ellos al indicar que la aplicación de una segunda dosis de PGF2 α mejoraría notablemente este protocolo.

Existen varios factores pueden influenciar el éxito reproductivo al realizar un protocolo de IATF (117) (118). En programas basados en GnRH, las ovulaciones resultantes de la primera y segunda GnRH son importantes factores que determinan el éxito de la preñez (119). Se ha reportado que el tamaño del folículo preovulatorio influencia la preñez por IA (P/IA) en vaquillonas de carne (117) y en vacas de carne lactantes (120). Otros factores tales como: la expresión de celo, localización, raza, paridad, y condición corporal (CC) influyen la P/IA en vacas de carne lactantes IATF con un protocolo a base de P4 y E2 (120).

El resultado que muestra el Protocolo I sobre la tasa de preñez probablemente no refleje el resultado con la realidad, por factores como la de un tamaño reducido de animales durante el estudio. Por otro lado, tiene importancia ya que refleja de algún modo un panorama sobre las tasas de preñeces en vacas criollas.

CONCLUSIONES

El presente trabajo de investigación obtuvo un diámetro folicular al momento de colocar y retirar el CIDR de 10.20mm y 10.32mm respectivamente para el protocolo I; y para el protocolo II fue 9.64mm y 10.52mm, no habiendo diferencia estadística significativa en cada protocolo. Así mismo se obtuvo un nivel de P₄ para el Protocolo I de 5.3 ng/ml (día 0); 4,5 ng/ml (día 8) y 0,17ng/ml (día 10), y para el Protocolo II mostro 1,6 ng/ml (día 0); 3,1 ng/ml (día 5) y 0,82 ng/ml (día 8) siendo diferente significativamente ($p > 0.05$), en cada protocolo. Finalmente, el porcentaje de fertilidad en el presente estudio fue; 60% (Protocolo I) y 40% (Protocolo II).

La presente investigación muestra resultados favorecedores para la reproducción animal aplicados en la especie bovina en beneficio de los diferentes centros ganaderos de la región.

Aspectos como una tasa de preñez óptima para el protocolo I aplicado en vacas de la raza criolla.

SUGERENCIAS

Se sugiere tomar en cuenta la utilización del Protocolo I (10 días) debido a favorables resultados que se obtuvieron en la presente investigación, en pro de mejorar la situación de la ganadería de nuestra región y otras zonas tropicales.

Se sugiere mejorar el Protocolo II del presente trabajo de investigación debido a los resultados obtenidos. Aplicaciones de PGF2a no estarían adaptándose eficazmente al medio ambiente con que se cuenta. Se sugiere administrar una segunda dosis de PGF2a al Protocolo II del trabajo de investigación, dado que, según estudios recientes, tendrían mejores resultados en relación a tasas de preñeces vs con una sola dosis de PGF2a.

