

UNIVERSIDAD DE CUENCA



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Valoración de la respuesta ovárica a la adición de eCG en un protocolo de sincronización a tiempo fijo en vacas Holstein”

Tesis previa a la obtención del título de:
Médica Veterinaria Zootecnista.

AUTORA:

Gabriela Sofía Garay Peña.

C.I: 0106047889

DIRECTOR:

Dr. Luis Eduardo Ayala G.

C.I: 0102635463

Cuenca - Ecuador

2015



Resumen

El objetivo de la presente investigación, fue evaluar la respuesta ovárica medida en número de folículos, tamaño del folículo preovulatorio y porcentaje de ovulación, al incluir 400UI de Hormona Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) al quinto día de un protocolo de sincronización con progestágenos en vacas de raza Holstein mestiza en periodo post parto. Para este trabajo se utilizaron 30 vacas entre 2 y 5 partos con condición corporal de 2,75 a 3,5 (escala de 1 a 5), que fueron asignadas a dos tratamientos de 15 animales cada uno: T1 o control ($n_1=15$) y T2 o experimental ($n_2=15$) con adición de eCG. El diagnóstico ultrasonográfico se efectuó el día 0 o inicio del tratamiento con progestágenos, el día 5 y 8, para determinar el número de folículos en cada momento, y los días 10 y 11 para obtener el tamaño del folículo preovulatorio; así como la presencia de la ovulación en los dos tratamientos en estudio. Los datos obtenidos fueron procesados y analizados en el programa SPSS® versión 22 y se determinó: en la variable número de folículos reclutados, en el tratamiento 1 y 2 para el día 0 se obtuvo una media de $5,7 \pm 0,69$ y $5,4 \pm 0,83$, para el día 5 una media de $7,6 \pm 0,79$ y $9,0 \pm 0,95$, y para el día 8 una media de $7,3 \pm 0,86$ y $10,1 \pm 1,07$ respectivamente; sin determinar significancia estadística ($p > 0,05$). Para la variable: tamaño de folículo preovulatorio, se obtuvo una media de $15,8 \pm 0,88$ en el tratamiento 1 y $14,9 \pm 0,97$ en el tratamiento 2, siendo valores estadísticamente no significativos ($p > 0,05$). Para el análisis de porcentaje de ovulación en el T1 se obtuvo 86,7 % de ovulación, y para el T2 se obtuvo 73,3 % de ovulación, no se determinó significancia estadística ($p > 0,05$). Mediante los resultados logrados se concluye que la adición de eCG al quinto día de un tratamiento de progestágenos no provocó efecto sobre la actividad ovárica.

Palabras claves: Vacas, Folículo preovulatorio, Gonadotrofina Coriónica Equina, ultrasonográfico.



Abstract

The objective of this research was to evaluate the ovarian response. It was measured in number of follicles, the preovulatory follicle size and the percentage of ovulation, including 400IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) hormone, in the fifth day of a synchronization protocol with progestogens. It was found in native Holstein cows, in their postpartum period. In this work thirty cows were used. They were between two and five partum with body condition of 2,75 to 3,5 which were assigned to two treatments. It was divided in groups of fifteen animals each: T1 or control (n=15) and T2 or experimental (n=15) with addition of eCG. The ultrasonographic diagnosis was to make in the day 0 or when the treatment was to start with progestogens. On the day 5 and 8, so it can be determined follicles number in each moment. The days 10 and 11 were to obtain the preovulatory follicle size as well as the presence of ovulation in both treatments that were to study. The data was processed and analyzed with the program SPSS® version 22, where it was determined that: in the variable number of follicles recruited, in its treatment 1 and 2 for the day 0, an average of $5,7 \pm 0,69$ and $5,4 \pm 0,83$ was obtained. For the day 5, it was with an average of $7,6 \pm 0,79$ and $9,0 \pm 0,95$, and for the day 8 it was $7,3 \pm 0,86$ and $10,1 \pm 1,07$ respectively; in where they did not determine statistical significance ($p > 0,05$). In the variable size of preovulatory follicle, an average of $15,8 \pm 0,88$ were obtained in the treatment 1 and $14,9 \pm 0,97$ in treatment 2, but these were not significant numbers ($p > 0,05$). The analysis of ovulation in its percentage in the T1 got 86,7 %, and in the T2 got 73,3 % of ovulation. It was not determined statistical significance ($p > 0,05$). Finally, the results were to get with the eCG addition in the 5 day in the treatment of progestogens, it did not have effect in the ovarian activity.

Keywords: Cows, preovulatory follicle, Equine chorionic gonadotropin, Ultrasound.



Contenido

Resumen 1

Abstract..... 2

Contenido 3

Introducción..... 17

 Reproducción animal 19

 Anatomía reproductiva de la vaca 19

 Vulva 19

 Vestíbulo 20

 Vagina..... 20

 Cérvix..... 20

 Útero 20

 Oviducto 21

 Ovarios 21

 Folículos 21

 Fisiología reproductiva de la vaca. 22

 Funciones de las hormonas folículo estimulante (Fsh) y luteinizante (Lh). 23

 Sistema tónico..... 23

 Sistema cíclico. 23

 Hormonas del ovario..... 24

 Estrógeno. 24

 Progesterona 24

 Mecanismo de ovulación. 24



Mecanismo endocrinológico de la ovulación.....	25
Fases del ciclo estral de la vaca	27
Diestro	27
Proestro	27
Estro	27
Metaestro	28
Dinámica folicular de la vaca.....	28
Ondas foliculares.	29
Reclutamiento.	29
Selección.....	30
Dominancia.....	30
Vacas en anestro	30
Actividad ovárica pos parto.....	31
Mecanismos endocrinológicos de la actividad ovárica postparto	31
Control farmacológico del ciclo estral.	32
Sincronización de celo.	33
Métodos de sincronización.	33
Dispositivo con P4 + EB / EB o GnRH.....	33
Dispositivos con progesterona en combinación con eCG.	35
Gonadotropina coriónica equina.	35
Actividad de la eCG.....	35
Acciones de la eCG.....	36
Balance energético negativo.	36



Mecanismo del balance energético negativo	36
Balance energético negativo en la reproducción.....	37
Palpación transrectal	37
Ultrasonografía	37
Transductores	38
Materiales y Métodos	40
Materiales de campo	40
Materiales de oficina	40
Métodos	41
Área de Estudio.....	41
Unidad de análisis	42
Metodología.....	43
Selección de los animales	43
Elaboración de plantillas para toma de datos	43
Tratamientos.....	43
Selección de la muestra	44
Protocolo de sincronización	44
Variables	45
Registro ultrasonográfico.....	45
Día cero de los tratamientos	47
Resultados	50
Variable número de folículos	50
Variable tamaño de folículo preovulatorio	52



Crecimiento del folículo preovulatorio en milímetros durante los días 5, 8 y 10 ...	54
Porcentaje de crecimiento del folículo preovulatorio	56
Variable porcentaje de ovulación.....	58
Discusión.....	60
Conclusiones	64
Bibliografía	65
Anexos	73



Lista de Cuadros

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos en estudio 43

Cuadro 2. Estructuras ováricas presentes en el día 0 del tratamiento 1 48

Cuadro 3. Estructuras ováricas presentes en el día 0 del tratamiento 2 49

Cuadro 4. Media y error estándar del número de folículos presentes en el día 0, 5 y 8 del tratamiento 1 y 2. 50

Cuadro 5. Media y error estándar del tamaño del folículo preovulatorio obtenido al día 10 de los dos tratamientos. 52

Cuadro 6. Media y error estándar del tamaño del folículo preovulatorio para los días 5, 8 y 10 en los tratamientos 1 y 2. 54

Cuadro 7. Medias y error estándar de los porcentajes de crecimiento entre los días 5 a 8 y 8 a 10 en los tratamientos 1 y 2. 56

Cuadro 8. Porcentaje de ovulación para los tratamientos 1 y 2. 58

Cuadro 9. Porcentaje de ovulaciones en cada ovario para los tratamientos 1 y 2. 58



Lista de figuras

Figura 1. Anatomía del tracto reproductor de la vaca y estructuras ováricas..... 22

Figura 2. Folículo terciario o de Graff. 25

Figura 3. Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo-
Hipófisis-Ovario..... 26

Figura 4. Relación de hormonas y estructuras ováricas encontradas durante el ciclo
estral. 28

Figura 5. Tipos de imágenes presentes en una ecografía..... 38

Figura 6. Sonda de tipo convexa..... 34

Figura 7. Sonda de tipo lineal 39

Figura 8. Imagen del monitor obtenido..... 34

Figura 9. Imagen rectangular del monitor 39

Figura 10. Ubicación satelital de las parroquias Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete.
..... 41

Figura 11. Descripción gráfica del tratamiento 1 (sin eCG)..... 47

Figura 12. Descripción gráfica del Tratamiento 2 (con eCG). 47

Figura 13. Media del número de folículos con sus intervalos de confianza, presentes
en los días 0, 5 y 8 de los tratamientos..... 51

Figura 14. Media del tamaño del folículo pre ovulatorio, con sus intervalos de
confianza para los dos tratamiento (1 y 2)..... 53



Figura 15. Media del tamaño en milímetros con sus intervalos de confianza del folículo preovulatorio en los tratamientos 1 y 2, de los días 5, 8 y 10 del protocolo...55

Figura 16. Media del porcentaje de crecimiento folicular, con sus intervalos de confianza en los días del 5 al 8 y del 8 al 10 en los tratamientos 1 y 257

Figura 17. Porcentaje de ovulación para los tratamientos 1 y 2.59



Lista de Anexos

Anexo 1. Plantilla de registro para la toma de datos en el estudio ultrasonográfico. . 73

Anexo 2. Plantilla de registro para la toma de datos de los antecedentes de los animales en estudio..... 73

Anexo 3. Tamaño en milímetros (mm) de cada estructura presente en el ovario derecho (O.D) y ovario izquierdo (O.I) para el día 0 del tratamiento 1. 74

Anexo 4. Tamaño en milímetros (mm) de cada estructura presente en el ovario derecho (O.D) y ovario izquierdo (O.I) para día 0 del tratamiento 2. 75

Anexo 5. Prueba t de student para muestras independientes para el número de folículos presentes en los días 0, 5 y 8 en los tratamientos 1 y 2. 76

Anexo 6. Prueba t de student para muestras independientes para el tamaño de folículo preovulatorio en los días 5, 8 y 10 de registro para los tratamientos 1 y 2. ... 76

Anexo 7. Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para el porcentaje de crecimiento del folículo preovulatorio medido desde el día 5 al 8 y del día 8 al 10, para los tratamientos 1 y 2. 77

Anexo 8. Prueba t de student para el porcentaje de ovulación en el día 11 de registro para los tratamientos 1 y 2. 77

Anexo 9. Registro de ovulaciones de cada animal en el tratamiento 1. 78

Anexo 10. Registro de ovulaciones de cada animal en el tratamiento 1. 79

Anexo 11. Selección de la muestra. 79

Anexo 12. Chequeo ginecológico para verificar involución uterina. 80



Anexo 13. Aplicación del implante intravaginal, Universidad De Cuenca “IRQUIS”... 80

Anexo 14. Benzoato de estradiol empleado en el protocolo para cada tratamiento (1 y 2)..... 81

Anexo 15. Aplicación intramuscular de Benzoato de estradiol. Universidad De Cuenca “IRQUIS” 81

Anexo 16. Aplicación de Cloprostenol sódico (prostaglandina sintética). 82

Anexo 17. Aplicación de 400UI de eCG Hormona gonadotropina coriónica equina. . 82

Anexo 18. Parches adhesivos para detectar celo. 83

Anexo 19. Colocación de parche detector de celo en la unión entre vertebras lumbares y hueso coccígeo..... 83

Anexo 20. Descarga y toma de datos de las ecografías..... 84

Anexo 21. Ecografía ovárica derecha de la vaca 634, perteneciente al día 0 del tratamiento 1..... 84

Anexo 22. Ecografía ovárica izquierda de la vaca 634, perteneciente al día 0 del tratamiento 1..... 85

Anexo 23. Ecografía ovárica derecha en la vaca 634, perteneciente al día 5 del tratamiento 1..... 85

Anexo 24. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, perteneciente al día 5 del tratamiento 1..... 86

Anexo 25. Ecografía ovárica derecha en la vaca 634, perteneciente al día 8 del tratamiento 1..... 86



Anexo 26. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa el folículo preovulatorio perteneciente al día 8 del tratamiento 1..... 87

Anexo 27. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa dos folículos preovulatorio pertenecientes al día 10 del tratamiento 1. 87

Anexo 28. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa la fosa de ovulación perteneciente al día 11 del tratamiento 1..... 88

Anexo 29. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 0 del tratamiento 2..... 88

Anexo 30. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 0 del tratamiento 2..... 89

Anexo 31. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 5 del tratamiento 2..... 89

Anexo 32. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 5 del tratamiento 2..... 90

Anexo 33. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 8 del tratamiento 2..... 90

Anexo 34. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 8 del tratamiento 2..... 91

Anexo 35. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, se observa el folículo preovulatorio perteneciente al día 10 del tratamiento 2. 91



Yo Gabriela Sofía Garay Peña autora de la tesis “**Valoración de la respuesta ovárica: a la adición de eCG en un protocolo de sincronización a tiempo fijo en vacas Holstein**”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora

Cuenca, 23 de Octubre de 2015

Gabriela Sofía Garay Peña

C.I: 010604788-9

Gabriela Sofía Garay Peña.



Gabriela Sofía Garay Peña, autora de la tesis **“Valoración de la respuesta ovárica: a la adición de eCG en un protocolo de sincronización a tiempo fijo en vacas Holstein”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de Octubre de 2015

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a blue oval, reading "Gabriela Sofía Garay Peña".

Gabriela Sofía Garay Peña

C.I: 010604788-9

Gabriela Sofía Garay Peña.



Agradecimientos

Ante todo agradezco a Dios, por brindarme salud, conocimiento y vida para levantarme cada día y cumplir mis objetivos, le doy gracias por poner en mi camino personas que forman parte de mí y que han ayudado a que este trabajo sea una realidad, gracias a mi director Dr. Luis Ayala porque a más de ser un gran profesional es un excelente ser humano y un buen amigo, gracias al Dr. José Luis P. porque con su carácter y forma de ser me enseña lo importante que es ser un buen profesional, a los Doctores: Luis Galarza, Ramiro Rodas, Juan Vásquez y aunque no nombre, la lista es interminable para brindarles mis más sinceros agradecimientos, agradezco a mi mami por darme ese empujón cada día para ser fuerte y saber que tengo quien me respalde, a mi hermana por ser mi alegría cada vez que estoy derrotada, con su buen genio y su optimismo, a mi padre por su ayuda, a pesar de la distancia que siempre nos ha separado y a Cristian por su apoyo y ayuda incondicional durante todo este tiempo.

Gabriela Garay Peña.



Dedicatoria

Este trabajo y todo el sacrificio que implica este título lo dedico a mi mami Elith y mi hermana Dalia, por ser mi ejemplo y mí fuerza, y por qué hicieron que esta lucha sea más sencilla.

Gabriela Garay Peña.

Gabriela Sofía Garay Peña.



Introducción

En los últimos años se han desarrollado protocolos de sincronización de la ovulación para evitar la necesidad de la detección de celos, con la cual puede ser eliminada o al menos minimizada sin comprometer las tasas de preñez (Colazo, Mapletoft, Martínez y Kastle, 2007).

En la actualidad se investiga la acción hormonal sobre la dinámica folicular, durante el ciclo estral de la vaca con el objetivo de mejorar la eficiencia reproductiva (Díaz, 2008), se dispone de un conjunto de hormonas, tales como: estrógenos, progesterona y progestágenos, gonadotropina coriónica equina (eCG), prostaglandina F_{2α} natural o sus análogos sintéticos (PGF_{2α}), entre otros, que utilizadas en diferentes protocolos permiten controlar farmacológicamente el ciclo estral. Esto facilita la implementación de la inseminación artificial (IA) a celo detectado (Callejas, 2004). Una de las variantes en estudio es el efecto que genera la gonadotropina coriónica equina (eCG) sobre el porcentaje de ovulación y concepción (Ferreira *et al.*, 2013). La eCG tiene un efecto de larga duración sobre los receptores de las células de la granulosa y de la teca lo que estimula la secreción de estradiol y progesterona, por ello, esta hormona se ha convertido en una sustancia de gran beneficio, utilizándose cada vez con más frecuencia como parte de los protocolos de sincronización para inseminación a tiempo fijo ya que existe un mayor número de folículos reclutados, disminuye la tasa de folículos atresicos, sostiene el crecimiento de los folículos medianos y grandes, mejora del desarrollo del folículo dominante pre-ovulatorio, mejora la tasa de concepción en vacas con retraso en la ovulación y mejora el desarrollo y la supervivencia embrionaria (De Rensis & López, 2014).

