



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

TÍTULO:

“Efecto del tratamiento con dosis reducida de progesterona después de la inseminación artificial sobre el funcionamiento del cuerpo lúteo y el porcentaje de concepción, en vaconas en el altiplano ecuatoriano (2500 msnm)”

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MAGÍSTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

Autora: M.V.Z. Sonia Janneth Barros Angulo

C.I. 0103805073

Director: MSc. Diego Andrés Galarza Lucero

C.I. 0103912846

CUENCA

2016



RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de bajas dosis de progesterona (P_4) de larga acción, en los días inmediatos a la inseminación artificial (IA), sobre el funcionamiento y morfología del cuerpo lúteo (CL) y el porcentaje de concepción temprana. Se realizó en la granja Irquis - Universidad de Cuenca, en 28 vaconas, entre 30 a 40 meses de edad, condición corporal (CC) 2,5 a 3, clínicamente sanas, alimentadas al pastoreo, divididas en tres grupos: un control G1 ($n_1= 9$), y dos grupos experimentales: G2 ($n_2=10$) 75mg de P_4 y G3 ($n_3= 9$) 100mg de P_4 , respectivamente. Se aplicó $PGF_{2\alpha}$ a intervalos de 14 días para sincronizar celo, se inseminaron 12 hs post detección del celo y 2 días post-IA se aplicó P_4 (SC). Se midió P_4 plasmática por electroquimioluminiscencia desde día 0 al 16, el tamaño del CL por ultrasonografía transrectal (Usx) y porcentaje de concepción 28 días post IA. Se usó un diseño de bloques al azar (DBA), los datos se analizaron en Software estadístico SPSS versión 22.0. Se obtuvo diferencias estadísticas ($P<0,05$) en P_4 plasmática en los días 3, 4 y 5, atribuyendo eficacia para G3. En la morfología del CL sólo existió diferencias ($P<0,05$) el día 2 (inicio) obteniendo, respectivamente para G3: $15,6\pm 0,33$, G2: $14,4\pm 0,82$, G1: $12,5\pm 0,18$ mm. En el porcentaje de concepción temprana, aunque los valores fueron altos no se evidenció diferencias estadísticas ($P>0,05$). En conclusión, la administración exógena de bajas dosis de P_4 vía SC en vaconas del altiplano ecuatoriano 2 días post IA no afecta la funcionalidad y morfología del CL, ni el porcentaje de concepción temprana.

Palabras claves: PROGESTERONA, CUERPO LÚTEO, CONCEPCIÓN TEMPRANA, PROSTAGLANDINA.



ABSTRACT

The objective of this research was to assess the effect of applying progesterone (P4) of high duration in low doses, in the days immediately following the artificial insemination (AI), on the function and morphology of the corpus luteum (CL) and the percentage of early conception. It was held at Irquis farm - University of Cuenca, on 28 cows, between the ages of 30 to 40 months, the body condition (BC) was 2.5 to 3, clinically healthy, fed with pasture, they were divided into three groups: G1 control (n1 = 9), and two experimental groups: G2 (n2 = 10) 75mg of P4 and G3 (n3 = 9) 100mg of P4, respectively. PGF2 α was applied in intervals of 14 days to synchronize rut, they were inseminated 12 hours post detection of the rut and 2 days post-IA. P4 was applied (SC). Plasma P4 by sample was measured from day 0 to 16, the size of the CL by transrectal ultrasonography (Usx) and percentage of conception 28 days post IA. A design of blocks at random (DBR) was used, the data was analyzed using SPSS statistical software *version 22.0*. Statistical differences were obtained ($P < 0.05$) in P4 plasma in 3, 4, and 5 days, attributing efficiency for G3. Only some differences were found in the morphology of the CL ($P < 0.05$) in day 2 (home) obtaining respectively, for G3= 15.6 ± 0.33 , G2= 14.4 ± 0.82 , G1= 12.5 ± 0.18 mm. In the percentage of early conception, although values were high, they did not show statistical differences ($P > 0.05$). In conclusion, the exogenous administration of low doses of P4 via SC in cows of the Ecuadorian highlands 2 days post IA does not affect the functionality and morphology of the CL, or the percentage of early conception.