Se sugiere realizar más trabajos de investigación con diferentes protocolos de sincronización de celo en ganados bovinos, evaluando cuales tendrían mejores resultados en el sistema de crianza ganadera que viene desarrollando actualmente nuestra región.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Mapletoft RJ, Martínez MF, Colazo MG, Caccia M, Adams GP. Control del desarrollo folicular y su uso en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado de carne. In: III Simposio Internacional de Reproducción Animal. 1999. p. 51–69.
2. S.A SU. Compendium de reproducción animal de Intervet (9o. Edición). Intervet [Internet]. 2007;439. Available from: http://www.sinervia.com/pdf/resources/32/651_compendio_reproduccion_animal_intervet.pdf
3. Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*. 1988;29(1):21–37.
4. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*. 1997;48(1):75–87.
5. Singh J, Pierson RA, Adams GP. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J Reprod Fertil*. 1997;109(1):35–44.
6. Adams GP, Nasser LF, Bo GA, Garcia A, Del Campo MR, Mapletoft RJ. Superovulatory response of ovarian follicles of Wave 1 versus Wave 2 in heifers. *Theriogenology*. 1994;42(7):1103–13.
7. Rajamahendran R, Taylor C. Characterization of Ovarian Activity in Postpartum Dairy Cows using Ultrasound Imaging and Progesterone Profiles. *Animal Reprod Sci Elsevier Sci Publ BV*. 1990;22:171–80.
8. Borges ÁM, Torres CAA, Ruas JRM, Rocha VR, Carvalho GR. Dinâmica folicular ovariana cm novilhas mestiças Holandês-Zebu. *Arq Bras Med Vet e Zootec*. 2001;53(5):595–604.
9. Savio JD, Thatcher WW, Badinga L, de la Sota RL, Wolfenson D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J Reprod Fertil* [Internet]. 1993;97:197–203. Available from: <http://www.reproduction-online.org/cgi/content/abstract/97/1/197><http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.0970197>
10. Diaz T, Schmitt EJP, De La Sota RL, Thatcher MJ, Thatcher WW. Human Chorionic Gonadotropin-Induced Alterations in Ovarian Follicular Dynamics during the Estrous Cycle of Heifers. *J Anim Sci*. 1998;76(7):1929–36.
11. Fortune JE. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility? *Anim Reprod Sci*. 1993;33(1–4):111–25.
12. Pinzón S. C, Grajales L. H. Niveles de progesterona y dinámica folicular en el posparto de vacas Holstein en condiciones del trópico bajo Colombiano. *Rev med vet*. 2005;(9):7–18.
13. Ara G. M, De La Torre V. M, Reyes A. C, Ramos C. O, C. OR. Investigación alimentaria para producción bovina con ordeño en el trópico. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 1999 Jul 3 [cited 2018 Dec 1];10(1):95–104. Available from: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/6708>

14. Bevitori K, Fonseca MP, Tilemahos PZ, Campos V, Kling KA. Avaliação qualitativa da Pastagem diferida de *Brachiaria* de cumbes Stapf sob pastejem, no período da seca por intermedio de três metodos de arrostragen. *Rev Bras Zootec*. 2005;34(1):30–5.
15. Vieira A, Lobato JFP, Correa ES, Torres Junior RA de A, Cezar IM. Produtividade e eficiência de vacas Nelore em pastagem de *Brachiaria decumbens* Stapf nos Cerrados do Brasil Central. *Rev Bras Zootec* [Internet]. 2005 Aug [cited 2018 Dec 1];34(4):1357–65. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000400033&lng=pt&tlng=pt
16. Baruselli PS, Bo GA, Reis EL, Marques MO, Sa FM. Introdução de IATF no manejo reproductivote rebanhos bovinos de corte no Brasil. VI simposio internacional de reproducción animal. Cordoba Argentina; 2005.
17. Oliveira-Filho B., Barnabe M., Gambarini M., Toniollo G. Emprego de norgestomet associado ao valerato de estradiol (Sincromate B) em vacas apresentando anestro pos-parto. *ARS Vet* [Internet]. 2000 [cited 2018 Dec 1];16(1):28–32. Available from: <https://biblat.unam.mx/es/revista/ars-veterinaria/articulo/emprego-de-norgestomet-associado-ao-valerato-de-estradiol-sincromate-b-em-vacas-apresentando-anestro-pos-parto>
18. DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF(2alpha). *Anim Reprod Sci* [Internet]. 2001 Jul 3 [cited 2018 Dec 1];67(1–2):27–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11408111>
19. Delgado BE. Estudio del uso de dos tratamientos hormonales en la sincronización del celo y medición de la tasa de preñez. Universidad Nacional Agraria la Molina.; 1984.
20. Enjoy DED, Cabrera P, Vivas I. Redalyc.Dinámica Folicular ovárica Durante el ciclo estral en vacas Brahman. 2012;
21. Viana JHM, Ferreira A de M, De Sá WF, Camargo LS de A. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesqui Agropecu Bras* [Internet]. 2000;35(12):2501–9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2000001200021
22. Coutinho GTRM, Viana JHM, Sá WF, Camargo LS, Ferreira AM, Palhão PM, et al. Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. *Arq Bras Med Veterinária e Zootec* [Internet]. 2007 Oct [cited 2018 Jul 8];59(5):1089–96. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000500001&lng=pt&tlng=pt
23. Quispe NR, Rojas RD. a SPRA Ultrasonographic determination of ovarian structures and pregnancy Brown Swiss cows under two protocols of timing. 2014;4(1):83–5.
24. Lopez CD. Caracterización del ciclo estral en vacas criollo lechero tropical. Tesis Médico Veterinario y Zootecnista. Mexico; 2005.