El continuo implemento de variantes en los diferentes métodos, contempla una importante función, que busca elevar el nivel de eficiencia reproductivo y por ende el productivo. En base a lo expuesto esta investigación aporta con información sobre la Gabriela Sofía Garay Peña.



respuesta ovárica obtenida al adicionar una dosis de hormona gonadotropina coriónica equina en un protocolo de sincronización con progestágenos.

En el presente estudio se planteó lo siguiente:

Objetivo general:

Evaluar la respuesta ovárica: número de folículos, tamaño de folículo preovulatorio y porcentaje de ovulación, mediante ultrasonografía, al incluir eCG a un protocolo de sincronización a tiempo fijo en vacas de raza Holstein mestiza en periodo post parto.

Objetivos específicos:

- ❖ Determinar el número de folículos, el tamaño del folículo preovulatorio y el porcentaje de ovulación obtenidos mediante el protocolo de sincronización de celo a tiempo fijo en vacas de raza Holstein mestizas.
- ❖ Cuantificar el número de folículos, el tamaño del folículo preovulatorio y el porcentaje de ovulación obtenidos en un protocolo de sincronización a tiempo fijo utilizando eCG al día 5 del tratamiento.

Hipótesis

¿La adición de 400UI de eCG al 5 día de un protocolo de sincronización a tiempo fijo provocará una respuesta ovárica efectiva en número de folículos, tamaño de folículo preovulatorio y porcentaje de ovulación?



Revisión de literatura

Reproducción animal

La reproducción es una secuencia de eventos que comienza con el desarrollo del sistema reproductivo en el embrión. Luego de su nacimiento, se produce un estado de aparente quietud o latencia hasta la pubertad, donde el animal debe alcanzar el tamaño y peso adecuados para enfrentar un estado de futura madurez sexual, las hormonas que intervienen en la reproducción se dividen en:

Primarias: forman parte directa de varios aspectos de la reproducción como la ovulación, comportamiento sexual y materno, fecundación, implantación y mantenimiento de la gestación, parto y lactancia.

Metabólicas: comprende aquellas hormonas necesarias para el bienestar general y estado metabólico adecuado del animal, que permitirán de este modo, que ocurra la reproducción (Echeveria, 2006).

Anatomía reproductiva de la vaca

Vulva

Orificio externo del aparato reproductor, compuesto de pliegues de piel y cabellos que ofrecen una adecuada protección a las estructuras internas. La vulva durante el celo o tiempo de aceptación del macho, es afectada por los efectos del estradiol incrementando la irrigación (luz de color rojo); incrementando la humedad y el tejido se inflama. La vulva y el vestíbulo son las únicas partes que comparten el tracto urinario y el tracto reproductivo (Rivera, 2009).



Vestíbulo

Primera estructura que se encuentra craneal a la vulva, mide 7-10 centímetros (cm) de largo, es una porción común para el sistema urinario y reproductor, ya que alberga el orificio uretral, además contiene las glándulas de Garther, que son los remanentes de los conductos de Wolff (Rangel *et al.*, 2009).

Vagina

Mide 25 a 30cm de longitud, se localiza craneal al vestíbulo y se extiende cranealmente hasta la entrada del cérvix. La vagina es un órgano dilatable para la cópula, además de formar el canal para la salida del feto y la placenta al momento del parto (Rangel *et al.*, 2009).

Cérvix

Tiene paredes gruesas y una abertura pequeña difícil de penetrar debido a la superposición o pliegues anulares (3-4 anillos), sirve como una vía de paso de los espermatozoides depositados en la vagina, se llena de una secreción gruesa que protege al útero de material infeccioso (Turner, 2014).

Útero

La vaca posee un útero de tipo bicornual de fusión moderada (Rangel *et al.*, 2009), se encuentra envuelto en el ligamento ancho del útero que le da gran movilidad, es el responsable por brindar protección al feto. El útero puede dividirse en cuerpo del útero y dos cuernos. El cuerpo del útero es la primera parte del útero en dirección caudo-craneal y es la única porción compartida de las dos mitades derecha e izquierda del útero, la longitud es de 2 a 4cm. Los cuernos uterinos son la continuación directa del cuerpo del útero. Cada cuerno (derecho e izquierdo) es una estructura cilíndrica y simétrica, continuando en forma craneal los cuernos se doblan en una posición ventro-caudal y después se vuelven a doblar en forma dorsal para juntarse al oviducto, su longitud es de 35-40cm (Rivera, 2009).



Oviducto

Une los cuernos uterinos con el ovario, además de ser el sitio donde se lleva a cabo la fertilización. El extremo craneal presenta una estructura en forma de embudo llamada fimbria la cual abraza el ovario y captura el óvulo durante la ovulación. Una vez que el óvulo entra el oviducto, viaja y se deposita en la ampolla (la parte media del oviducto), el ovulo fertilizado (embrión) viaja en dirección caudal a través del istmo y la unión útero-tubal para llegar al cuerno 3 a 4 días después (Rivera, 2009), la longitud del oviducto es de aproximadamente 25cm (Rangel *et al.*, 2009).

Ovarios

Los ovarios tiene una forma ovoide con un peso de 10 a 20 gramos (Rangel. *et al.*, 2009), el ovario es el órgano reproductor femenino principal y tiene dos funciones importantes: la producción de la célula reproductora femenina (el huevo u óvulo) y la producción de las hormonas estrógeno y progesterona. Los ovarios se encuentra en la cavidad abdominal (Turner, 2014).

Folículos

Son estructuras esféricas rodeadas por una membrana semitransparente, su consistencia es la de una vejiga con líquido en su interior y al tacto suave puede presionarse fácilmente; en la vaca su tamaño máximo es de 2 a 2,5cm. Los folículos se clasifican en primarios o preantrales, menores a 4 milímetros (mm), secundarios o antrales (de 4 a 9mm) y terciarios o de Graaf (mayores a 9mm). El número de folículos que en la vaca pueden llegar a madurar va de 1 a 2 (Rangel *et al.*, 2009).

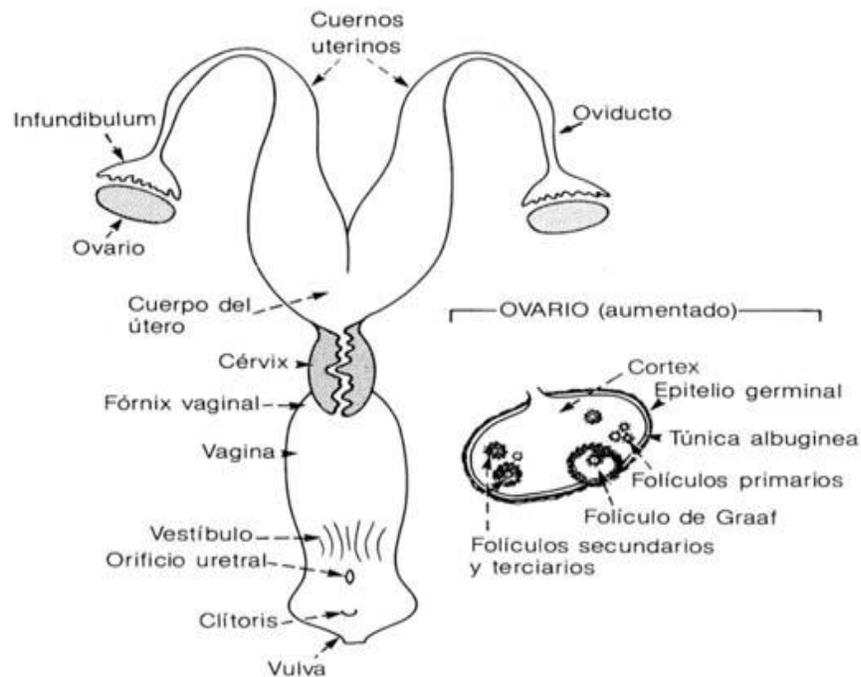


Figura 1. Anatomía del tracto reproductor de la vaca y estructuras ováricas (Mora, 2008).

Fisiología reproductiva de la vaca

La regulación de la actividad sexual está representada en el organismo por el Sistema hipotálamo-hipófisis-ovárico. Este control es ejercido a través de un sistema de regulación mediante el cual una hormona o producto de secreción puede inhibir la liberación de otra hormona, sistema denominado retroalimentación negativa o, por el contrario, estimular la síntesis y liberación de una mayor cantidad de hormona o sistema denominado retroalimentación positiva (Echeverría, 2006).



El hipotálamo reviste una gran importancia en la actividad de la glándula hipófisis ya que es precisamente a nivel hipotalámico donde se producen la GnRH (hormona gonadotropina), que es una hormona proteica y tiene un papel fundamental en la regulación del control neurohormonal (Anjum *et al.*, 2009). La GnRH es liberada en forma de pulsos, en la eminencia media, difunde a los capilares del sistema porta hipofisiario y de allí hasta las células de la adenohipófisis en donde estimula la síntesis de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), hormonas relevantes en el control del ciclo estral (Motta *et al.*, 2011). La GnRH es la principal señal cerebral responsable de la síntesis y liberación de LH y FSH (Anjum *et al.*, 2009).

Funciones de las hormonas folículo estimulante (Fsh) y luteinizante (Lh)

La FSH (hormona folículo estimulante) es la responsable del proceso de esteroidogénesis (folicular) estimula el crecimiento, desarrollo y maduración de los folículos ováricos y la secreción de la hormona denominada estrógenos, permitiendo la aparición del celo en las hembras; la LH (hormona luteinizante) en las hembras, estimula la formación de cuerpo lúteo y la secreción de la hormona que favorece la gestación (progesterona), está involucrada en el proceso de ovulación (Ramirez, 2006). Estas dos hormonas son secretadas a la corriente sanguínea por medio de pulsos regulados por el sistema tónico y cíclico, que varían en frecuencia y amplitud.

Sistema tónico

El sistema tónico produce el nivel basal circulante, siempre constante de hormonas hipofisiarias encargadas del desarrollo de los elementos germinales y endocrinos del ovario (Motta *et al.*, 2011).

Sistema cíclico

El sistema cíclico es de función aguda, siendo activo solo 12 a 24 horas en cada uno de los ciclos reproductivos de las hembras. El modo cíclico tiene por función primaria causar la ovulación (Ortega *et al.*, 2011).



Hormonas del ovario

La hormona estrógeno es producido por el folículo de Graaf en el ovario. Otra hormona de origen del ovario es la progesterona, que es producida por el cuerpo lúteo.

Estrógeno

Regula diversas funciones: el desarrollo y funcionamiento de los órganos sexuales secundarios; la aparición de calor, o estro (el periodo de receptividad sexual); la velocidad y el tipo del crecimiento del tejido del cuerpo, especialmente la deposición de grasa; e imprimación o la preparación de la vaca postparto para el inicio de la actividad sexual.

Progesterona

Es la hormona del embarazo, suprime el desarrollo de folículos y la secreción de estrógenos (Turner, 2014).

Mecanismo de ovulación

Sucede entre 25 y 36 horas después del inicio de estro. Se refiere a la ruptura de la pared folicular y estructuras que la separan de la superficie ovárica, constituida por fibras del tejido conectivo (Hernández *et al.*, 2008).

Los folículos preovulatorios experimentan tres cambios principales durante el proceso ovulatorio:

- a) Maduración citoplasmática y nuclear del oocito.
- b) Pérdida de la cohesividad de las células del montículo ovárico entre las células de la capa granulosa.
- c) Adelgazamiento y rotura de la pared folicular externa.

Gabriela Sofía Garay Peña.

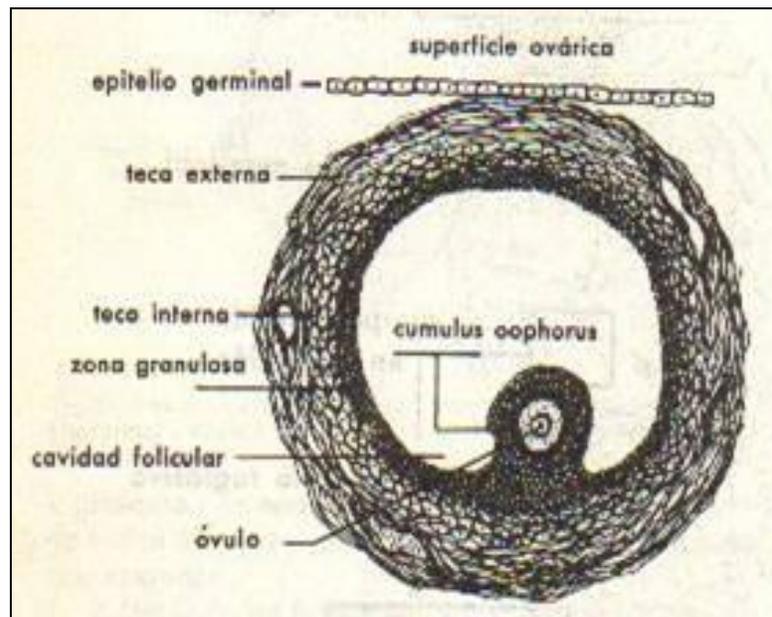


Figura 2. Folículo terciario o de Graff (Barrera, 2011).

Acabado el crecimiento, el folículo maduro o de Graff es capaz de responder ante la descarga preovulatorio de gonadotropinas (LH y en menor medida FSH), de tal forma que se produce una reestructuración completa del mismo, antes de la ovulación hay aumento en el flujo sanguíneo hacia la zona del folículo ovulatorio en las paredes basales y laterales, con una disminución concomitante en el flujo hacia la parte apical, y la subsiguiente liberación de un ovocito fértil a través de un pequeño orificio (estigma) producido en el punto de ruptura de su pared celular y de las capas celulares más superficiales de la corteza ovárica, cuyo grosor en este momento es muy reducido (Hernández *et al.*, 2008).

Mecanismo endocrinológico de la ovulación

Los estrógenos tienen influencia sobre el sistema nervioso central y el hipotálamo, ejerciendo retroalimentación negativa sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico; así, el estrógeno en ausencia de progesterona producen la liberación de GnRH que a su vez inducirá la liberación de FSH y LH en la hipófisis (Rippe, 2009), Gabriela Sofía Garay Peña.

principalmente la GnRH se vuelve más sensible por acción de los estrógenos, estimulando la síntesis del pico de LH que permite la ovulación (Motta *et al.*, 2011).

Entre los días 16 a 19 del ciclo estral hay un descenso de los niveles de progesterona plasmática debido al incremento en la concentración de estrógenos. La inhibina es una hormona proteica producida en el folículo que interviene en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH y tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis (Rippe, 2009). El útero se encarga de la producción de la prostaglandina F2 alfa (PGF2 α), que regula el ciclo estral ya que es responsable de inducir la luteólisis (Echeveria, 2006), además interviene en el mecanismo de ovulación (Motta *et al.*, 2011).

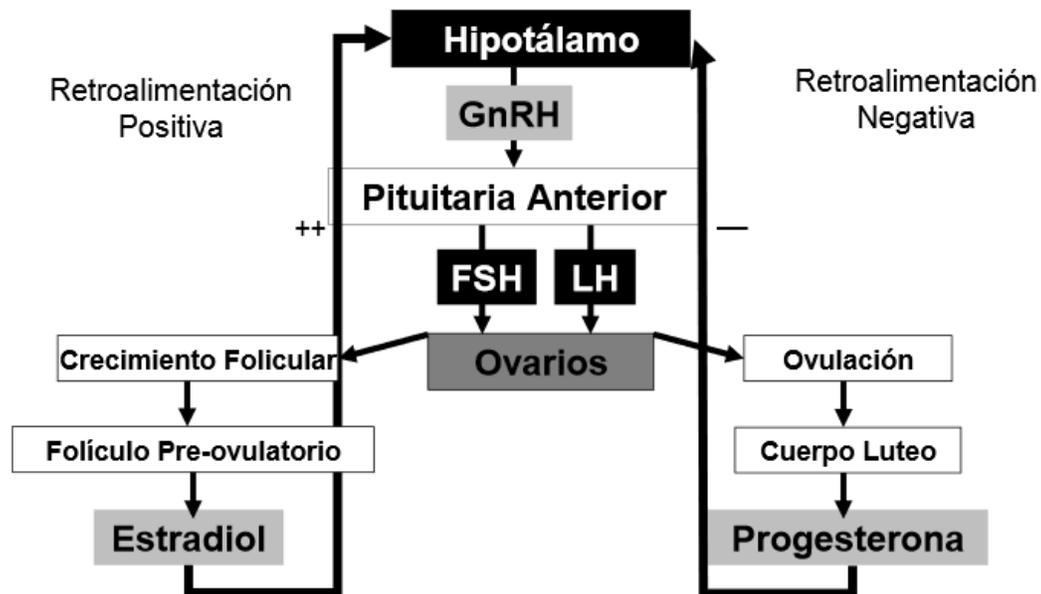


Figura 3. Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario (Rippe, 2009).