Keywords: PROGESTERONE, CORPUS LUTEUM, EARLY CONCEPTION, PROSTAGLANDIN



Contenido

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE GRÁFICOS.....	6
LISTA DE FIGURAS	7
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	8
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL	9
CLÁUSULA DE DERECHOS DEL AUTOR.....	10
AGRADECIMIENTOS	11
DEDICATORIA.....	12
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	13
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Fisiología del ciclo estral bovino	16
2.1.1 Dinámica folicular y ondas foliculares.....	17
2.1.2 Control endócrino del ciclo estral bovino.....	18
2.2 Estructuras ováricas y Ultrasonografía	20
Folículos	20
Cuerpo lúteo	22
2.3 Función del cuerpo lúteo.....	24
2.4 Progesterona	25
2.4.1 Síntesis y regulación de las concentraciones circulantes de P₄	25
2.4.2 Principales acciones de la Progesterona.....	27
2.4.3 Relación de P₄ con el desarrollo temprano del embrión.	29
2.5 Prostaglandina F₂α. (PGF₂α)	31
2.5.1 Uso de la PGF₂α en la sincronización del celo.....	32
2.6 Diagnóstico de concepción temprana.	33
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1 Materiales.....	36
3.1.1 Materiales biológicos.	36
3.1.2 Materiales químicos.	36
3.1.3 Materiales físicos.....	36
3.2. Método	37



3.2.1 Localización.....	37
3.2.2 Características da la unidad de análisis	37
3.2.3 Metodología	37
3.2.4 Variables analizadas	40
3.2.5 Diseño experimental y pruebas estadísticas	40
CAPITULO IV: RESULTADOS	42
4.1 Nivel de P4 plasmática (ng/ml)	42
4.2 Morfología del CL.....	44
4.3 Porcentaje de concepción temprana (%).....	46
CAPITULO V: DISCUSIÓN	48
5.1 Nivel de P ₄ plasmática (ng/ml).....	48
5.2 Morfología del Cuerpo Lúteo.	49
5.3 Porcentaje de concepción temprana	50
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
6.1 Conclusiones	52
6.2 Recomendaciones.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	63



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estadísticos descriptivos del nivel de P4 plasmática (ng/ml), en los tres grupos de estudio durante las primeras 5 mediciones.	42
Tabla 2. Estadísticos descriptivos del nivel de P4 plasmática (ng/ml), en los tres grupos de estudio desde el día 6 al 16 de medición.	43
Tabla 3. Estadísticos descriptivos del tamaño del CL (mm) en los tres tratamientos y 11 días de medición.....	45
Tabla 4. Porcentaje de concepción temprana en los tres grupos en estudio. ...	46



LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Niveles de P4 plasmática (ng/ml), en los tres grupos, durante los días de medición (Letras diferentes en cada día de medición entre los grupos muestran significación, según Tukey, $P < 0,05$)..... 44
- Gráfico 2.** Tamaño de CL (mm), en los tres grupos, durante los días de medición (Letras diferentes en cada día de medición entre los grupos muestran significación, según Tukey, $P < 0,05$)..... 46
- Gráfico 3.** Tasa de concepción temprana de los tres grupos en estudio (Letras diferentes en cada grupo muestran significación, según Kruskal Wallis, $P < 0,05$)..... 47



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del crecimiento folicular y la FSH, para una vaca que tiene dos ondas foliculares durante un ciclo estral de 21días.	17
Figura 2. Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo–Hipófisis-Ovarios.	20
Figura 3. Desarrollo de un cuerpo lúteo de un folículo.	23



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

CL: Cuerpo lúteo.

P₄: Progesterona.

PGF₂ α : Prostaglandina F2 alfa.

IA: Inseminación artificial.

GnRH: Gonadotropinas.

HCG: Coriónica humana.

FSH: Hormona folículo estimulante.