25. Rosemberg M. Producción de ganado de carne de doble propósito. Primera ed. Lima – Perú; 2004. 220 p.
26. Horber F. Experiencias en pastos y crianza de ganado vacuno. Lima – Perú; 1984. 79 p.
27. Cardozo G. Conservación y Mejoramiento del Ganado bovino Criollo. Dr. P. Puignau J, editor. Montevideo, Uruguay; 1993. 135–139 p.
28. Wilkins JV, Martínez L, Rojas F. El ganado vacuno criollo [Internet]. Santa Cruz, Bolivia.: Informe Final 1976-1995; 1993 [cited 2019 Apr 28]. 2–69 p. Available from: <http://www.ainfo.inia.uy/consulta/busca?b=ad&id=15167&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22Wilkins, J.V.%22&qFacets=autoria:%22Wilkins, J.V.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>
29. Plasse D. El uso del ganado Criollo en programas de cruzamiento para la producción de carne en América Latina. Estudio FAO, Producción y Sanidad Animal. 1981;(22):77–107.
30. Pinzón Martínez E. Historia de la ganadería bovina en Colombia, Banco Ganadero. Suplemento ganadero. [Internet]. Colombia; 1984 [cited 2019 Apr 28]. 139–144 p. Available from: <https://searchworks.stanford.edu/view/237020>
31. Salazar F, Pearson A, Lucia R., Waugh B, Botero M, Acosta A. Milking performance of Blanco Orejinegro and Jersey crossbred cattle. J Agric Sci [Internet]. 1986 [cited 2019 Apr 28];70(70):65–72. Available from: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0021859600017202
32. Hellman MB. Ganaderia tropical. 3ro ed. Buenos Aires-Argentina: El ateneo; 1983. 34–108 p.
33. Rojas F, Wilkins J V, Guzman L. Selección y mejoramiento de la raza bovina criolla, y producción de leche. Informe anual 1989/1990. CIAT. Santa Cruz - Bolivia.; 1990.
34. Sal Paz F. El Ganado Criollo Argentino: definición y características principales, Ganado Bovino Criollo, Tomo 1. Buenos Aires: Orientación Gráf.; 1986.
35. Youngquist RS, Threlfall WR. Current therapy in large animal theriogenology [Internet]. Vol. 27, Saunders Elsevier. 2007. 544 p. Available from: <http://www.lavoisier.fr/notice/fr283071.html>
36. Senger P. Pathways to Pregnancy and Parturition [Internet]. Vol. 35, Psychiatric rehabilitation journal. 2005. p. 381. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3158808&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
37. Roberts SJ. Veterinary obstetrics and genital diseases. Second edi. Ithaca-NY: Ed. Edwars brothers inc.,; 1971. 343–375 p.
38. Geoffrey H A. Veterinary reproduction and obstetrics. 4th ed. London: Bailliere Tindall; 1975. 616 p.
39. Rojas R. Bovinos Manejo y Crianza. 1ra edicio. UNA-PUNO-PERU: Editorial universitaria; 2007.
40. Palma GA. Biotecnología de la reproducción. 2 ed. Argentina: Producción gráfica integral; 2008.
41. Bath LH, Dickinson NF, Tuckr AH, Appleman DR. Ganado lechero: Principios, prácticas, problemas y beneficios. Segunda Ed. California. EE UU.: Editorial Interamericana; 1982.