Fases del ciclo estral de la vaca

El ciclo estral consta de cuatro fases o periodos: diestro, proestro, estro y metaestro

Diestro

Periodo de reposo sexual, es la etapa más larga del ciclo estral, con una duración de 12 a 14 días, se caracteriza por la presencia de cuerpo lúteo funcional, si no se lleva a cabo la gestación, la fase lútea se interrumpe alrededor de los días 16 a 17 por acción de la prostaglandina (PgF2a) y esto provoca una disminución de la concentración de progesterona en este momento la vaca entra en periodo de Proestro (Rangel *et al.*, 2009).

Proestro

Este periodo dura en promedio 2 o 3 días (Rangel *et al.*, 2009), inicia con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior o luteólisis y termina con el inicio del estro o celo (Rippe, 2009), donde por acción de las gonadotropinas, se inicia el desarrollo y rápido crecimiento de folículos ováricos destinados a madurar (Motta *et al.*, 2011), lo cual se refleja en un incremento de las concentraciones de estradiol, cuando los niveles de estradiol alcanzan su máximo nivel provocan el estro y desencadenan el pico preovulatorio de LH o hormona luteinizante (Rangel *et al.*, 2009), en esta etapa también se observa un marcado incremento en la actividad de los órganos reproductivos (Motta *et al.*, 2011).

Estro

Periodo de aceptación del macho o periodo de maduración de los folículos (Motta *et al.*, 2011), es el día en que la vaca manifiesta conducta de celo, esta conducta tiene una duración de 12-18 horas, y la ovulación ocurre entre 30 a 36 horas después de iniciado el celo (Rangel *et al.*, 2009).

Metaestro

Esta etapa dura de 4 a 5 días (Rangel *et al.*, 2009) periodo de dehiscencia del folículo y de la formación y permanencia del cuerpo lúteo (Motta *et al.*, 2011), que posteriormente secretara progesterona, en esta etapa se presenta también la primera oleada folicular que dará un folículo dominante y varios folículos subordinados (Rangel *et al.*, 2009).

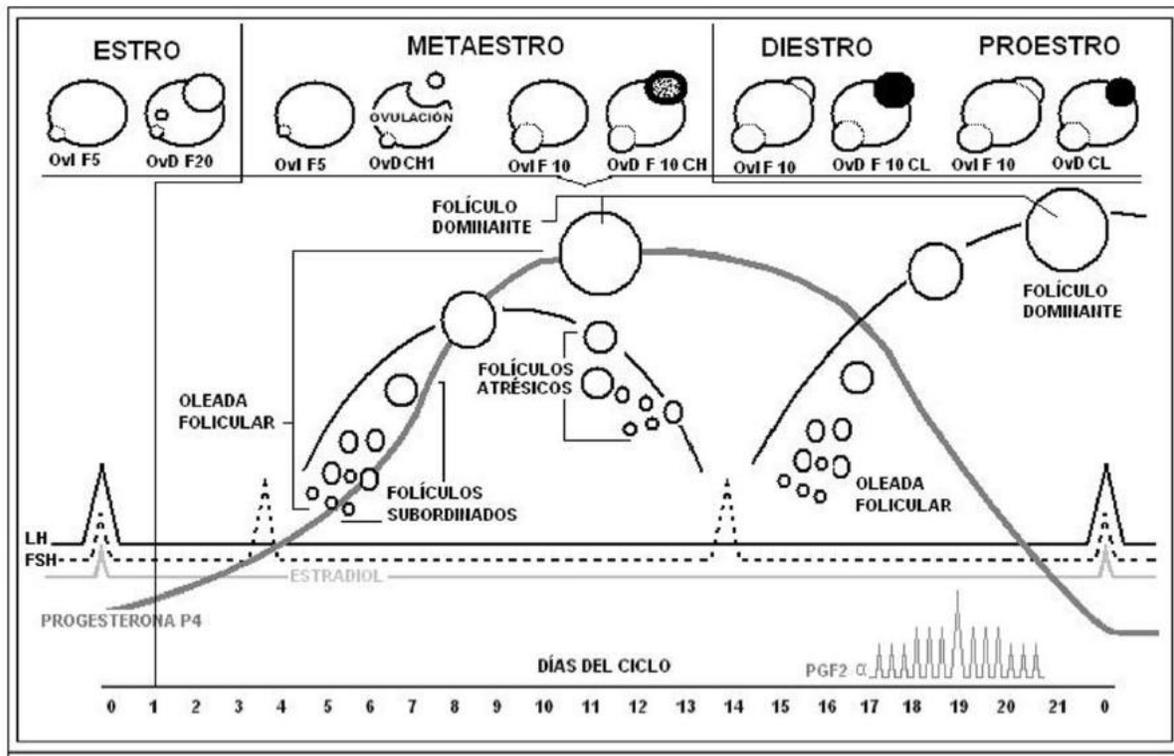


Figura 4. Relación de hormonas y estructuras ováricas encontradas durante el ciclo estral (Rangel *et al.*, 2009).

Dinámica folicular de la vaca

Actualmente los estudios de la dinámica folicular apoyan el concepto de que el par de ovarios actúan como una sola unidad y las influencias de desarrollo folicular vienen principalmente a través de rutas endocrinas sistémicas que implican productos
Gabriela Sofía Garay Peña.



ováricos y uterinos, las gonadotropinas y sus receptores (Adams, Jaiswal, Singh y Malhi, 2008).

La dinámica folicular ovárica es definida como el proceso continuo de crecimiento y desarrollo de folículos antrales, que conlleva al desarrollo del folículo preovulatorio (Díaz, 2008).

Ondas foliculares

Mediante el uso de la ultrasonografía ha sido posible confirmar que los folículos bovinos se desarrollan en ondas y que en cada ciclo estral se producen 2 ó 3 ondas foliculares. Estas ondas foliculares consisten en que un grupo de folículos antrales inician un crecimiento hasta los 4 mm y a partir de allí se produce una selección de un folículo dominante, que continua con su crecimiento, mientras que los demás folículos se convierten en subordinados e inician un proceso de atresia. La emergencia de la primera onda folicular, sea en ciclos de 2 ó 3 ondas, ocurre inmediatamente después de la ovulación, mientras que la segunda onda ocurre entre los días 9 ó 10 en ciclos de 2 ondas y en los días 8 ó 9 en los ciclos de 3 ondas, con una tercera onda emergiendo en los días 15 y 16 (Huanca, 2001)

El proceso por el cual los folículos se desarrollan en la vaca consta de 3 estados que son: Reclutamiento, Selección y Dominancia; para entender la dinámica folicular bovina debemos definir estos conceptos (Rippe, 2009):

Reclutamiento

Un grupo de 5 a 7 folículos (Díaz, 2008), de aproximadamente 3 mm de diámetro es estimulado por un aumento transitorio de la hormona FSH. El pico de FSH ocurre cuando el futuro folículo dominante alcanza un tamaño de aproximadamente 4 mm y luego los niveles de FSH disminuyen. El proceso por el cual la FSH declina es desconocido (Lamb *et al.*, 2009).



Selección

Luego de la emergencia de este grupo de folículos, uno de esos folículos debe ser seleccionado para continuar creciendo y el resto de los folículos reclutados que emergieron en esta onda, van hacia la atresia (Díaz, 2008). Elevaciones de la concentración plasmática de FSH son responsables de la emergencia de una onda folicular, la que posteriormente es suprimida por productos de los folículos en crecimiento. El folículo que primero adquiere receptores para LH llega a adquirir la condición de folículo dominante mientras que los restantes se convierten en folículos subordinados y van a sufrir atresia (Huanca, 2001).

Dominancia

El folículo seleccionado se convertirá en folículo dominante es un proceso mediante el cual el folículo produce mayores niveles de estrógeno E₂, promueve su propio desarrollo y aumenta su diámetro, inhibe el desarrollo de los demás folículos y la emergencia de la próxima onda. La fase de dominancia sucede cuando el folículo ovárico alcanza un diámetro aproximado de 10 mm, lo cual es señal que ese folículo escapó a la atresia. Cuando el folículo dominante encuentra el ambiente hormonal adecuado (bajos niveles de progesterona), es capaz de ovular y como consecuencia se formará el cuerpo lúteo. En caso contrario, cuando el folículo dominante llega a la fase de dominancia durante la fase lútea, en la cual existen altos niveles de progesterona, cuando los niveles de LH no son suficientes para promover su crecimiento final y ovulación, este folículo dominante pierde su dominancia y permite el reclutamiento y la emergencia de una nueva cohorte de folículos, del cual saldrá el próximo folículo dominante (Díaz, 2008).

Vacas en anestro

Después del parto las vacas lecheras tienen un periodo en el cual no presentan ciclos estrales. La duración de este periodo es variable y depende de factores como Gabriela Sofía Garay Peña.



la condición corporal, balance energético y producción de leche, la primera ovulación ocurre entre los 30 a 50 días pos parto, es común inseminar durante el primer estro, que se presenta después de los 50 días pos parto, sin embargo la fertilidad lograda con este servicio es baja por lo que se recomienda inseminar después de los 60 a 70 días (Rangel *et al.*, 2009).

Actividad ovárica pos parto

La duración de la aciclicidad posparto se ve influida por el estado de lactancia, el estado nutricional, época de parto, edad, y otros varios factores (Yavas & Walton., 2000), aunque parece estar relacionada directamente con el consumo de nutrientes y con la producción de leche, sin embargo algunos estudios no encuentran esta relación (Motta *et al.*, 2011).

Si bien la involución uterina comienza pronto y las ondas foliculares ováricas se reanudan, después del parto, los folículos dominantes de estas ondas no pueden ovular, debido a un fallo para someterse a la maduración terminal. Como resultado, en el posparto, los folículos anovulatorios dominantes son más pequeños que los folículos ovulatorios en vacas cíclicas (Robson *et al.*, 2008).

Mecanismos endocrinológicos de la actividad ovárica postparto

La incidencia de ovulación del primer folículo dominante posparto es baja, debido a que en este período existe una baja concentración sérica de LH producto de la alta sensibilidad del hipotálamo al feed-back negativo de los estrógenos en asociación con altos niveles de péptidos opioides endógenos. De esta manera, la baja frecuencia de pulsos de LH en el período posparto conduciría a la atresia de los folículos dominantes por falta de estímulo, y por ello, a la falta de ovulación (Robson *et al.*, 2008)



Tras la reposición de las reservas de LH entre los días 15 y 30 después del parto, la ausencia de pulsos de LH es producida por la continua sensibilidad del pulso generador de GnRH hipotalámica al efecto de retroalimentación negativa del 17β -estradiol del ovario, lo que resulta en ausencia de pulsos de GnRH. Cuando el intervalo posparto aumenta, la sensibilidad de la GnRH al pulso-generador del efecto de retroalimentación negativa de la disminución de estradiol- 17β ováricos. Esto es seguido por una frecuencia creciente de las descargas de GnRH y los pulsos de LH, la maduración folicular terminal, la ovulación y la ciclicidad continúa. La primera ovulación posparto suele aparecer acompañado de un ciclo corto debido a la luteólisis prematura a causa de la liberación prematura de PGF_{2a} del endometrio uterino, que es, posiblemente, intensificado por la liberación de oxitocina inducidos por la crianza, desde la hipófisis posterior (Yavas & Walton., 2000).

Para el retorno de la actividad cíclica ovárica se debe eliminar la sepsis bacteriana uterina y se debe presentar la involución uterina para iniciar el reclutamiento de la primera onda folicular (Motta *et al.*, 2011).

Control farmacológico del ciclo estral

El control farmacológico del ciclo estral facilita la implementación de la inseminación artificial en los rodeos de cría, con la consiguiente mejora genética y productiva que esto implica. Para evitar los problemas de la detección de celos, se han desarrollado tratamientos de sincronización de la ovulación que permiten inseminar un gran número de animales en un período de tiempo establecido, conociendo a esta técnica como IATF o Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (Aba *et al.*, 2013).



Sincronización de celo

Hoy en día hay muchas alternativas disponibles para la sincronización de celo y de la ovulación para la inseminación a tiempo fijo IATF (Colazo *et al.*, 2007).

La evolución de los métodos para el control del ciclo estral en la vaca, puede ser ordenado en 5 fases distintas (Díaz, 2008).

- La primera: tuvo por objetivo prolongar la fase lútea a través de la administración de progesterona exógena.
- La segunda: los métodos pasaron a contar con una asociación de estrógenos y gonadotropinas.
- La tercera: está caracterizada por la utilización de prostaglandinas con el fin de acortar la fase lútea.
- La cuarta: los métodos asociaron progestágenos y prostaglandinas.
- La quinta: demostró que el control del ciclo estral en la vaca requiere la manipulación no solo de la fase lútea sino también la del crecimiento folicular (Becaluba, 2006).

Métodos de sincronización

Dispositivo con P4 + EB / EB o GnRH

El tratamiento consiste en la inserción de un dispositivo de progesterona (P4) y la administración de estradiol (2mg) el Día 0, prostaglandina (PGF) 150 ug (microgramos) al momento de la remoción del dispositivo días 7 u 8 (para asegurar la luteólisis) y la subsiguiente aplicación a las 24 h pos extracción del dispositivo de una dosis menor de estradiol (1mg) y a las 48 a 54 h posteriores ocurre la ovulación.

Gabriela Sofía Garay Peña.



La presencia de la progesterona bloquea los efectos de retroalimentación positiva del estradiol sobre la secreción de la GnRH e impide el pico preovulatorio de hormona luteinizante (LH) pero es también importante destacar que la progesterona no suprime la secreción de hormona folículo estimulante (FSH) por lo tanto, las ondas foliculares siguen emergiendo en presencia de un cuerpo lúteo (CL) funcional. Los dispositivos con progesterona mantienen las concentraciones plasmáticas de P4 (niveles inferiores a los de un CL) por un periodo establecido, provocando un aumento en la frecuencia de pulsos de LH, promoviendo el crecimiento folicular, maduración del folículo dominante y su capacidad ovulatoria. La función fundamental de los estrógenos en el inicio del tratamiento de sincronización de celos es provocar la atresia de los folículos existentes e impedir de esta manera la formación de folículos persistentes que interfieren negativamente en la fertilidad. Como la atresia es seguida por el comienzo de una nueva onda folicular a los 4 días se asegura de esta manera la presencia de un folículo nuevo y un ovocito viable en el momento de retirar el dispositivo. El porcentaje de éxito en tasa de preñez obtenido con este método es de 39% (Espinosa, 2010).

La sincronización de la onda pre ovulatoria de LH y por lo tanto de las ovulaciones, se logra por medio de la aplicación de benzoato de estradiol (BE) al momento de retirar la fuente de progesterona 24 horas más tarde (Butler *et al.*, 2011). La aplicación de prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) se administra con la finalidad de destruir cuerpo lúteo, está probado que el 10% de las vacas no sufren regresión de CL, condición que no depende de la PGF2 α sino de las características del cuerpo lúteo que entre el día 4 y 5 del ciclo no es susceptible al efecto luteolítico, este factor es difícil de superar pues la selección de las vacas a tratar no se lo realiza en basa al día del ciclo, por lo tanto, siempre se tendrá vacas con CL no sensibles a la PGF2 α (Gasque, 2008)



Dispositivos con progesterona en combinación con eCG

Los tratamientos con dispositivos de liberación de progesterona, más el estradiol y eCG han brindado la posibilidad de aplicar la inseminación a tiempo fijo (IATF) con altas tasas de éxito en vacas de leche, cíclicas y no cíclicas. No obstante, es muy importante reconocer que el éxito del programa reproductivo también depende de muchos factores de manejo tales como el manejo nutricional y de la salud, las instalaciones y la disponibilidad de personal calificado (Bó, 2011).

El protocolo para este tratamiento consiste en un dispositivo intravaginal bovino de Progesterona (P4) + una inyección intramuscular (IM) de Benzoato de Estradiol (EB) de 2mg. El día ocho se extrae el implante y se aplicaron PGF2 α IM y 400 unidades internacionales (UI) de eCG.

Posteriormente en el día 10 se insemina a tiempo fijo (entre 52a 56 horas de la extracción del implante (Martínez *et al.*, 2007).

Gonadotrofina coriónica equina

Es una glicoproteína (De Rensis *et al.*, 2014), obtenida del suero de yegua preñada durante la primera mitad de la gestación (Sagbay, 2012).