LH: Hormona luteinizante.

bINT-T: Interferón Tau bovino

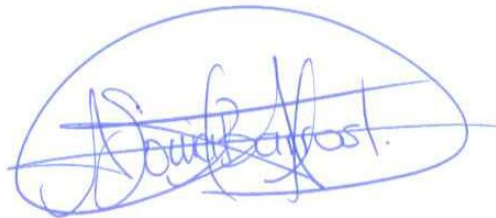
CC: condición corporal

Usx: ultrasonografía

CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Yo, Sonia Janneth Barros Angulo, autora de la tesis “Efecto del tratamiento con dosis reducida de progesterona después de la inseminación artificial sobre el funcionamiento del cuerpo lúteo y el porcentaje de concepción, en vaconas en el altiplano ecuatoriano (2500 msnm)”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 05 de septiembre del 2016.




Sonia Janneth Barros Angulo

CLÁUSULA DE DERECHOS DEL AUTOR

Yo, Sonia Janneth Barros Angulo, autora de la tesis “Efecto del tratamiento con dosis reducida de progesterona después de la inseminación artificial sobre el funcionamiento del cuerpo lúteo y el porcentaje de concepción, en vaconas en el altiplano ecuatoriano (2500 msnm)”, 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 Magister en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 05 de septiembre del 2016.



Sonia Janneth Barros Angulo

AGRADECIMIENTOS

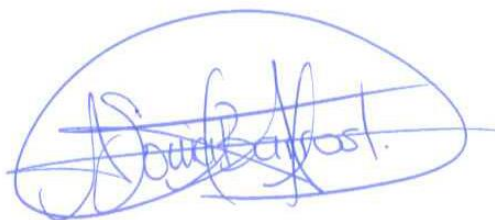
Al Dr. Ricardo Alberio PhD, mi eterno agradecimiento, por brindarme su ayuda incondicional, iniciándome como investigadora, por su paciencia, por su incomparable calidad humana, por su motivación aportándome constantemente toda su preparación, su experiencia científica ilimitada y por confiar en mí.

A mi director Dr. Andrés Galarza Lucero Mg. Sc., por brindarme de manera desinteresada su amistad, compañerismo y gran profesionalidad en estos momentos tan importantes de mi vida académica.

A mi mami, mi infinita gratitud, ha sido el motor impulsor de todo este trabajo, pues su dedicación y su amor han contribuido a la culminación de este, mi trabajo que también es suyo.

A mi esposo Adrián, por ser un magnífico compañero, que ha estado siempre a mi lado, asumiendo con amor y paciencia, muchas de mis responsabilidades, incentivándome a hacer posible este trabajo, para ti mi amor y reconocimiento.

A los docentes y personal administrativo de la Universidad de Cuenca – Facultad de ciencias Agropecuarias – Carrera de Medicina Veterinaria y Zootécnica un sincero agradecimiento.



Sonia Janneth Barros Angulo



DEDICATORIA

A mi hija Sofía quien es la luz, la alegría y la razón de mi vida y a mi padre, que, a pesar de no estar ya entre nosotros, vivirá en mi corazón y su infinito amor y ejemplo me guiará siempre.

Sonia



CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

La supervivencia de embriones después del servicio natural o por inseminación artificial (IA) es un factor importante en la fertilidad, y como consecuencia en la producción y la eficiencia económica en todos los sistemas de producción de leche y carne en rumiantes (Diskin *et al.*, 2006).

En el ganado vacuno, aproximadamente el 40% de pérdidas en la concepción se estima que ocurre entre 8 a 16 días de gestación (Loneragan, 2011).

Ante esta problemática, desde varias décadas se han ido generando programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes hormonas naturales y sintéticas, combinando las prostaglandinas, los progestágenos, GnRH y estrógenos con el único fin de mejorar las tasas de concepción, así como la genética animal.

Los progestágenos son un grupo de hormonas con gran actividad fisiológica, la más importante es la progesterona (P₄) producida por el cuerpo lúteo (CL) al inicio de la gestación y que cumple funciones importantes: inhibición del comportamiento sexual, mantenimiento de la preñez por ausencia de las contracciones uterinas, promoción del desarrollo glandular en el endometrio y promueve el desarrollo alveolar de las glándulas mamarias. La hormona esteroidea P₄ desempeña un importante papel en la regulación materno embrionaria, es decir sobre el crecimiento y desarrollo del embrión en la preñez temprana del ganado (Garrett *et al.*, 1988).