42. Callejas S. Fisiología del ciclo estral bovino. Jornadas de biotecnología de la reproducción en hembras de interés zootécnico. Lomas de Zamora: UNLZ y SYNTEX S.A; 1995. 15-16. p.
43. Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil*. 1989;87(1):223–30.
44. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. Vol. 70, *Journal of animal science*. 1992. p. 3615–26.
45. Sirois J, Fortune2 JE. Ovarian Follicular Dynamics during the Estrous Cycle in Heifers Monitored by Real-Time Ultrasonography'. *Biol Reprod*. 1988;39:308–3.
46. Adams GP. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl [Internet]*. 1999;54:17–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10692842>
47. Evans ACO. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim [Internet]*. 2003;38(4):240–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12887563>
48. Lucy MC. The bovine dominant ovarian follicle. *J Anim Sci [Internet]*. 2007;85(13_suppl):E89. Available from: https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/abstracts/85/13_suppl/0850089
49. Mihm M, Crowe MA, Knight PG, Austin EJ. Follicle wave growth in cattle. *Reprod Domest Anim*. 2002;37(4):191–200.
50. Rathbone MJ, Kinder JE, Fike K, Kojima F, Clopton D, Ogle CR, et al. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv Drug Deliv Rev [Internet]*. 2001 Sep 1 [cited 2018 Apr 18];50(3):277–320. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X01001569?via%3Dihub>
51. Fortune JE. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*. 1994;50(2):225–32.
52. Ireland JJ, Mihm M, Austin E, Diskin MG, Roche JF. Historical Perspective of Turnover of Dominant Follicles During the Bovine Estrous Cycle: Key Concepts, Studies, Advancements, and Terms. *J Dairy Sci [Internet]*. 2000;83(7):1648–58. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030200750338>
53. McGee EA, Hsueh AJW. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Vol. 21, *Endocrine Reviews*. 2000. p. 200–14.
54. Erickson BH. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J Anim Sci*. 1966;25(3):800–5.
55. Spicer LJ, Echternkamp SE. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. *J Anim Sci*. 1986;62(2):428–51.
56. Avery B, Hay-Schmidt A, Hyttel P, Greve T. Embryo development, oocyte morphology, and kinetics of meiotic maturation in bovine oocytes exposed to 6-dimethylaminopurine prior to in vitro maturation. *Mol Reprod Dev*. 1998;50(3):334–44.

57. Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM. Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle. *Biol Reprod* [Internet]. 2001;65(3):648–54. Available from: <https://academic.oup.com/biolreprod/article-lookup/doi/10.1095/biolreprod65.3.648>
58. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JC, Ginther OJ. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*. 1992;94(1):177–88.
59. Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. 2008;69(1):72–80.
60. Ginther OJ. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci*. 2000;60–61:61–79.
61. Barros CM, Nogueira MFG. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. In: *Theriogenology*. 2001. p. 1483–96.
62. Mapletoft RJ, Steward KB, Adams GP. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reprod Nutr Dev* [Internet]. 2002;42(6):601–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12625424>
63. Milvae RA, Hinckley ST, Carlson JC. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology* [Internet]. 1996;45(7):1327–49. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0093691X96001008>
64. Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SLC, Conti M. EGF-Like Growth Factors As Mediators of LH Action in the Ovulatory Follicle. *Science* (80-). 2004;303(5658):682–4.
65. Peters AR. Hormonal control of the bovine oestrous cycle. I. The natural cycle. *Br Vet J*. 1985;141(6):564–75.
66. Crisp TM, Clegg ED, Cooper RL, Wood WP, Andersen DG, Baetcke KP, et al. Environmental endocrine disruption: An effects assessment and analysis. *Environ Health Perspect* [Internet]. 1998;106(SUPPL. 1):11–56. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord%7B%7Dfrom=export%7B%7Ddid=L28196035%5Cnhttp://rug.on.worldcat.org/atoztitles/link/?sid=EMBASE%7B%7Dissn=00916765%7B%7Ddid=doi:%7B%7Datitle=Environmental+endocrine+disruption:+An+effects+assessme>
67. Clarke IJ, Cummins JT. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized EWES. *Endocrinology*. 1982;111(5):1737–9.
68. Hafez ES, Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en animales. Séptima Edición*. McGraw-Hill. 2002.
69. Zucchi S, Mirbahai L, Castiglioni S, Fent K. Transcriptional and physiological responses induced by binary mixtures of drospirenone and progesterone in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Sci Technol*. 2014;
70. González SC, Madrid N, Soto E. *Desarrollo Sostenible de la Ganadería Doble Propósito*. Ediciones. Maracaibo, Venezuela; 2008.
71. Rekawiecki R, Kowalik MK, Slonina D, Kotwica J. Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. In: *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2008. p. 75–89.