Actividad de la eCG

La eCG posee actividad FSH y LH, en la especie equina la eCG posee solo actividad LH a diferencia de la respuesta en otras especies.

Esta hormona en la granulosa y células de la teca tiene efectos prolongados ya que estimula la secreción de estradiol y progesterona (De Rensis & López, 2014); además, tiene un alto contenido en carbohidratos, hecho que le confiere una vida media prolongada (Sagbay, 2012). La eCG tiene una vida media de aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea (Núñez, 2011).

Gabriela Sofía Garay Peña.



Acciones de la eCG

Actualmente se incluye eCG en los protocolos para la inseminación artificial a tiempo fijo ya que después de la inducción de la sincronía de la ovulación utilizando un dispositivo liberador de progesterona, la eCG tiene efectos beneficiosos (De Rensis & López, 2014), como: la modificación de las características de la esteroidogénesis mejorando la tasa de crecimiento folicular, mejora el diámetro del folículo dominante y la tasa de ovulación además influye positivamente en el tamaño del cuerpo lúteo y concentraciones de progesterona en suero durante el subsiguiente ciclo (Ferreira. et al., 2013), finalmente influye sobre el desarrollo del embrión y la supervivencia (De Rensis & López, 2014).

Balance energético negativo

El balance energético es la diferencia entre el consumo de energía por parte del animal y la energía requerida para el mantenimiento y la preñez (en la vaca gestante), y el mantenimiento y la lactancia (en la vaca lactante). Si el gasto de energía es mayor que el consumo, el balance energético es negativo y las vacas pierden condición corporal (García & Montiel, 2011).

Mecanismo del balance energético negativo

La movilización lipídica incrementa la concentración plasmática de los ácidos grasos no esterificados (NEFA), los cuales son transportados al hígado para su esterificación o producción de triacilgliceroles. Sin embargo, está asociado a una mayor demanda de oxalacetato para la gluconeogénesis durante el BEN, hay un mayor ingreso de NEFA a la mitocondria para producir cuerpos cetónicos, -hidroxibutirato (HB), acetoacetato (AcAc) y acetona (Ac), los cuales son una fuente de energía en los bovinos adultos. A su vez, cuando su producción excede la capacidad del organismo para utilizarlos, sus concentraciones se incrementan produciendo cetosis (Cucunubo *et al.*, 2013).



Balance energético negativo en la reproducción

Las razones para un escaso rendimiento reproductor en las vacas lecheras son múltiples. La gestión y la nutrición de las vacas de transición se han identificado como las variables más importantes en el rendimiento reproductor. El desequilibrio nutritivo durante el periodo seco y posparto temprano da lugar a una reducción de la concentración de IGF1 (factor de crecimiento insulínico tipo 1) y una frecuencia baja de pulsos LH (hormona luteinizante), seguido de un retraso en la reanudación del ciclo ovárico. Las concentraciones de BHBA (β -hydroxybutyrate), NEFA (ácidos grasos no esterificados) y triacilglicerol aumentan, mientras que disminuye el IGF1 (Heuwieser, 2012).

Palpación transrectal

La palpación transrectal en las vacas es una práctica o método físico utilizado desde hace muchos años, consiste en introducir la mano por el recto de la hembra bovina el cual es lo suficientemente elástico que permite la exploración de los diferentes órganos del aparato reproductivo con lo cual es posible determinar estados fisiológicos como funcionalidad ovárica, fase del ciclo estral, gestación o no gestación, o patológicos como piómetras, quistes, aplasia segmentarias y otra (Loeza, 2012). Para estudios ultrasonográficos transrectales, se recomienda proteger la sonda con un guante descartable largo, como los de palpación rectal, previa aplicación de gel sobre la zona de los cristales (Ballenda, 2003).

Ultrasonografía

El ecógrafo o aparato de ultrasonografía utiliza ondas de sonido de alta frecuencia (Loeza, 2012), las cuales no son audibles por el hombre, cuando las ondas chocan con un tejido, un líquido o un gas, algunas son absorbidas y otras se reflejan en Gabriela Sofía Garay Peña.

forma de ecos que son captados por el equipo para ser interpretados en forma de imágenes (Giraldo, 2003).

La imagen ultrasonográfica se corresponde con el conjunto de puntos de brillo, que representa un corte anatómico de la región examinada. Los órganos o tejidos serán híper, hipo o anaecogénicos, según la cantidad de ultrasonidos que reflejen (Loeza, 2012).

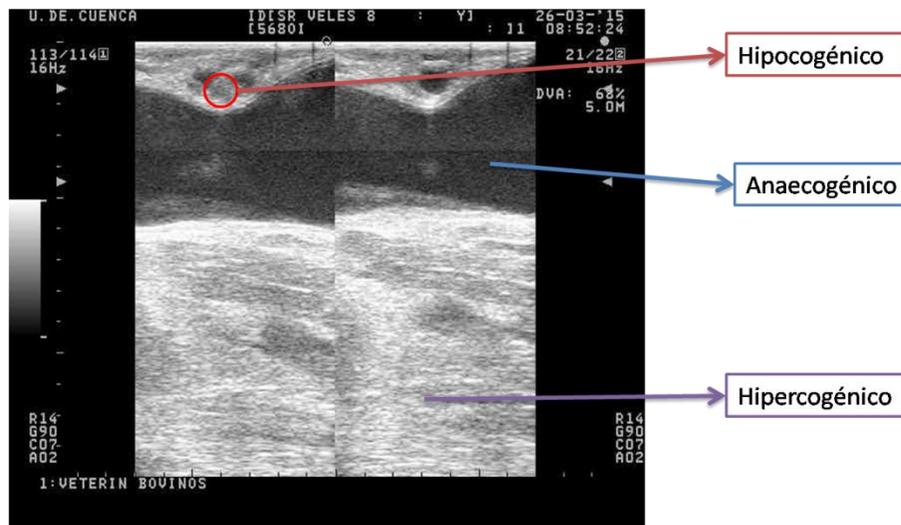


Figura 5. Tipos de imágenes presentes en una ecografía.

Fuente: Autora.

Transductores

Los transductores de ordenamiento lineal necesitan una mayor área de contacto con la superficie, mientras que los sectoriales (de forma convexa) sólo requieren un área pequeña y facilitan la visualización de estructuras inaccesibles mediante los lineales. Un transductor lineal tiene los cristales ubicados en línea recta, produciendo una imagen rectangular en la pantalla del monitor. Un transductor sectorial produce una imagen triangular (Giraldo, 2003).



Figura 6. Sonda de tipo convexa.

Fuente: Armas, 2010.



Figura 7. Sonda de tipo lineal

Fuente: Autora.

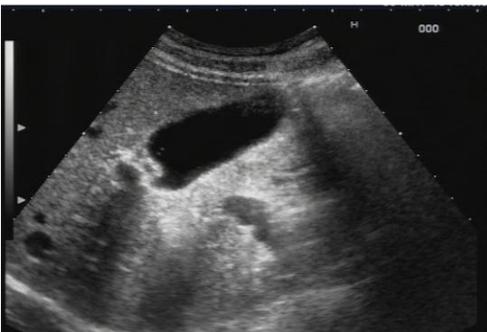


Figura 8. Imagen del monitor obtenido a través de un transductor convexo

Fuente: García s.f.



Figura 9. Imagen del monitor obtenido a través de un transductor lineal

Fuente: Autora.



Materiales y Métodos

Materiales de campo

Físicos

- Equipos para el manejo de los animales: mangas y sogas
- Jeringas descartables (3ml)
- Guantes de tacto
- Hojas de campo
- Ecógrafo

Químicos

- Implantes de progestágenos (0.5 g)
- Benzoato de Estradiol (2 mg)
- Prostaglandina (150 ug)
- eCG o PMSG (400UI)
- Gel
- Antisépticos

Biológicos

- 15 vacas de raza Holstein (Protocolo A)
- 15 vacas de la raza Holstein (Protocolo B)

Materiales de oficina

- Computadora
- Cámara
- Programa estadístico (SPSS, Microsoft Excel y Word)

Métodos

Área de Estudio

Ubicación Política Geográfica:

El estudio de campo se realizó en la jurisdicción política de la provincia del Azuay; en el cantón Cuenca, de las parroquias Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete cuyas coordenadas son X 3044181° S y Y 79040813° O, en el km 18, 20 y 23 respectivamente, a 2.714msnm, con una temperatura promedio de 8°C, humedad relativa del 80% y pluviosidad de 800mm a 2.000mm.



Figura 10. Ubicación satelital de las parroquias Tarqui, Cumbe y Victoria del Portete.

Fuente: Directorio cartográfico de Google maps.



Unidad de análisis

Para esta investigación se evaluó la actividad ovárica de 30 bovinos a través del empleo de ultrasonografía, durante 5 días diferentes, se estudió las estructuras halladas en cada ovario y se analizó en forma conjunta su actividad, iniciando con el ovario derecho se realizaba un barrido de forma lateral logrando abarcar toda la estructura ovárica, obtenida la imagen se contabilizó: el número de folículos ováricos presentes, el tamaño del folículo pre ovulatorio y la existencia o no de ovulación.

Se usó vacas de raza Holstein Friesian mestizo, con un escore de condición corporal medio de 2,75 a 3,5; escala de 1 a 5, con edades entre 30 a 60 meses, dentro del perfil reproductivo estos animales tenían como mínimo 60 días pos parto y todas se hallaban ciclando, previo al día inicial del protocolo se realizó palpación ginecológica para asegurar una involución completa de útero y se examinó con ecógrafo el estado fisiológico de cada ovario determinando si existía cuerpo lúteo y folículos que indicaran actividad cíclica del animal. Los animales que no se consideraron apropiados para la investigación fueron aquellos que presentaron con anterioridad celos repetidos con inseminación, abortos esporádicos, quistes foliculares, metritis, vaginitis, uro o neumovagina y en general problemas de tipo reproductivo que dificulten la investigación, a más de esto no ingresaron animales que a pesar de tener buena condición y cumplir con la edad y periodo posparto presente enfermedades como mastitis, cojeras o problemas dérmicos como tiña, entre otros ya que repercuten en la adecuada actividad reproductiva.



Metodología

Selección de los animales

El estudio se ejecutó en tres haciendas; en la parroquia Victoria del Portete se aplicó a 7 animales en la hacienda de la Universidad de Cuenca “Irquis” y 19 en la Hacienda “El Alamo”, en la parroquia Tarqui se utilizó 4 animales en la propiedad denominada “Juticaray”. Durante el estudio se tomó en consideración los animales que se encuentren más próximos a los 60 días pos parto, se realizó un estudio ultrasonográfico previo, para evaluar la involución uterina y estado funcional, posterior al inicio de 60 días pos parto se volvió a realizar ultrasonografía para determinar el inicio del protocolo, contabilizar el número de folículo presentes y se registró la condición corporal de cada animal seleccionado.

Elaboración de plantillas para toma de datos

Para la toma de datos en campo se elaboró dos plantillas

1. Para el registro del estudio ultrasonográfico (**Anexo 1**).
2. Para recolectar información o antecedentes de los animales (**Anexo 2**).

Tratamientos

Para el análisis de esta investigación se establecieron 2 tratamientos (T1) y (T2).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos en estudio

	PROTOCOLOS		
	Control (T1)	Experimental (T2)	
Vacas Holstein			
Fresan	n = 15	n = 15	30 animales



Selección de la muestra

Para la aplicación de los tratamientos se registraron el número de vacas disponibles por cada hacienda o sitio de análisis, posteriormente se dividió el número de animales en cada sitio y se tomo al azar los animales para el tratamiento 1 y 2, obteniendo de esta manera una mitad con el tratamiento 1 y la otra mitad con el tratamiento 2 en cada hacienda.

Protocolo de sincronización

Tratamiento 1

Día 0: Se administró un Implante intravaginal de progesterona DIB 0.5g mas una inyección intramuscular de 2mg de Benzoato de estradiol de la marca Sintex equivalente a 2ml del producto.

Día 8: Se retiró el implante colocado el día 0 y se aplicó vía intramuscular 150ug de Cloprostenol sódico (prostaglandina) comercialmente denominado Estrumate.

Día 9: Se aplicó vía intramuscular 1mg de Benzoato de estradiol equivalente a 1ml de la marca Sintex, además se aplicó un parche detector de celo.

Tratamiento 2

Día 0: Se aplicó un Implante intravaginal de progesterona DIB 0.5g más una inyección intramuscular de 2mg de Benzoato de estradiol de la marca Sintex equivalente a 2ml del producto.

Día 5: Se administró una inyección intramuscular de 400UI de hormona gonadotrofina coriónica equina eCG, denominada comercialmente como Folligon equivalente a 2ml del producto.



Día 8: Se retiró el implante colocado el día 0 y se aplicó vía intramuscular 150ug de Cloprostenol sódico (prostaglandina) comercialmente denominado Estrumate.

Día 9: Se aplicó vía intramuscular 1mg de Benzoato de estradiol equivalente a 1ml de la marca Sintex, además se aplicó un parche detector de celo.

Variables

Dentro de la presente investigación se evaluaron las siguientes variables:

❖ *Independiente:*

Tratamiento (T1)

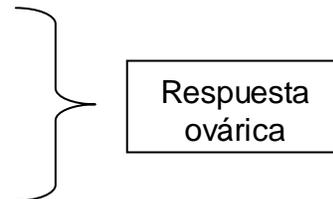
Tratamiento (T2)

❖ *Dependientes:*

Número de folículos reclutados

Tamaño de folículo pre ovulatorio

Porcentaje de ovulación



Registro ultrasonográfico

Día 0: Se inicio con un chequeo ultrasonográfico de cada ovario, primero se registro el ovario derecho y posteriormente el izquierdo; en cada ovario se efectúo un barrido lateral de derecha a izquierda, las imágenes obtenidas fueron guardadas para ser posteriormente analizadas sin embargo durante el registro se fue dibujando topográficamente cada estructura detectada en un hoja de campo, posterior al trabajo de campo se analizó cada imagen guardada y con las hojas dibujadas se saco las medidas de cada folículo considerando folículos de 2 mm en adelante. De esta forma Gabriela Sofía Garay Peña.



se determinó el número de folículos con los cuales se inicia el protocolo de sincronización de los tratamientos 1 y 2.

Día 5: Chequeo ultrasonográfico de cada ovario, siguiendo el método descrito en el día 0, las imágenes tomadas se analizaron posteriormente con las hojas de registro graficadas, así, se obtuvo el número de folículos considerando tamaños mayores a 2 mm.

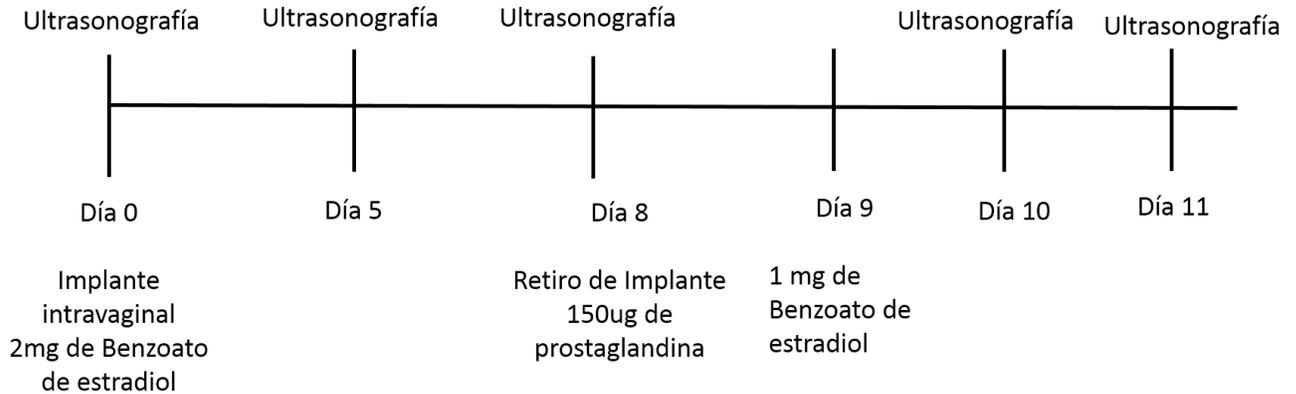
Día 8: La técnica descrita en el día 0, fue repetida logrando imágenes y hojas de registro que determinaron el número de folículos presentes en este día, fueron considerados folículos mayores a 2 mm.

Día 9: No se realizó estudio ultrasonográfico.