Como la hormona de la preñez, la progesterona estimula y mantiene las funciones necesarias para el crecimiento del endometrio producto de la concepción, la implantación, placentación y desarrollo a término (Spencer *et al.*, 2002; Spencer *et al.*, 2004). En el ganado vacuno, el establecimiento exitoso de la gestación y rápido desarrollo del blastocisto se correlaciona con el aumento de la progesterona (Spencer *et al.*, 2006).

Las altas concentraciones de P₄ circulantes, inmediatamente después de la concepción, se han asociado con un aumento en la elongación del conceptus (Garrett *et al.*, 1988; Carter *et al.*, 2008), un incremento en la producción del Interferon tau (INT_τ), en etapas más tempranas que lo que ocurre normalmente



(Mann *et al.*, 2001), y una mayor tasa de la preñez en vacas y ovejas (Ashworth *et al.*, 1989; Stronge *et al.*, 2005; McNeill *et al.*, 2006).

Está claro que la concentración de P₄ plasmático tiene un efecto sobre el desarrollo del embrión y este efecto es probablemente el resultado de la expresión génica en los tejidos del útero (Clemente *et al.*, 2009).

Las concentraciones plasmáticas de P₄ durante el ciclo previo y posterior a la inseminación, afectan la tasa de supervivencia de embriones. Una concentración muy alta o muy baja de P₄ está asociada negativamente con la tasa de supervivencia embrionaria (Diskin *et al.*, 2008).

La suplementación estratégica de P₄ se puede usar para aumentar las tasas de concepción en el ganado, pero la sincronización de la suplementación en relación a la ovulación, la concentración de P₄ y formulación del suplemento que contiene P₄-suplementaria no se ha determinado para el ganado vacuno (Wiltbank *et al.*, 2012).

Atendiendo a lo anterior en el presente estudio analizamos, ¿Cuál es el efecto de la aplicación de bajas dosis de progesterona de larga acción, en los días inmediatos a la IA, sobre el funcionamiento y morfología del CL y el porcentaje de concepción temprana de vacas, en el altiplano ecuatoriano?

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la aplicación de bajas dosis de P₄ de larga acción, en los días inmediatos a la inseminación artificial (IA), sobre el funcionamiento y morfología del CL y el porcentaje de concepción temprana.

Objetivos específicos:

- 1- Determinar en diferentes días los niveles de P₄ plasmática, luego de la aplicación de bajas dosis de P₄ de larga acción, después de la IA.
- 2- Evaluar mediante ultrasonografía la evolución morfológica del cuerpo lúteo pos-tratamiento, con la administración de P₄ de larga acción.
- 3- Determinar el efecto de la aplicación de 75 o 100 mg de P₄ de larga acción 2 días después de la IA, sobre el porcentaje de concepción



temprana.

Hipótesis

La administración exógena de bajas dosis de progesterona, vía subcutánea, en vaconas del altiplano ecuatoriano, dos días post inseminación artificial, no afecta la funcionalidad ni la morfología del cuerpo lúteo y mejora el porcentaje de concepción temprana.



CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fisiología del ciclo estral bovino

El inicio de la pubertad depende de la habilidad de las neuronas hipotalámicas para producir en cantidades adecuadas la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), para que inicie y mantenga la gametogénesis. Las neuronas hipotalámicas deben desarrollar la habilidad de responder a los estímulos positivos del estradiol antes de que puedan producir suficientes cantidades de GnRH que induzca la ovulación. El desarrollo de estas neuronas está influenciado por el desarrollo del tamaño del cuerpo, medio ambiente y conducta social y genética (Rivera, 2009).

Callejas, (2001), indica que cuando la hembra alcanza la pubertad manifiesta cambios rítmicos en su conducta sexual (receptividad sexual), denominada celo o estro. Los acontecimientos que comienzan en un celo y terminan en el siguiente, recibe el nombre de ciclo estral. El ciclo estral en la hembra bovina tiene una duración promedio de 21 días, pudiendo presentarse en un rango de 17 y 25 días, se presenta a lo largo del año, por lo que se le conoce como poliéstrica continua.