72. Ungerfeld R. Reproduccion en los Animales Domesticos. Melibea. Montevideo.; 2002.
73. Walker D, Ritchie H, Hawkins D. Estrus Synchronization in Beef Cattle. Michigan beef production. [Internet]. Michigan, EE.UU.; 2010 [cited 2018 Dec 5]. Available from: <https://extension.msstate.edu/sites/default/files/publications/publications/p2614.pdf>
74. Alba J de. Reproduccion Animal. Copilco S. Mexico; 1985.
75. Baenziger JU, Green ED. Pituitary glycoprotein hormone oligosaccharides: Structure, synthesis and function of the asparagine-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin and thyrotropin. Vol. 947, BBA - Reviews on Biomembranes. 1988. p. 287–306.
76. Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. Biol Reprod. 2001;64(1):197–205.
77. Eppig JJ, O'Brien M, Wigglesworth K. Mammalian oocyte growth and development in vitro. Mol Reprod Dev [Internet]. 1996;44(2):260–73. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9115726
78. Botana López LM. Farmacología y Terapéutica Veterinaria [Internet]. 1ra ed. S.L. M-HI de E, editor. Madrid, España; 2002 [cited 2018 Nov 6]. 1000 p. Available from: http://redbiblio.unne.edu.ar/pdf/0603-002739_D.pdf
79. Hervas Toctaquiza VA. Evaluación de Diferentes Métodos de Sincronización del Celo en Vacas Lecheras en la Provincia de Pastaza [Internet]. Riobamba- Ecuador.; 2011 [cited 2018 Dec 5]. Available from: http://rraae.org.ec/Record/0005_936551a0d2a99966b4a4b0613f2b1e30
80. Engelhardt W, Breves G. Fisiología veterinaria [Internet]. Zaragoza, España: Editorial Acribia; 2002 [cited 2018 Dec 3]. Available from: https://www.editorialacribia.com/libro/fisiologia-veterinaria_54451/
81. Núñez R. Utilización de gonadotropina Coriónica equina (eCG) en vacas de carne, sobre la tasa de preñez y pérdidas embrionarias en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (Tesis, especialista en reproducción bovina). 2011;Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 16p.
82. Álava JE. Evaluación de la hormona Coriónica equina para disminuir la muerte embrionaria en vacas. (Tesis Médico Veterinario). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria.; 2013.
83. Fricke PM. REVIEW: Twinning in Dairy Cattle. Prof Anim Sci [Internet]. 2001;17(2):61–7. Available from: <http://pas.fass.org/content/17/2/61.abstract?sid=b833be02-405d-4726-b507-23ef1898b57f>
84. Pieterse MC. El ultrasonido en la reproducción bovina: aplicaciones en diagnóstico y tratamiento. 1999;18-26.
85. Griffin PG, Ginther OJ. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. Vol. 70, Journal of animal science. 1992. p. 953–72.

86. Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*. 1990;33(6):1269–78.
87. Battocchio M, Gabai G, Mollo a, Veronesi MC, Soldano F, Bono G, et al. Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology*. 1999;51(99):1059–69.
88. Pieterse MC, Taverne MA, Kruip TA, Willemse AH. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. [Internet]. Vol. 126, *Veterinary Record*. 1990. p. 552–4. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0025698468&partnerID=tZOtx3y1>
89. Fricke PM. Scanning the Future—Ultrasonography as a Reproductive Management Tool for Dairy Cattle. *J Dairy Sci* [Internet]. 2002;85(8):1918–26. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030202742689>
90. LÓPEZ GÓMEZ R. “ULTRASONOGRAFIA APLICADA A LA REPRODUCCIÓN BOVINA.” 2011.
91. DesCôteaux L, Gnemmi G, Colloton J. Ultrasonography of the Bovine Female Genital Tract. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. 2009.
92. Quintela LA, Díaz C, Herradón PG, Peña AI, Becerra JJ. Ecografía y reproducción en la vaca. Universidad Santiago de Compostela, Spain: Servicio de publicaciones e intercambio científico,; 2006. 92 p.
93. Basu A, Shrivastav TG, Maitra SK. A direct antigen heterologous enzyme immunoassay for measuring progesterone in serum without using displacer. *Steroids*. 2006;71(3):222–30.
94. Gómez-Lucía Duato Gustavo Domínguez Bernal Ana Doménech Gómez M^a del Mar Blanco Gutiérrez Alicia Gibello Prieto Joaquín Goyache Goñi José Manuel Sánchez-Vizcaíno Rodríguez Mónica Suárez Rodríguez M^a Teresa Cutuli de Simón E. Compendio de guiones para clases teóricas en la asignatura Inmunología en Veterinaria III: técnicas inmunológicas. *Reduca (Recursos Educ Ser Vet)*. 2011;3(15):94–121.
95. Karir T, Samuel G, Sivaprasad N VM. Comparative evaluation of various solid phases for the development of coated tube assays for the estimation of progesterone in human serum, bovine serum and bovine milk. 2009;67–73; 1965.
96. Galina C, Saltiel A. Reproducción de Animales Domésticos. México, México: LIMUSA S.A.; 1995.
97. Hernandez Ceron J. Fisiología Clínica de La Reproducción de los bovinos lecheros [Internet]. Primera edición. Coyoacán, México.: DCV F. Avril Braulio Ortiz; 2012 [cited 2018 Dec 5]. Available from: <https://es.scribd.com/document/255215297/Fisiologia-Clinica-de-La-Reprod-JHC>
98. Gélvez L. Mundo Pecuario. El diagnóstico de preñez en vacas. [Internet]. 2012. Available from: http://mundopecuario.com/tema252/reproduccion_bovinos/diagnostico_preñez-1498.html. ISBN.