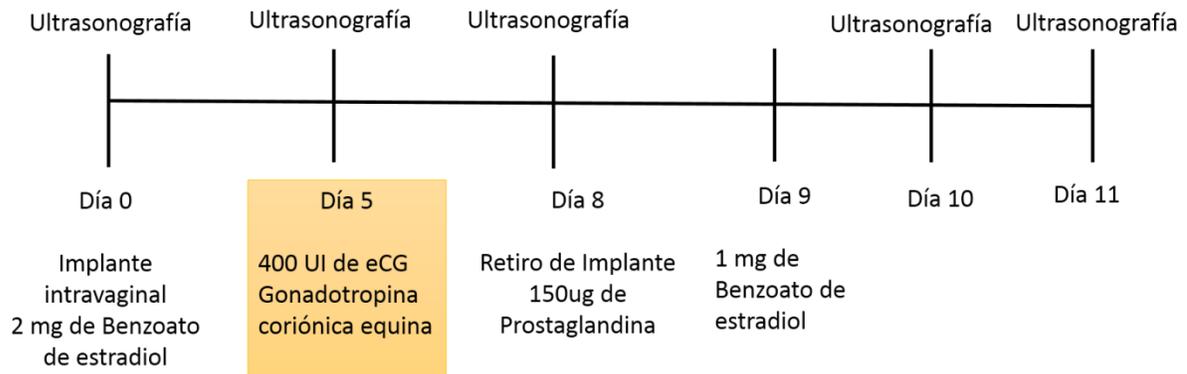
Día 10: Para este día existía un registro previo del número de folículos y sus diferentes tamaños, por lo cual, se considero el ovario con el folículo de mayor tamaño registrado y se chequeo con ecógrafo su permanencia e igualmente posterior al trabajo de campo, se tomo su medida, en otros casos ante la existencia de folículos de tamaño considerable en los dos ovarios, se registro los dos ovarios, obteniendo así el tamaño del o los posibles folículos preovulatorios.

Día 11: Con el registro de las medidas y la ubicación del posible folículo preovulatorio se chequeo con ecógrafo el ovario o los ovarios involucrados y se observó la ausencia o permanencia del folículo en el caso de tener uno solo y en donde existía dos, se observo la ausencia de uno de los dos, logrando de esta manera determinar ovulación.

Tratamiento 1 (sin eCG)

**Figura 11.** Descripción gráfica del tratamiento 1 (sin eCG).

Tratamiento 2 (con eCG)

**Figura 12.** Descripción gráfica del Tratamiento 2 (con eCG).**Día cero de los tratamientos**

Para el inicio de los tratamientos se realizó un chequeo ultrasonográfico que determinó el estado inicial de las estructuras presentes en cada ovario, registrando de esta manera la presencia de folículos ováricos y de cuerpo lúteo.

**Cuadro 2.** Estructuras ováricas presentes en el día 0 del tratamiento 1.

Id del animal	Día 0		
	Número de folículos en ovario derecho (O.D)	Número de folículos en ovario izquierdo (O.I)	Cuerpo lúteo
154	3	4	O.I
384	2	2	-----
580	3	3	O.I
H127	1	7	O.D
F101	2	2	O.D
644	2	2	O.D
646	4	4	-----
653	7	6	O.D
99	3	1	O.I
414	3	0	O.D
648	2	3	O.D
359	4	1	O.D
568	4	3	-----
634	0	5	O.D
579	2	0	O.I

Detalle de medidas en milímetros (mm) de cada estructura ovárica registrada en el día 0 del tratamiento 1 (**Anexo3**).

Gabriela Sofía Garay Peña.

**Cuadro 3.** Estructuras ováricas presentes en el día 0 del tratamiento 2.

Id del animal	Día 0		
	Número de folículos en ovario derecho (O.D)	Número de folículos en ovario izquierdo (O.I)	Cuerpo lúteo
264	0	4	O.D
150	1	0	O.I
371	4	1	O.I
400	1	0	O.I
641	5	0	O.D
H146	3	5	O.D
481	5	7	-----
H132	3	4	O.D
649	1	4	O.D
Esperanza	1	2	O.D
Linda	2	3	O.I
Darla	5	2	-----
Cabrerita	7	3	O.I
492	5	2	O.D
488	1	0	O.I

Detalle de medidas en milímetros (mm) de cada estructura ovárica registrada en el día 0 del tratamiento 2 (**Anexo 4**).



Resultados

Los resultados obtenidos fueron introducidos en el programa informático de Microsoft Excel y posteriormente sistematizados y tabulados en el programa estadístico SPSS® (Sistema global para el análisis de datos) versión 22, en base a cada una de las variables propuestas (Número de folículos reclutados, tamaño de folículo preovulatorio y porcentaje de ovulación).

Variable número de folículos

Cuadro 4. Media y error estándar del número de folículos presentes en el día 0, 5 y 8 del tratamiento 1 y 2.

	Día 0	Día 5	Día 8
Tratamiento 1	5,7±0,69	7,6±0,79	7,3±0,86
Tratamiento 2	5,4±0,83	9,0±0,95	10,1±1,07
Total	5,5±0,53	8,3±0,62	8,7±0,72

Resultado no significativo ($p>0,05$), según "T" de Student para muestras independientes

Las medias del número de folículos observados en el cuadro 4, presentan una similitud para el día 0, observando un leve aumento en el día 5 y siendo más notorio este aumento para el día 8, a pesar de lograr este aumento en el número de folículos, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) para los tres días.

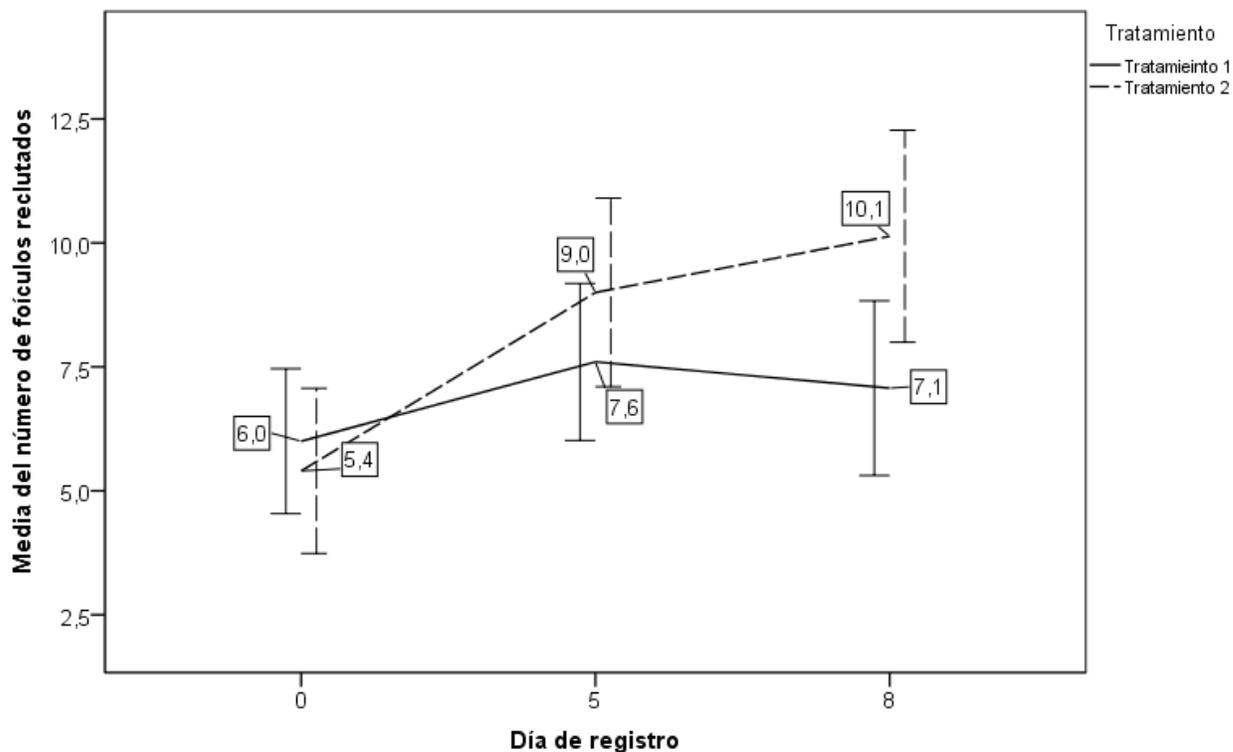


Figura 13. Media del número de folículos con sus intervalos de confianza, presentes en los días 0, 5 y 8 de los tratamientos.

En la figura 13 se puede apreciar las medias de folículos presentes en los días 0, 5 y 8 de los tratamientos, observando que para el día 0 se obtiene una media de folículos presentes similares en los dos tratamientos (1 y 2), lo que demuestra que al inicio de cada tratamiento existió homogeneidad de la muestra. En el día 5 las medias de los folículos presentes, indican un incremento de tamaño en el tratamiento 2, sin embargo aún mantienen similitud, cabe recalcar que este día, de forma inmediata al registro ultrasonográfico, se aplicó 400UI de hormona gonadotropina coriónica equina eCG, respuesta que se aprecia en el día 8 de los tratamiento donde el tratamiento 2 muestra un incremento considerable en la media de folículos a diferencia del tratamiento 1.

**Variable tamaño de folículo preovulatorio**

Cuadro 5. Media y error estándar del tamaño del folículo preovulatorio en milímetros (mm) obtenido al día 10 de los dos tratamientos.

	Día 10
Tratamiento 1	15,8±0,88
Tratamiento 2	14,9±0,97
Total	15,3±0,65

Resultado no significativo ($p > 0,05$),
según "T" de Student para muestras
independientes

Para el día 10 de estudio al evaluar el tamaño del folículo preovulatorio podemos apreciar una mejor respuesta en el tratamiento 1, donde la media de tamaño es de aproximadamente 1 milímetro mayor al tratamiento 2, sin embargo no existe diferencias estadísticas ($p > 0,05$), detalle cuadro 5.

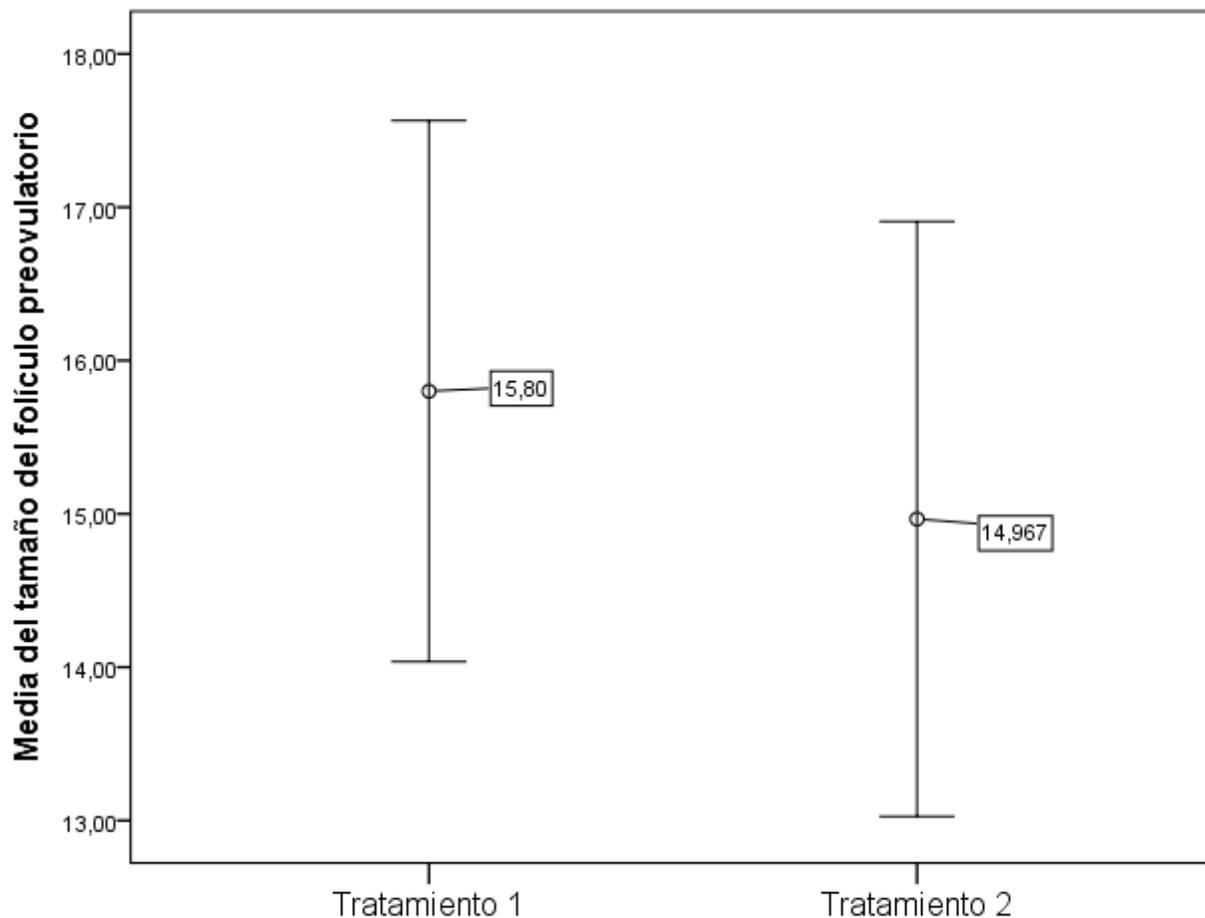


Figura 14. Media del tamaño del folículo pre ovulatorio, ± 2 error estándar para los dos tratamiento (1 y 2).

Mediante la figura 14 se detalla un mayor incremento del tamaño del folículo preovulatorio obtenido en el tratamiento 1 en contraste con el tratamiento 2.

**Crecimiento del folículo preovulatorio en milímetros durante los días 5, 8 y 10**

Cuadro 6. Media y error estándar del tamaño del folículo preovulatorio en milímetros (mm) para los días 5, 8 y 10 en los tratamientos 1 y 2.

	Día 5	Día 8	Día 10
Tratamiento 1	9,9±0,93	13,6±1,01	15,8±0,88
Tratamiento 2	8,5±0,86	12,1±0,93	14,9±0,97
Total	9,2±0,63	12,9±0,69	15,3±0,65

Resultado no significativo ($p>0,05$), según "T" de Student para muestras independientes

En el cuadro 6 se aprecia las medias de tamaño obtenidas del folículo preovulatorio, para los días 5, 8 y 10 el tamaño medio en el tratamiento 1 es mayor al 2 observándose para los tres días una diferencia aproximada de 1 milímetro, siendo este valor no significativo ($p>0,05$) para los tres días en estudio.

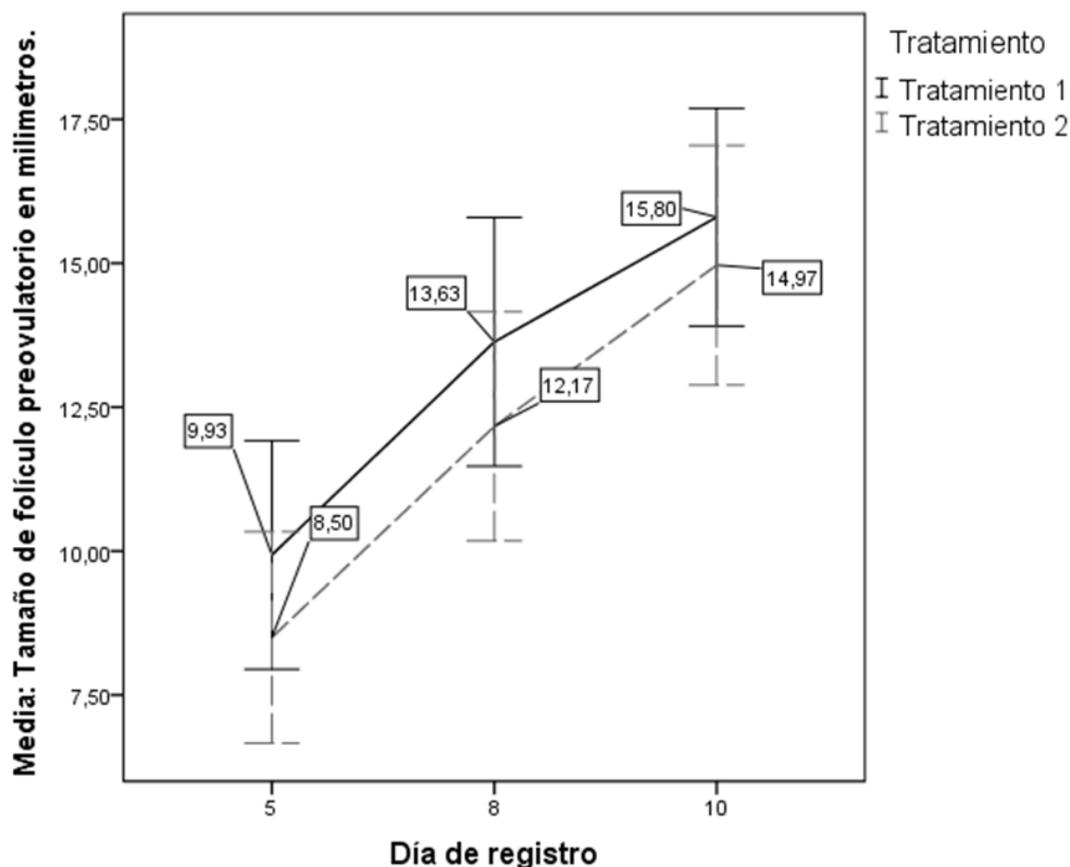


Figura 15. Media del tamaño en milímetros con sus intervalos de confianza del folículo preovulatorio en los tratamientos 1 y 2, de los días 5, 8 y 10 del protocolo.