El ciclo estral se puede dividir en tres fases:

1. Fase Folicular o de regresión del cuerpo lúteo (Proestro)
2. Fase Periovulatoria (Estro y Metaestro)
3. Fase Luteal (Diestro)

El ciclo estral de los animales domésticos está dominado por la presencia de un cuerpo amarillo o cuerpo lúteo funcional cuya persistencia dura alrededor de las tres cuartas partes del tiempo de duración del ciclo. Este cuerpo amarillo se ubica ocupando el mismo espacio dejado, en el ovario, por el último folículo ovulado; su desarrollo, se realiza a expensas del remanente de tejido dejado por el folículo ovulado. El máximo desarrollo del cuerpo amarillo se obtiene alrededor del día 16 del ciclo estral del bovino y es a partir de este momento que comienza su destrucción fisiológica (Rodríguez, 2001).

2.1.1 Dinámica folicular y ondas foliculares.

La dinámica folicular ovárica es definida como el proceso continuo de crecimiento y desarrollo de folículos antrales, que conlleva al desarrollo del folículo pre-ovulatorio. Cada onda de desarrollo folicular involucra cuatro fases sucesivas: La de reclutamiento, la de selección, la de dominancia y atresia (del Valle, 2008).

En vacas, el desarrollo folicular ocurre en forma de ondas y se observan tanto en animales jóvenes como adultos, en vacas preñadas (excepto durante los últimos 30 días de gestación), durante el postparto y durante el ciclo estral. Entre 1 y 4 ondas de crecimiento y desarrollo folicular ocurren dentro un ciclo estral y el folículo preovulatorio se origina a partir de la última onda (Rippe, 2009).

La dinámica folicular se describe entonces como los procesos biológicos que ocurren en el ovario, para conformar un folículo competente, dominante y preovulatorio, con el fin de que la hormona luteinizante (LH) pueda inducir la ovulación y generar un cuerpo lúteo (figura 1) (Lenis *et al.*, 2014).