99. Rodríguez EC. Comparación de tres métodos para la sincronización del ciclo estral en vaquillas lecheras de la raza Holstein. [Internet]. Instituto Tecnológico de Sonora; 2004. Available from: JULIO de 2004. biblioteca.itson.mx/dac/sl/tesis/270_cesar_rodriguez.pdf.
100. Perez G. Diagnostico fisico en vacunos. Universidad Nacional del Altiplano. 1ra Edicio. Peru: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2002.
101. Lowman BG, Scott NA, Somerville SH, East of Scotland College of Agriculture. Animal Production A and DD. Condition scoring of cattle [Internet]. Rev. ed. Edinburgh: Edinburgh School of Agriculture; 1976 [cited 2018 Oct 30]. 31 p. Available from: <http://www.worldcat.org/title/condition-scoring-of-cattle/oclc/8589575>
102. Derivaux J. Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los animales domésticos. Zaragoza, España; 1961. 416 p.
103. Guzmán Aguirre FV. EFECTO DEL DIÁMETRO DEL FOLÍCULO PREOVULATORIO EN EL MOMENTO DE LA IATF Y DE LA EXPRESIÓN DE ESTRO SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS NELORE CON CRÍA AL PIE. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); 2018.
104. Sá Filho M., Crespilho A., Santos JE., G.A P, Baruselli P. Ovarian Follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled Bos indicus cows. *Anim Reprod Sci.* (120):23–30.
105. Martins T, Peres RF., Rodrigues AD., Polher K., Pereira MH., Day M., et al. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology.* 2014;81:446–53.
106. Henao G, Trujillo L. Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. *Rev Col Cienc Pec.* 2000;13:108–20.
107. Quintero Chanis ER. CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA Y TASA DE PREÑEZ EN VACAS LECHERAS EN LACTANCIA TRATADAS CON DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES NUEVOS O DE SEGUNDO USO EN LA CUENCA LECHERA DE CHIRIQUÍ - PANAMÁ. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); 2017.
108. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology* [Internet]. 1995;44(7):915–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16727787>
109. Twagiramungu H, Guilbault LA, Dufour JJ. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J Anim Sci* [Internet]. 1995 Oct [cited 2018 Oct 24];73(10):3141–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8617687>

110. Martinez MF, Adams GP, Bergfelt DR, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci* [Internet]. 1999 Oct 31 [cited 2018 Oct 24];57(1–2):23–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10565437>
111. Ochoa Mejia EP. Efecto de la permanencia del dispositivo con P4 y dosis adicional de prostaglandina sobre la dinámica folicular y tasa de preñez en vacas lecheras sincronizadas con el protocolo Co-synch. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); 2019.
112. Martín Gonzalo R. TRATAMIENTOS QUE PROLONGAN EL PROESTRO USANDO ESTRADIOL Y PROGESTERONA EN VAQUILLONAS DE LECHE. Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC); 2018.
113. Tsai S, Wiltbank M. Prostaglandin F2 regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.* 1998;58:346–52.
114. Cruppe L, Day M. “Optimizing timed AI pregnancy rate with the 5-d CO-Synch + CIDR program.” In: *Proceedings of the 2012 Joint Convention of CETA/ACTE and AETA.* 2012;3–19.
115. Souto L, Maquivar M, Mussard M, Bridges G, Grum D, Day M. Fertility and luteal regression with 5-d CIDR synchronization programs in postpartum beef cows using differing luteolytic treatments [abstract]. *J Anim Sci.* 2009;87(2):372.
116. Kasimanickam R, Day M, Rudolph J, Hall J, Whittier W. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesteronebased synchronization protocol in beef cows. *Theriogenology.* 2009;71:762–7.
117. Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2007;85:684–9.
118. Sá Filho OJ, Meneghetti M, Peres R, Lamb G, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology.* 2009;72:210–8.
119. Galvao KN, Santos JEP. Factors affecting synchronization and conception rate after the Ovsynch protocol in lactating Holstein cows. *Reprod. Domest. Anim.* 2010;45:439–46.
120. Meneghetti M, Sá Filho OJ, Peres R, Lamb G, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cow I: Basis for development of protocols. *Theriogenology.* 2009;72:179–89.

ANEXOS.

Anexo 2. Registro de identificación de animales.**IDENTIFICACION DE ANIMALES****DATOS DEL PRPIETARIO**

Propietario: _____

Teléfono: _____

Fundo: _____

DATOS DEL ANIMAL

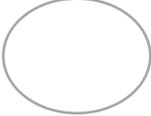
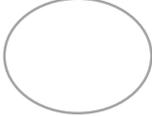
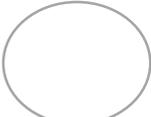
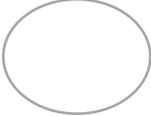
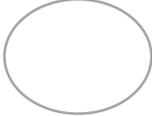
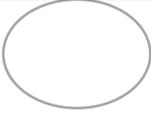
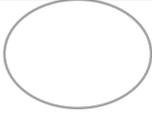
Nº de registro: _____ Edad: _____ Raza: _____

Nº de partos: _____ Color: _____

Peso: _____

PROPIETARIO._____
TESISTA._____
ASESOR.