En la figura 15 se observa el tamaño medio en milímetros del folículo preovulatorio para cada día de registro 5, 8 y 10 en los tratamientos 1 y 2, se puede apreciar un mayor tamaño en el tratamiento 1 para el día 5, sin embargo en el tratamiento 2 se detecta en baja medida un mayor crecimiento, provocando para el día 10 un rango menor de desigualdad.



Porcentaje de crecimiento del folículo preovulatorio

Cuadro 7. Medias y error estándar de los porcentajes de crecimiento (%) entre los días 5 a 8 y 8 a 10 en los tratamientos 1 y 2.

	Día 5-8	Día 8-10
Tratamiento 1	41,9±8,20	19,9±7,47
Tratamiento 2	49,4±9,48	25,5±4,09
Total	45,7±6,20	22,7±4,22

Resultado no significativo ($p>0,05$) según la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

Para determinar el porcentaje de crecimiento del folículo preovulatorio se tomó la medida registrada en el día 8 y se restó de la medida conseguida en el día 5, posteriormente se analizó en porcentaje la diferencia de crecimiento. Este análisis se realizó de igual manera para el día 10 a partir de las medidas obtenidas en el día 8. Los valores medios resultantes muestran un porcentaje de crecimiento mayor en el tratamiento 2 a pesar de haber obtenido tamaños similares en resultados anteriores, podemos observar que el tratamiento 2 provocó un ligero aumento de tamaño siendo comprobado al analizar este crecimiento en forma de porcentaje, sin embargo aunque se obtuvo este mayor porcentaje los resultados no muestran diferencias estadísticas ($p>0,05$) para los dos periodos.

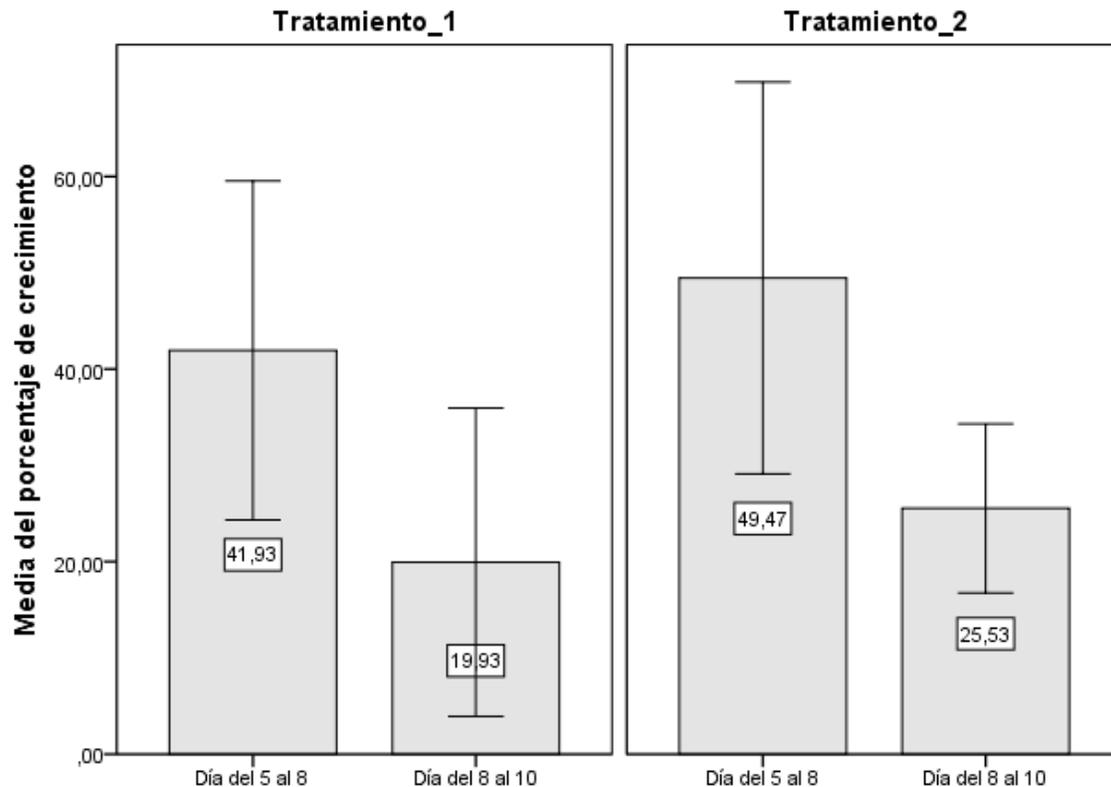


Figura 16. Media del porcentaje de crecimiento folicular, con sus intervalos de confianza en los días del 5 al 8 y del 8 al 10 en los tratamientos 1 y 2

En la figura 16 se aprecia las medias del porcentaje del crecimiento del folículo preovulatorio tomados desde el día 5 hacia el 8 y del 8 hacia el 10, se aprecia que en el primero periodo (5-8), el tratamiento 2 posee un mayor porcentaje de crecimiento que el tratamiento 1, resultados que se repiten para el segundo periodo (8-10).

**Variable porcentaje de ovulación****Cuadro 8.** Porcentaje de ovulación para los tratamientos 1 y 2.

		Ovulación
Tratamiento	T1 (Sin eCG)	86,7 %
	T2 (Con eCG)	73,3%

Resultado no significativo ($p>0,05$), según "T" de Student para muestras independientes

En el cuadro 8 se obtuvo en el tratamiento 1 un recuento de 13 ovulaciones y 11 ovulaciones en el tratamiento 2, el porcentaje ovulatorio denota que el tratamiento 1 obtuvo mayor respuesta a diferencia del tratamiento 2 siendo estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Cuadro 9. Porcentaje de ovulaciones en cada ovario para los tratamientos 1 y 2.

Tratamiento 1		Tratamiento 2	
Ovario izquierdo	Ovarios derecho	Ovario izquierdo	Ovario derecho
46,15%	53,85%	54,55%	45,45%

Dentro de los registros ultrasonográficos se obtuvo un mayor porcentaje de ovulación en el ovario izquierdo para el tratamiento 1 y para el tratamiento 2 se determinó un mayor porcentaje en el ovario derecho observados en el cuadro 9, (**Anexo 9 y 10**).

Gabriela Sofía Garay Peña.

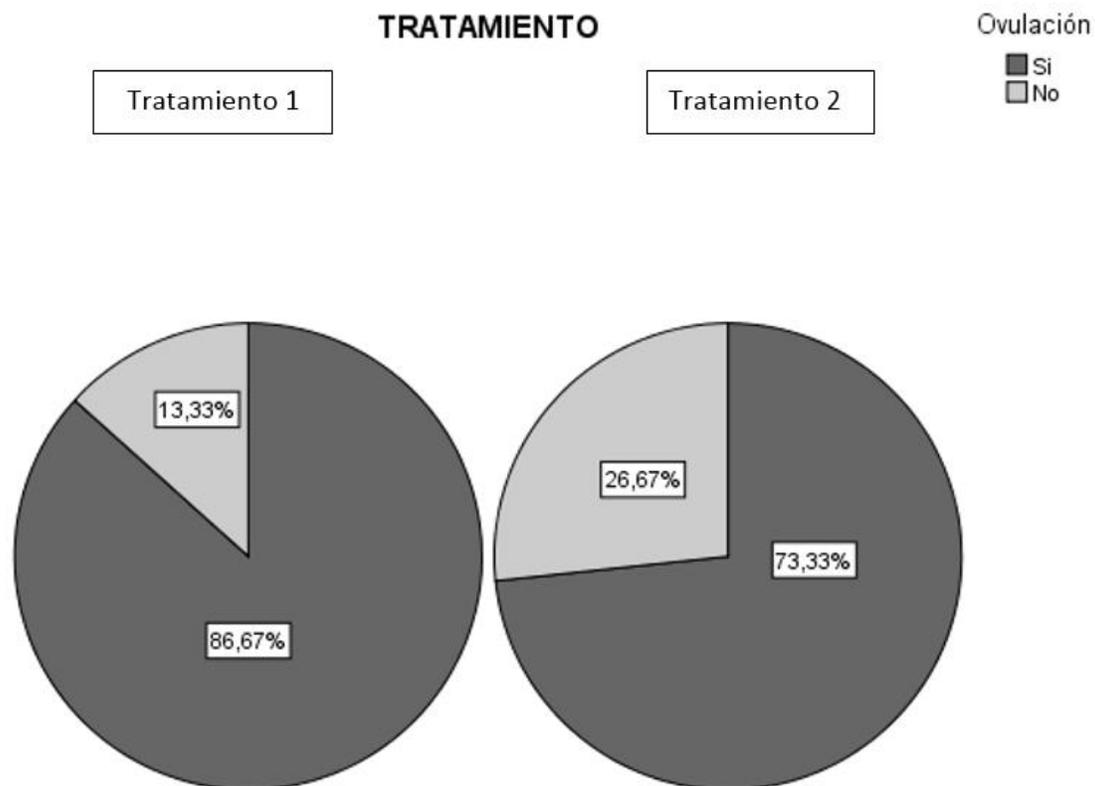


Figura 17. Porcentaje de ovulación para los tratamientos 1 y 2.

En el tratamiento 1 se obtuvo un 86,67% de ovulaciones en contraste con el 73,33% para el tratamiento 2, determinando que el tratamiento 1 provocó una mejor respuesta ovulatorio que el tratamiento 2 con eCG.



Discusión

La detección de celo oportuna, es un factor primordial en un hato ganadero, sin embargo es también uno de los factores limitantes en la reproducción, por lo que, la incorporación de técnicas diseñadas para controlar la dinámica folicular y a la ovulación, en los últimos años ha reducido los problemas asociados con la detección de celos (Bó *et al.*, 2009). La sincronización de ovulaciones e inseminación sistémica de todos los animales sin detectar celos se ha convertido en una alternativa viable y fácil (Giraldo, 2008).

Para esta investigación se evaluó la respuesta ovárica a la adicción de 400UI de hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) en un protocolo de sincronización con progesterona (P4) y benzoato de estradiol (EB), según Morales & Cavestany, (2012), el objetivo de un tratamiento con eCG después de un período de tratamiento con P4 es el de estimular el desarrollo folicular ovárico y la producción de estradiol. Al administrar a las vacas eCG provoca desarrollo y maduración folicular, ovulación y desarrollo viable del cuerpo lúteo.

La media y error estándar del número de folículos reclutados para los días 0, 5 y 8 no establece diferencia significativa ($p > 0,05$), datos similares a (Moussa *et al.*, 2015) quienes aplican 3 tratamientos con PgF2 α (prostaglandina), P4+PgF2 α +400UI de eCG y P4+PgF2 α +800UI de eCG, no obtuvo diferencias estadísticas en el número de folículos detectados a partir de 4mm, para (Morotti *et al.*, 2013) al aplicar un tratamiento con P4 implante +BE+PgF2 α +eCG+BE y otro con P4 muscular +BE+PgF2 α +eCG+BE en vacas con y sin cuerpo lúteo no existió diferencias significativas en la presencia de folículos mayores a 5 mm sin embargo según Jiménez, (2015) al aplicar un tratamiento de sincronización Cosynch donde se adicionó una dosis de 800UI de eCG al día 3 del tratamiento, sostuvo el número de



folículos reclutados para la onda, logrando un mayor porcentaje de ovulaciones dobles en ganado de carne.

A pesar de obtener resultados no significativos en esta investigación para el número de folículos; se puede apreciar un aumento en la media del número de folículos presentes en el día 8 para el tratamiento 2 a diferencia del tratamiento 1, que se puede atribuir a la acción de la hormona gonadotropina coriónica equina aplicada el día 5 del protocolo, que provocó un mayor sostenimiento de los folículos presentes en el día 5, resultado que se ve corroborado por (De Rensis *et al.*, 2014) quienes afirman que la administración de eCG provoca un menor número de folículos atresicos y aumenta la tasa de crecimiento de los folículos reclutados, en otro estudio (Fu *et al.*, 2014), aplicaron 5 tratamientos con diferentes dosis de eCG (2, 2.5, 3, 3.5 y 4 UI/Kg), donde determinaron diferencias significativas en el número de folículos medios de 5 a 10 mm, siendo el tratamiento con 4 UI/Kg el que logró mejores resultados.

Para la variable tamaño de folículo preovulatorio obtenido al día 10 de registro, no existe diferencias significativas ($p > 0.05$), al igual que (Bó *et al.*, 2009), informa que al aplicar dos métodos de sincronización y subdividirlos para aplicar eCG a un grupo y otro no dentro de cada método, no mostró diferencias significativas en el diámetro de folículo preovulatorio para cada variante. Según Garnica, (2012) al aplicar dos tratamientos, el T1 con adición de eCG en un protocolo de sincronización con EB+P4 y PGF2a al día de extracción de implante y T2 sin la adición, determino que el diámetro del folículo dominante fue similar en los dos tratamientos, al igual que Ospina y Augusto, (2013) quienes afirma que no existe diferencias significativas en el diámetro de crecimiento folicular entre dos tratamientos el T1 o control (P4+PGF2 α +GnRh o hormona gonadotropina corionica equina) y el T2 (P4+PGF2 α +GnRh+eCG), datos obtenidos por (Costa *et al.*, 2013), demuestran que



no existe diferencia significativa en el tamaño del folículo preovulatorio al aplicar dos tratamientos con P4+BE+PgF2 α y P4+BE+PgF2 α +eCG.

En la curva de crecimiento medio en los folículos preovulatorios de los tratamientos 1 y 2, para los días 5, 8 y 10 muestran que se mantiene homogeneidad en su distribución, contrario a Yunga, (2013) quien reporta que la introducción de hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) en un protocolo de IATF promueve un desarrollo folicular dominante mayor en relación a los obtenidos en un protocolo normal, mostrando diferencia significativa ($p > 0,05$), similar a (Barreiros *et al.*, 2014), al aplicar un tratamiento con P4+BE+PgF2 α en vacas cíclicas y P4+BE+PgF2 α +eCG en vacas a cíclicas, la adición de eCG mejoró la fertilidad de las vacas en anestro proporcionando tasas de crecimiento folicular y tamaño de los folículos dominantes similares a las vacas cíclicas.

Sin embargo al obtener el porcentaje de crecimiento folicular para el día 8 a partir del día 5 y para el día 10 a partir del día 8 a pesar de que no demuestra diferencias significativas, se observa que los valores medios del porcentaje de crecimiento folicular fueron mayores en el tratamiento 2, atribuyendo este resultado a la acción hormonal de la eCG, afirmado por (Bó *et al.*, 2013), que al aplicar eCG en tratamiento de sincronización a tiempo fijo (P4+PGF2 α +EB), obtuvo diferencias significativas en el tamaño de folículo preovulatorio entre vacas con y sin eCG, resultados similares reporta (Salgado *et al.*, 2012), donde obtuvieron diferencias significativas al aplicar un tratamiento de P4+BE+PgF2 α en vacas cíclicas y a cíclicas, y P4+BE+PgF2 α +eCG en vacas cíclicas y a cíclicas, en otro estudio (Dorneles *et al.*, 2013), aplicaron tres tratamientos con P4 implante +BE+ PgF2 α +GnRH, la eCG fue administrada el día 6 antes del retiro del implante en el tratamiento 1, en el tratamiento 2 recibieron el día 8 conjuntamente con el retiro del implante y tratamiento 3 o control, logrando diferencias significativas en el diámetro del folículo ovulatorio, siendo el tratamiento 1 el de mayor respuesta, resultados similares a (Pitaluga *et al.*, 2013), que obtuvo



diferencias significativas en el diámetro y crecimiento folicular preovulatorio entre dos tratamientos, P4+BE+Pg α 2+CE (Cipionato de estradiol) y P4+BE+Pg α 2+CE+eCG.