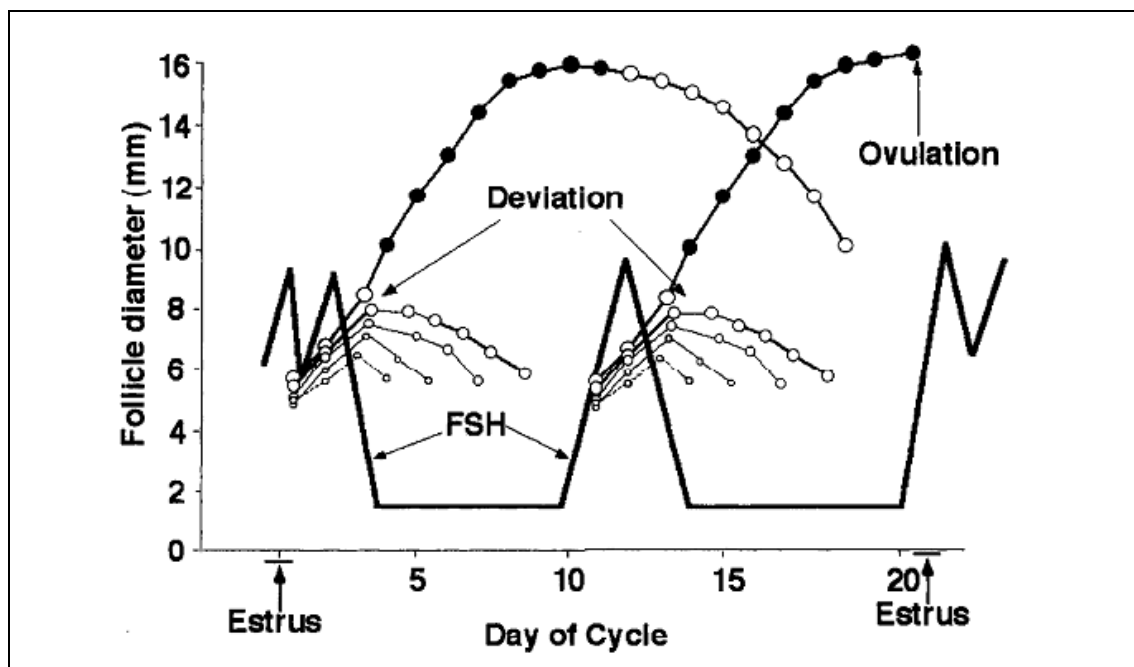


Figura 1. Esquema del crecimiento folicular y la FSH, para una vaca que tiene dos ondas foliculares durante un ciclo estral de 21 días.

Fuente: Wiltbank *et al.*, (2002).



2.1.2 Control endócrino del ciclo estral bovino.

Lenis *et al.*, (2014), explican que, el sistema nervioso es el encargado de la regulación de las funciones reproductivas en la vaca; el tálamo e hipotálamo ubicados en el diencefalo, contienen los núcleos neuronales que se especializan en la producción de neurotransmisores. Estos núcleos regulan la síntesis de las hormonas reproductivas producidas en la hipófisis y de allí viajan hacia los ovarios para estimularlos e iniciar la producción de hormonas ováricas, completándose así el eje hipotálamo - hipófisis – gónadas.

En el hipotálamo, la GnRH se sintetiza y se libera en la pituitaria. Allí, se estimula la liberación de las hormonas FSH y LH en el torrente sanguíneo, en las que distribuyen e influyen varias funciones en el cuerpo. Regulan procesos que se desarrollan en los ovarios, en los folículos y CL. Las estructuras ováricas producen los esteroides estrógeno (E₂), P₄ e Inhibina (Inh) que son liberadas en la sangre de ahí influencia la GnRH, FSH y LH en la hipófisis y el hipotálamo y estimula la oxitocina y diferentes enzimas que controlan la acción de PGF_{2a}. Junto con varios factores intra -ováricos inicia la regresión del CL (Stötzel *et al.*, 2016).

Hipotálamo

Forma parte de la base del cerebro y sus neuronas producen la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas o (GnRH). Se difunde a través de los capilares al sistema hipofisario y de allí a las células de la hipófisis anterior, en donde su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisarias FSH y LH entre otras (Rippe, 2009).

Hipófisis

Consta de una parte anterior y otra posterior. La hipófisis anterior o adenohipófisis produce varios tipos de hormonas de las cuales la FSH y la LH cumplen un papel relevante en el ciclo estral. La FSH es la encargada del proceso de esteroideogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular y la LH es la que interviene en el proceso de ovulación, formación y mantenimiento del CL. La hormona oxitocina, que también es producida en el hipotálamo, es almacenada en la adenohipófisis e intervendrá en los procesos de parto,



bajada de la leche, transporte de espermatozoides en el útero, así como en el proceso de luteólisis o ruptura del cuerpo lúteo en el ovario (Rippe, 2009).

Ovario

Los ovarios son glándulas que tienen básicamente dos funciones: una exocrina, que es la liberación de óvulos, y otra endocrina, que es la producción y secreción de hormonas. Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar los estrógenos o estradiol, la progesterona, la activina, la inhibina y prostaglandinas. Los estrógenos son hormonas esteroides producidas en el folículo ovárico y son los responsables de estimular la conducta sexual o de celo actuando sobre el sistema nervioso central del animal; además, tienen acción sobre otros órganos del aparato reproductor como son los cuernos uterinos, el útero, la vagina y la vulva (Rippe, 2009).

El folículo que alcance un mayor tamaño respecto a los demás, producirá en sus células de la granulosa, mayor concentración de inhibina, la cual tiene un efecto de inhibir la producción de FSH en el hipotálamo, dando como resultado la atresia de los folículos subordinados (Lenis, 2014). Además, tiene una acción parácrina positiva en la producción de andrógenos por acción de LH en las células teca (Palma, 2001).