Anexo 3. Registro de crecimiento folicular por ecografía.

VACA N° _____			
DIA Y FECHA	OVARIO DERECHO	OVARIO IZQUIERDO	OBSERVACIONES
DIA:..... FECHA:.....			
DIA:..... FECHA:.....			
DIA:..... FECHA:.....			
DIA:..... FECHA:.....			
DIA:..... FECHA:.....			
DIA:..... FECHA:.....			

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 4. Panel fotográfico de la ejecución de la investigación.

Figura 1. Selección de animales para el experimento.



Figura 2. Materiales y equipos que se usaron.



Figura 3. Procedimiento de ecografía en bovinos criollos

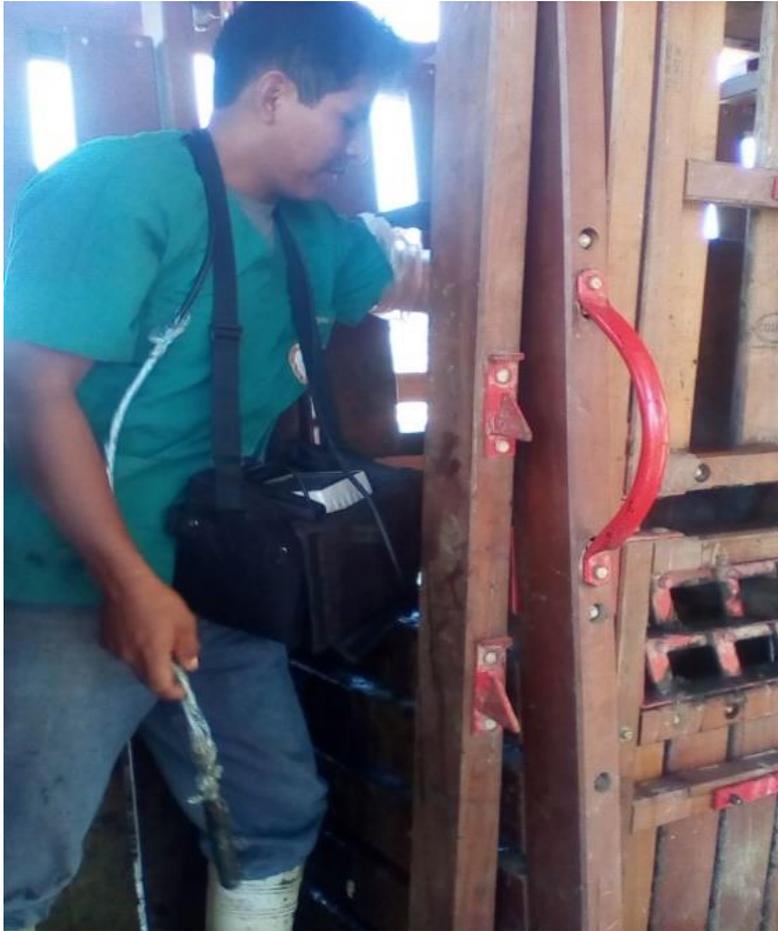


Figura 4. Selección de vacas haciendo uso de ecografía transrectal.



Figura 5. Comportamiento de estro en vacas sincronizadas.



Figura 6. Inseminación Artificial al finalizar los protocolos de sincronización de celo.



Figura 7. Imagen ecográfica del folículo ovárico en el día 0.



Figura 8. Diagnóstico de preñez a los 30 días post