Los resultados logrados dentro del porcentaje de ovulación determinaron que el 86,7% de animales ovularon en el tratamiento 1 y el 73,3% ovularon para el tratamiento 2 donde estadísticamente no existió significancia, según (Souza *et al.*, 2009), al aplicar un protocolo de sincronización de P4+Be+PGF2 α +GnRH con y sin eCG, obtuvo 82,6% de ovulaciones sin eCG y 79,2% con eCG, al igual que (Pulley *et al.*, 2013), aplicó un protocolo de sincronización con GnRH+PGF2 α +eCG o sin eCG, logró 98,3% de ovulaciones sin eCG y 97,1% con eCG no existiendo diferencia significativa, resultados similares son reportados por (Salgado *et al.*, 2012), que al aplicar cuatro tratamientos con P4+BE+PgF2 α en vacas cíclicas y a cíclicas con y sin la adición de eCG, no muestra diferencia significativas entre tratamientos, contrario a Garnica, (2012) que establece diferencias significativas en la actividad ovulatoria para dos tratamientos con y sin eCG al día 7, en un protocolo de EB+P4 y PGF2 α , sobre pasando las expectativas en un 35,5%, en vacas Holstein pos parto, al igual que (Perea *et al.*, 2003) afirma que el 78,9% de las vacas con eCG ovularon frente al 29% de vacas que ovularon del grupo sin eCG, resultados parecidos a (Duffy *et al.*, 2004), que al aplicar 4 protocolos de sincronización, P4+BE+eCG, P4+BE, P4+eCG y P4+BE, concluyeron que la adición de eCG resultó en un aumento significativo en la tasa de ovulación. Para (Atanasov *et al.*, 2014), al aplicar 3 tratamientos donde el primero recibe GnRH, el segundo recibe eCG y el tercero es control, logro una mayor tasa de ovulación en el tratamiento con eCG. En otro estudio (Bartolomeu *et al.*, 2007), menciona que al aplicar dos tratamientos con P4+GnRH+eCG+PgF2 α y P4+GnRH+eCG+PgF2 α +GnRH, logra un alto porcentaje de ovulaciones afirmando que este efecto fue proporcionado por la acción de la hormona eCG.



Conclusiones

- Se rechaza la hipótesis planteada que al adicionar 400UI de hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) al día 5 de un protocolo de sincronización a tiempo fijo, provocara una respuesta ovárica más efectiva en número de folículos, tamaño de folículo preovulatorio y porcentaje de ovulación.
- La adición de eCG al día 5 del protocolo, provocó un aumento en el número de folículos registrados en el día 10, pero este valor no posee diferencia estadística significativa.
- El tamaño del folículo preovulatorio no mejoro con la adición de eCG, sin embargo los folículos preovulatorios que recibieron la hormona, poseen un porcentaje de crecimiento mayor, desde el día 5 hasta el 10 de registro a diferencia de los folículos que no recibieron eCG.
- El porcentaje de ovulación fue similar para los dos tratamientos, la aplicación de la hormona eCG, no produjo una mayor ovulación, con una diferencia estadística no significativa.



Bibliografía

- Aba, M., Chayer, R., Uslenghi, G., Gonzáles, S., & Callejas, S. (2013). Efecto de la gonadotrofina coriónica equina y del inseminador sobre la preñez en vacas con cría en inseminación artificial a tiempo fijo. *Red-Vet*, 24 (1), 26.
- Adams, G. P., Jaiswal, R., Singh, J., & Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69 (1), 72-80.
- Anjum, I., Usmani, R., Tunio, M., & Abro, S. (2009). Improvement of conception rate in crossbred cattle by using GnRH. *Pakistan Vet. J.*, 29, 93-94.
- Atanasov, B., Mickov, L., Esmerov, I., Llievska, K., Nikolovski, M., & Dovenski, T. (2014). Two possible hormonal treatment methods for inducing follicular growth in dairy cows with inactive static ovaries. *Macedonian Veterinary*, 37 (2), 171.
- Ballenda, O. G. (2003). La ecografía aplicada a la reproducción en especies de interés productivo. Obtenido de Sitio Argentino de producción animal: http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/11-ecografia_aplicada.pdf
- Barreiros, T., Blaschi, W., Santos, G., Morotti, F., Andrade, E., Baruselli, P., y otros. (2014). Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*, 5.
- Barrera, L., Hernández, R., & Roda, G. (2011). Ensayo de reproducción animal bovina. Obtenido de Universidad Martín Lutero:



<http://www.monografias.com/trabajos89/ensayo-reproduccion-animal-bovino/ensayo-reproduccion-animal-bovino.shtml>

Bartolomeu, C., Del Rei, A., Alvares, C., & Viral, G. (2007). Follicular dynamics during synchronization of ovulation of nuliparous buffaloes cows during unfavourable reproductive station. *Ital. J. Anim. Sci* , 6, 589-592.

Becaluba, F. (2006). Metodos de sincronización en bovinos. Obtenido de Sitio Argentino de producción animal.: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/92-metodos_sincronizacion.pdf

Bó, G. A., Carballo, D. G., Tribulo, A., Tribulo, H., Tribulo, R., & Mapletoft, R. J. (2009). Nuevos tratamientos hormonales para la superovulación en donantes de embriones bovinos. 8° Simposio internacional de Reproducción Animal, (págs. 4-25). Irac.

Bó, G. A., Cutaia, L. E., Souza, A. H., & Baruselli, E. S. (2009). Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. *Taurus*, 11(41), 20-34.

Bó, G. (2011). Programas de IATF en ganado bovino lechero. *Spermova* , 1 (1), 34-43.

Bó, G., Baruselli, P., & Mapletoft, R. (2013). Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim. Reprod* , 10 (3), 137-142.

Butler, H. M., Butler, A., Etcheverry, E., & Cesaroni, G. C. (2011). Efecto de la dosis de cipionato de estradiol al finalizar un tratamiento con progesterona sobre el porcentaje de preñez a la iatf en vaquillonas. *Taurus*, 13 (52), 40-45.

Callejas, S. (2004). Control farmacológico del ciclo estral bovino: Bases fisiologicas, protocolos y resultados. *Taurus* , 6 (24), 22-34.

Gabriela Sofía Garay Peña.



- Colazo, M. G., Mapletoft, R. J., Martinez, M. F., & Kastle, J. P. (2007). El uso de tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia Veterinaria*, 9 (1), 4-15.
- Costa, R., Bourg, M., Ferreira, J., Toledo, A., Mendes, L., Ferreira, B., y otros. (2013). Reproductive parameters of Sindhi cows treated with two ovulation synchronization protocols. *R. Bras. Zootec*, 42 (6).
- Cucunubo, L. G., Strieder, C., Wittwer, F., & Noro, M. (2013). Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. *REDALYC*, XXIII (2), 111-115.
- De Rensis, F., & López, F. (2014). Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow: A Review. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 177-351.
- Diaz Sambrano, T. (2008). Dinamica folicular ovarica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En *Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito* (Vol. 44, págs. 547-553). Venezuela.
- Dorneles, R., Ferreira, R., Tonello, J., Silveira, O., Barreta, M., Oliveira, J., y otros. (2013). The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 79, 1204-1209.
- Duffy, P., Crowe, M., Austin, E., Mihm, M., Boland, M., & Roche, J. (2004). The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. *Theriogenology*, 61, 725-734.
- Echeverría, J. (2006). Endocrinología Reproductiva: Prostaglandina F2 α en vacas. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, VII (01), 1.



- Espinosa, M. (2010). Efecto de diferentes protocolos para IATF sobre la tasa de preñez aplicados en ganado lechero. Obtenido de Universidad nacional de Córdoba:
<http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/Trabajo%20Final%20Marcia%20Espinosa.pdf>
- Ferreira, R. M., Ayres, H., Sales, J. N., Souza, A. H., Rodrigues, C. A., & Baruselli, P. S. (2013). Effect of different doses of equine chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamic and P/AI of high-producing Holstein cows. *ELSEVIER*, 140 (1-2), 26-33
- Fu, S., Riaz, H., Kasib, M., Zhang, H., Chen, J., & Yang, L. Influence of different doses of equine chorionic gonadotropin on follicular population and plasma estradiol concentration in Chinese Holstein dairy cows. *International journal of agriculture and biology*, 16 (2).
- García, A. C., & Montiel, L. A. (2011). El periodo de transición de la vaca lechera. *Sociedades rurales, producción y medio ambiente*, 11 (22), 152-167.
- Garnica, P. M. (2012). Efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG) en la ovulación con protocolo IATf en vacas Holstein posparto (Tesis inédita de maestría). Obtenido de Universidad de Cuenca.
- Gasque, R. (2008). *Enciclopedia Bovina*. Primera edición, Universidad Nacional Autónoma de México. México DF, ISBN 978-970-32-4359-4.
- Giraldo, C. (2003). Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. *MVZ - Córdoba*, 8(2), 303-309.
- Giraldo, J. J. (2008). Sincronización y resincronización de celos y de ovulación en ganado de leche y carne. *LA SALLISTA INVESTIG*, 5 (2), 90-99.



- Hernández, V., Góngora, O., Jiménez, E., Rodríguez, M., Prieto, M., Chacón, J., y otros. (2008). Reproducción en la vaca: Fisiología y Aplicaciones . UNAL , 7115.
- Heuwieser, W. (2012). XVII Congreso de la asociación de veterinaria española de Buiatría . Balance energético negativo y cetosis subclínica y su relación con la salud y reproducción de los animales., (págs. 2-15). España.
- Huanca, W. (2001). Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras . Scielo , 12(2).
- Jiménez, A. (2015). Desarrollo de un protocolo de sincronización para inducir gestaciones dobles en vacas de carne. Obtenido de ReprodAction: <http://www.reprodaction.com/es/Trials-y-Articulos/2015.01.01-Desarrollo-de-un-protocolo-de-sincronizacion-para-inducir-gestaciones-dobles-en-vacas-de-carne>
- Lamb, G. C., Smith, M. F., Perry, G. A., Atkins, J. A., Risley, D. C., Bush, D. C., y otros. (2009). Reproductive Endocrinology and hormonal Control of the Estrous. Obtenido de University of Florida.
- Loeza, D. (2012). Manual de diagnóstico de gestación en hembras bovinas a través de palpación transrectal y ultrasonografía. (Tesis inédita de grado). Obtenido de Universidad Veracruzana.
- Martínez, J., Gutiérrez, M., Rosillo, P., Lucero, F., & Gutiérrez, E. (2007). Uso de dispositivos intravaginales de liberación de progesterona + eCG-PMSG en un protocolo de sincronización de vacas lecheras. APPA - ALPA, Cusco, Perú, http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/115-Martinez-Sincronizacion.pdf



- Mora, R. J. (2008). Ventajas de la inseminación artificial en bovinos. Obtenido de <http://www.monografias.com/trabajos57/formacion-inseminacion-artificial/formacion-inseminacion-artificial2.shtml>
- Morales, J. T., & Cavestany, D. (2012). Anestro posparto en vacas lecheras: tratamientos hormonales. *Veterinaria Montevideo*, 48, 3-11.
- Morotti, F., Tadeu, J., & Marcondes, M. (2013). Fixed-time artificial insemination using injectable progesterone: ovarian follicular dynamics and pregnancy rates of Nelore cows (*Bos indicus*) with and without a corpus luteum. *Semina: Ciencias Agrarias, Londrina* , 34 (6), 3867-3876.
- Motta , P. A., Ramos, N., González , C. M., & Castro, E. C. (2011). Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra Bovina. *Vet.zootec*, 5 (2), 88-99.
- Moussa, M., Issa, M., & Marichatou, H. (2015). An echographic study of follicular growth during induced estrus in female Azawak zebu in Niger. *Trop Anim Health Prod* , 47, 1357-1361.
- Núñez, O. R. (2011). Utilización de eCG en vacas de carne, sobre la tasa de preñez y perdidas embrionarias en un programas de IATF. Universidad Nacional de Córdoba Obtenido de http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/Trabajo%20Final%20-%20Especialidad%20_Nu%C3%B1ez.pdf
- Ortega, J., Favela, J., Hernández, J., & Pawoli, C. (2011). Efecto de la aplicación de un implante de progesterona en vacas repetidoras Holstein-Friesian en la comarca Lagunera México. *Revista Chapingo Berle Zonas Aridas* , 10, 73-78.



- Ospina, A., & Augusto, C. (2013). Efecto de la eCG, sobre el crecimiento del folículo preovulatorio y la tasa de preñez pos IATF, en vacas y novillas normando. Obtenido de Universidad Nacional de Cordova IRAC.
- Perea, F. G., Soto, E. B., Ramírez, L. I., González, R. F., Goicochea, J. L., & Ondiz, A. S. (2003). Tratamiento del aastro posparto con progesterona intravaginal mas eCG en vacas mestizas tropicales. FVC-LUZ, XIII (1), 36-44.
- Pitaluga, P., Sousa, J., Sá, M., Perecin, F., Assis, A., Baruselli, P., y otros. (2013). Effects of Equine Chorionic Gonadotropin on Follicular, luteal and conceptus development of non-lactating Bos indicus beef cows subjected to a progesterone plus estradiol-based timed artificial insemination protocol. *ijas Italian Journal of Animal Science* , 12 (3).
- Pulley, S., Wallace, L., Mellicon, H., & Stevenson, J. (2013). Ovarian characteristics serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin . *Theriogenology* , 79, 127-134.
- Ramírez, L. (2006). Hormonas hipofisarias del bovino. *Mundo pecuario*, 2 (1), 18-19.
- Rangel, L. E., Porras, A. I., Páramo, R. M., Alarcón, M. A., Galina, C., Hernández, J., y otros. (2009). Manual de prácticas de reproducción animal. Universidad nacional autónoma de México, Primera edición. México, DF, México.
- Rippe., C. A. (2009). El ciclo estral. *The Dairy Cattle Reproduction Council does not support one product over another and any* (pág. 112). Minneapolis: Boise.
- Rivera, H. (2009). Revision anatomica del aparato reproductor de las vacas, *Dairy Reproduction Conference*, (págs. 103-110). Minneapolis.
- Robson, C., Aller, J., Callejas, S., & Alberio, R. (2008). Dinámica folicular posparto y comportamiento del amamantamiento en razas angus y criolla Argentina. *Arch. Zootec.*, 57 (220), 478.



- Sagbay, C. (2012). Efecto de la gonadotropina coriónica equina aplicada al momento de retirar el dispositivo de progesterona sobre el porcentaje de preñez en vacas Holstein posparto. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana .
- Salgado, R., Maza, L., & Vergara, O. (2012). Effect of cyclicity and Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) in fixed-time artificial insemination programs in *Bos indicus* cattle. *Colombian journal of animal science and veterinary medicine* , 26 (1).
- Souza, A., Viechnesky, S., Lima, F., Silva, F., Araujo, R., Bó, G., y otros. (2009). Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in time A.I protocol on reproductive response in dairy cow. *Theriogenology* , 72, 10-21.
- Turner, J. (2014). Reproductive tract anatomy and physiology of the cow. Obtenido de Nmstate University: http://aces.nmsu.edu/pubs/_b/B212.pdf
- Yavas, Y., & Walton, J. (2000). Postpartum acyclicity in suckled beef cows. *THERIOGENOLOGY*, 54 (1), 25-55.
- Yunga, E. S. (2013). Efecto de la hormona gonadotropina corionica equina (eCG) en la maduración folicular en bovinos con su cría al pie (Tesis inédita de maestría). Obtenido de Universidad de Cuenca.



Id del animal	Número de folículos							Cuerpo lúteo	
	1	2	3	4	5	6	7		
154	O.D	5mm	4mm	4mm					
	O.I	7mm	7mm	7mm	7mm			14mm	
384	O.D	8mm	7mm						
	O.I	16mm	7mm						
580	O.D	6mm	6mm	5mm					
	O.I	5mm	4mm	4mm				9mm	
H127	O.D	15mm						28mm	
	O.I	8mm	7mm	6mm	6mm	4mm	4mm	4mm	
F101	O.D	5mm	3mm					18mm	
	O.I	3mm	6mm						
644	O.D	10mm	4mm					10mm	
	O.I	16mm	6mm						
646	O.D	11mm	7mm	7mm	6mm				
	O.I	7mm	7mm	7mm	5mm				
653	O.D	6mm	5mm	4mm	3mm	3mm	3mm	3mm	27mm
	O.I	14mm	5mm	4mm	4mm	3mm	3mm		
99	O.D	12mm	11mm	5mm					
	O.I	11mm							13mm
414	O.D	9mm	3mm	3mm					10mm
	O.I								
648	O.D	10mm	3mm						9mm
	O.I	6mm	5mm	3mm					
359	O.D	10mm	9mm	7mm	7mm				16mm
	O.I	7mm							
568	O.D	5mm	4mm	3mm	3mm				
	O.I	11mm	6mm	5mm					
634	O.D								28mm
	O.I	5mm	3mm	3mm	3mm	3mm			
579	O.D	5mm	5mm						
	O.I								30mm

Anexo 3. Tamaño en milímetros (mm) de cada estructura presente en el ovario derecho (O.D) y ovario izquierdo (O.I) para el día 0 del tratamiento 1.