La P_4 es una hormona de naturaleza esteroidea, llamada así porque su principal precursor es el colesterol. En el ovario, es sintetizada principalmente en las células de la teca interna mediante diferentes reacciones enzimáticas, para posteriormente ser transportada a las células de la granulosa, donde por medio de una enzima llamada aromatasa, es biotransformada a E_2 (Lenis *et al.*, 2014).

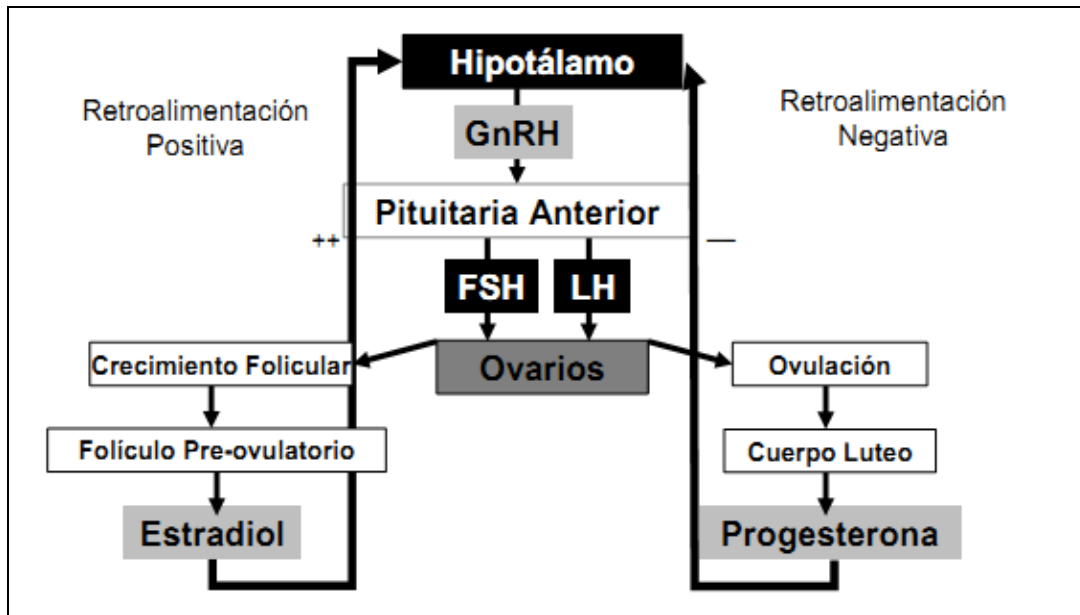


Figura 2. Esquema simplificado de las interacciones hormonales del eje Hipotálamo–Hipófisis-Ovarios.

Fuente: Rippe, (2009).

2.2 Estructuras ováricas y Ultrasonografía

El ovario bovino es una estructura fascinante que produce un folículo ovulatorio y CL a intervalos regulares. La interpretación correcta de la naturaleza de las estructuras ováricas observados por ecografía, es un tema complejo porque los folículos y CL están continuamente creciendo o en regresión. El reto para el médico es determinar en un número limitado de observaciones, si el proceso de desarrollo que lleva a la ovulación y la producción de un CL está procediendo normalmente para garantizar la fecundación y la preñez (DesCôteaux *et al.*, 2010).

Folículos

Los folículos primordiales inician su crecimiento y diferenciación en un proceso aparentemente continuo, pero irreversible que es conocido como foliculogénesis. Cuando un folículo primordial entra al grupo de crecimiento, este será conducido a uno de dos hechos: la degeneración por atresia (sufrida por el 99% o más) o la ovulación alcanzada por muy pocos. Cuando la capa de células de la granulosa se transforma de aplanadas a cuboidales y la teca interna comienza su diferenciación, al folículo en desarrollo se le denomina folículo primario (Fernández, 2003).



Posteriormente las células cúbicas se multiplican y aparecen de dos a más capas de la misma. En este momento una red de capilares invade la trama fibrosa ubicada entre las células que rodean al folículo y constituyen la capa vascular la teca interna, la cual aporta los nutrientes a la membrana granulosa y al ovocito. Estos folículos reciben el nombre de folículos secundarios. Posteriormente se forma un espacio entre las células de la granulosa, consecuencia de la secreción de un material de consistencia líquida por parte de dichas células. Estos espacios confluyen y pasan a formar la cavidad denominada antro folicular, el cual irá aumentando de tamaño hasta adquirir las características presentes en el folículo preovulatorio o de Graff (Palma, 2001).