Gabriela Sofía Garay Peña.



Id del animal		Número de folículos							Cuerpo lúteo
		1	2	3	4	5	6	7	
264	O.D								16mm
	O.I	6mm	3mm	3mm	3mm				
150	O.D	10mm							
	O.I								10mm
371	O.D	8mm	3mm	3mm	3mm				
	O.I	16mm							12mm
400	O.D	16mm							
	O.I								22mm
641	O.D	7mm	4mm	4mm	4mm	3mm			19mm
	O.I								
H146	O.D	5mm	5mm	3mm					15mm
	O.I	11mm	7mm	4mm	4mm	3mm			
481	O.D	5mm	4mm	4mm	3mm	3mm			
	O.I	8mm	7mm	4mm	3mm	3mm	3mm	3mm	
H132	O.D	13mm	6mm	5mm					9mm
	O.I	9mm	3mm	3mm	3mm				
649	O.D	12mm							8mm
	O.I	8mm	5mm	4mm	3mm				
Esperanza	O.D	13mm							28mm
	O.I	5mm	4mm						
Linda	O.D	3mm	3mm						
	O.I	14mm	5mm	3mm					18mm
Darla	O.D	11mm	6mm	5mm	5mm	4mm			
	O.I	5mm	4mm						
Cabrerita	O.D	4mm	4mm	4mm	4mm	3mm	3mm	3mm	
	O.I	7mm	6mm	5mm					20mm
492	O.D	6mm	5mm	4mm	4mm	3mm			14mm
	O.I	13mm	8mm						
488	O.D	10mm							
	O.I								14mm

Anexo 4. Tamaño en milímetros (mm) de cada estructura presente en el ovario derecho (O.D) y ovario izquierdo (O.I) para día 0 del tratamiento 2.



Prueba de "t" student			
	F	Sig.	Sig. (Bilateral)
Día 0	0,511	0,481	0,808
Día 5	0,274	0,605	0,268
Día 8	0,464	0,502	0,051

Anexo 5. Prueba t de student para muestras independientes para el número de folículos presentes en los días 0, 5 y 8 en los tratamientos 1 y 2.

Prueba "t" student			
	F	Sig.	Sig. Bilateral
Día 5	0,090	0,767	0,114
Día 8	0,103	0,750	0,293
Día10	0,272	0,606	0,671

Anexo 6. Prueba t de student para muestras independientes para el tamaño de folículo preovulatorio en los días 5, 8 y 10 de registro para los tratamientos 1 y 2.



Prueba no paramétrica de Mann-Whitney

	Sig. asintót. bilateral	Sig. Exacta
Del día 5 a 8	0,329	0,064
Del día 8 a 10	0,345	0,067

Anexo 7. Prueba no paramétrica de Mann-Whitney para el porcentaje de crecimiento del folículo preovulatorio medido desde el día 5 al 8 y del día 8 al 10, para los tratamientos 1 y 2.

Prueba "t" student			
	F	Sig.	Sig. Bilateral
Ovulación	3,422	0,075	0,379

Anexo 8. Prueba t de student para el porcentaje de ovulación en el día 11 de registro para los tratamientos 1 y 2.



N° de vaca	Ovulación	
	Ovario derecho	Ovario izquierdo
154		X
384		X
580		X
H127		
F101		X
644	X	
646		X
653	X	
99	X	
414	X	
648	X	
359		X
568		
634		X
579	X	

Anexo 9. Registro de ovulaciones de cada animal en el tratamiento 1.

N° de vaca	Ovulación	
	Ovario derecho	Ovario izquierdo
264	X	
150		X
371	X	
400	X	
641		
H146		
481		X
H132		
649		
Esperanza	X	
Linda		X
Darla	X	
Cabrerita		X
492		X
488	X	

Anexo 10. Registro de ovulaciones de cada animal en el tratamiento 2.



Anexo 11. Selección de la muestra.



Anexo 12. Chequeo ginecológico para verificar involución uterina.



Anexo 13. Aplicación del implante intravaginal, Universidad De Cuenca “IRQUIS”



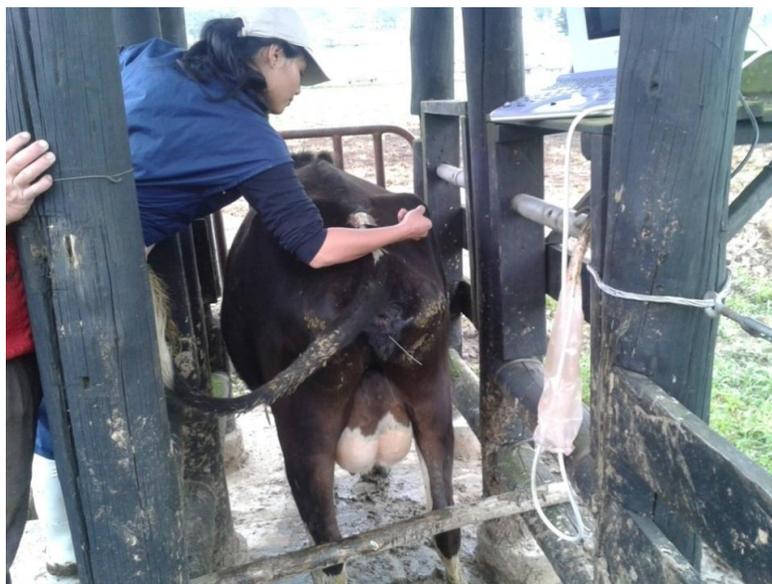
Anexo 14. Benzoato de estradiol empleado en el protocolo para cada tratamiento (1 y 2).



Anexo 15. Aplicación intramuscular de Benzoato de estradiol. Universidad De Cuenca "IRQUIS"



Anexo 16. Aplicación de Cloprostenol sódico (prostaglandina sintética).



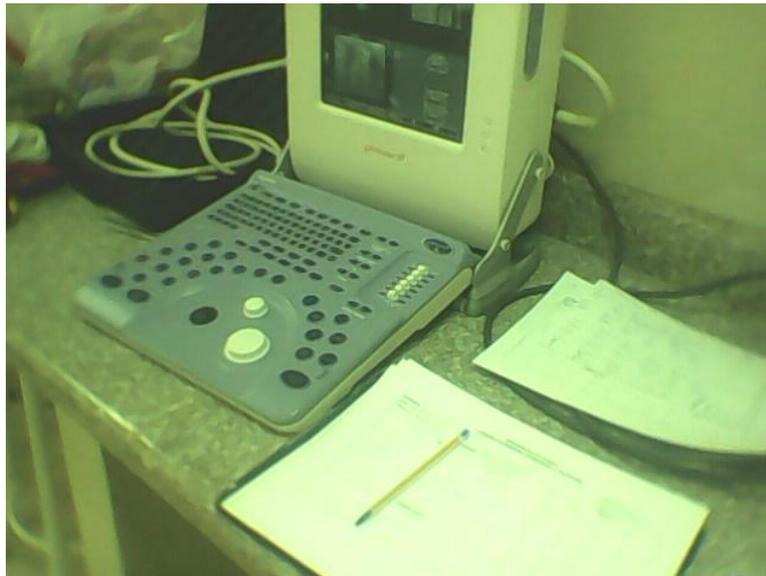
Anexo 17. Aplicación de 400UI de eCG Hormona gonadotropina coriónica equina.



Anexo 18. Parches adhesivos para detectar celo.



Anexo 19. Colocación de parche detector de celo en la unión entre vertebras lumbares y hueso coccígeo.



Anexo 20. Descarga y toma de datos de las ecografías.



Anexo 21. Ecografía ovárica derecha de la vaca 634, perteneciente al día 0 del tratamiento 1.



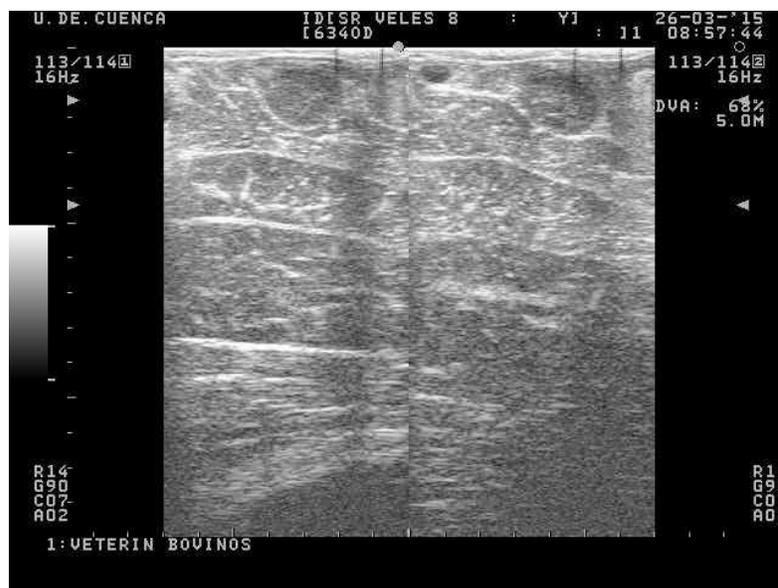
Anexo 22. Ecografía ovárica izquierda de la vaca 634, perteneciente al día 0 del tratamiento 1.



Anexo 23. Ecografía ovárica derecha en la vaca 634, perteneciente al día 5 del tratamiento 1.



Anexo 24. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, perteneciente al día 5 del tratamiento 1.



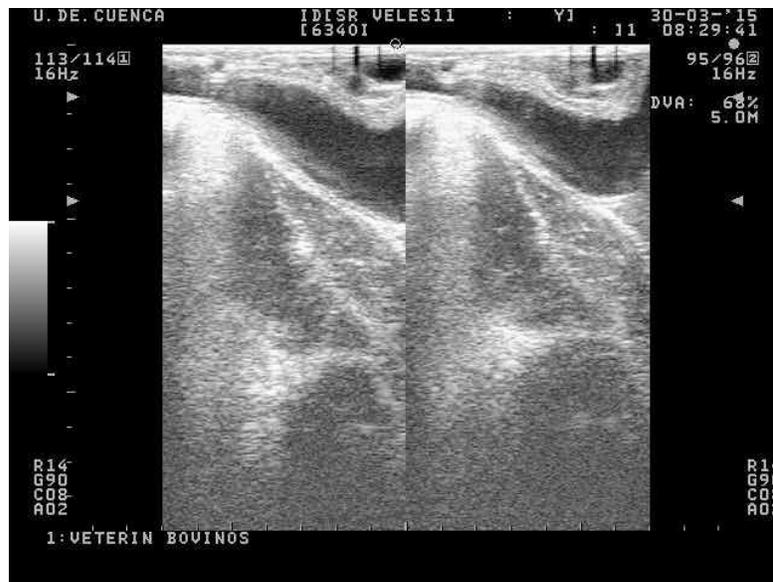
Anexo 25. Ecografía ovárica derecha en la vaca 634, perteneciente al día 8 del tratamiento 1.



Anexo 26. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa el folículo preovulatorio perteneciente al día 8 del tratamiento 1.



Anexo 27. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa dos folículos preovulatorio pertenecientes al día 10 del tratamiento 1.

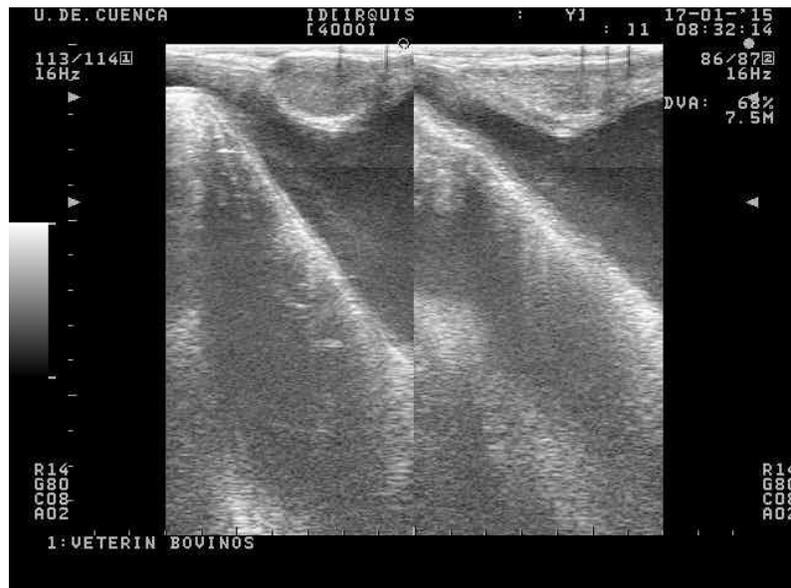


Anexo 28. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 634, se observa la fosa de ovulación perteneciente al día 11 del tratamiento 1.



Anexo 29. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 0 del tratamiento 2.

Gabriela Sofía Garay Peña.



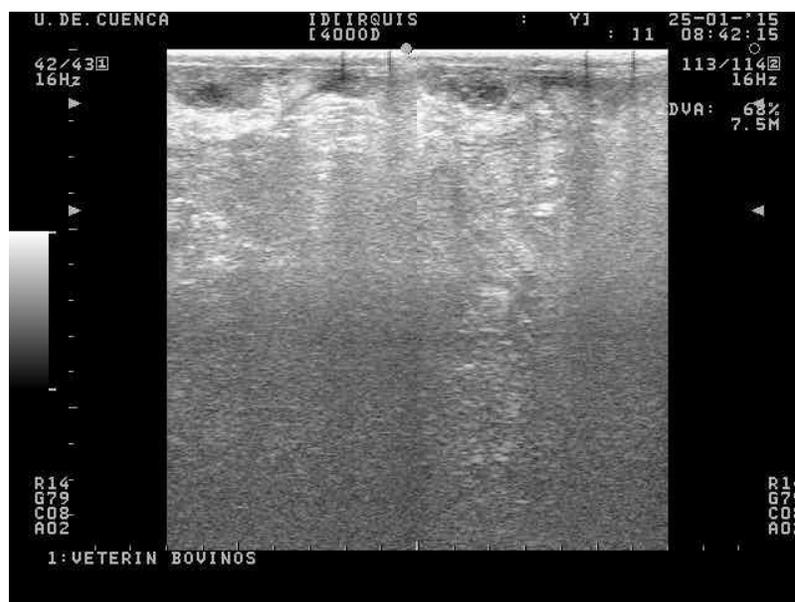
Anexo 30. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 0 del tratamiento 2.



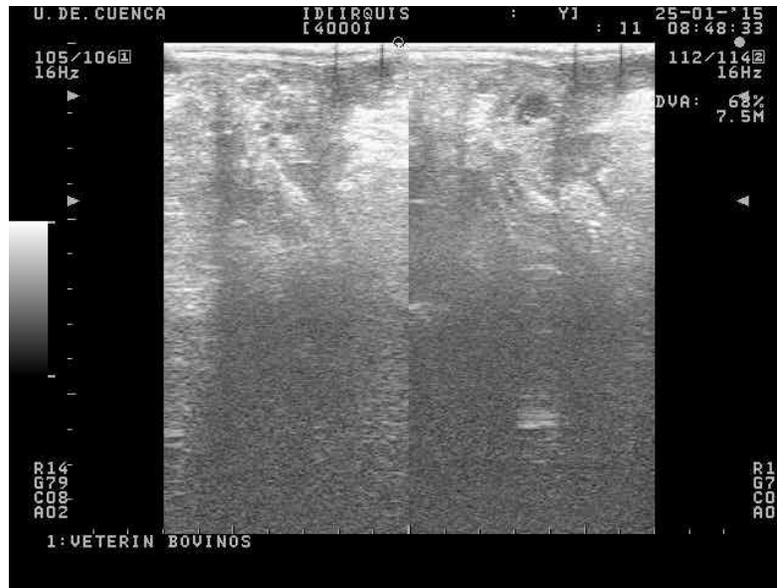
Anexo 31. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 5 del tratamiento 2.



Anexo 32. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 5 del tratamiento 2.



Anexo 33. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, perteneciente al día 8 del tratamiento 2.



Anexo 34. Ecografía ovárica izquierda en la vaca 400, perteneciente al día 8 del tratamiento 2.



Anexo 35. Ecografía ovárica derecha en la vaca 400, se observa el folículo preovulatorio perteneciente al día 10 del tratamiento 2.

Gabriela Sofía Garay Peña.