La ultrasonografía permitió descubrimientos importantes para la reproducción animal, posibilitando una mayor comprensión de los eventos que ocurren durante el ciclo estral. Este mayor conocimiento fue aplicado en programas de sincronización de celos e inseminación artificial y en esquemas de mayor tecnología como la superovulación, transferencia de embriones y aspiración de folículos para fertilización *in vitro* y a la vez posibilita una examinación exhaustiva del tracto genital, la determinación temprana de la preñez, la evaluación de la viabilidad fetal y la determinación del sexo del animal en un estadio temprano de la gestación (Boyezuk, 2007).

La ovulación puede ser detectado por la desaparición del folículo pre ovulatorio, por el tamaño mucho menor de un folículo específico, o cuando una disminución en el número de folículos se observa de un día para otro en vacas súper ovuladas. El límite entre la pared folicular y el estroma circundante no es identificable, excepto en las imágenes de los grandes folículos preovulatorios, justo antes de la ovulación. Los folículos aparecen como estructuras anecoicas de diversos tamaños. La línea entre la pared folicular y el antro folicular es siempre suave y bien definida. (DesCôteaux *et al.*, 2010).

A partir de 6 a 8 días después del parto es posible observar los ovarios mediante ecografía transrectal, varios eventos se producen en todas las vacas después del parto, independientemente de la enfermedad uterina, medio ambiente o deficiencias en la dieta, sin embargo, el primer folículo dominante tiene tres posibles destinos: la ovulación acompaña con la formación del primer cuerpo lúteo post parto (retorno de actividad cíclica de ovario), la atresia con la



aparición de una o más ondas foliculares sin ovulación (anestro), y por último la formación de una quiste folicular ovárico (Sheldon *et al.*, 2009).

Cuerpo lúteo

El CL se origina en las células del folículo ovulatorio. La LH, es la principal hormona luteotrópica en el ganado, es responsable de estimular la luteinización de las células de la teca y de la granulosa del folículo preovulatorio en células lúteas. La función del CL es producir concentraciones suficientes de P₄ durante la fase lútea del ciclo estral para mantener la preñez (si un embrión está presente) y durante la preñez, para disminuir la secreción de gonadotropinas y prevenir el comportamiento del estro (Crowe *et al.*, 2013).

Durante su desarrollo el cuerpo lúteo va a presentar tres fases. La primera fase de crecimiento, la cual se acompaña del aumento de los niveles circulantes de progesterona. La segunda fase de meseta se registra la máxima producción de progesterona. Finalmente, si la hembra no queda gestante, el cuerpo lúteo experimenta regresión por acción de la luteolisina uterina, la prostaglandina F₂ alfa (PGF₂α), la cual se secreta entre los días 15 y 17 del ciclo estral (González *et al.*, 2008).

Dependiendo de la etapa de desarrollo del CL, puede presentar muchos cambios morfológicos; suele tener una corona que sobresale del ovario y sus paredes son más gruesas que las del folículo. Ecográficamente el cuerpo lúteo en la etapa de diestro puede parecer que está incrustado o que sobresale del ovario. En diestro el CL tiene una estructura ecogénica granular, que se intensifica durante la fase. La distorsión de la forma es más marcada en los ovarios que contienen un CL plenamente desarrollado (DesCôteaux *et al.*, 2010).

Tamayo, (2015), señala que el CL se muestra evidente en imágenes ecográficas alrededor de los 2 - 3 días posteriores a la ovulación. En investigaciones realizadas, entre el 30 y 80 % de los CL presentan cavidad central de 2 a 20 mm de diámetro con zona anecogénica oscura, probablemente conformada por el líquido folicular del folículo que originó al CL y rodeada por tejido luteal; en estos casos, los CL son fisiológicos. La concentración de progesterona y el porcentaje de gestación no muestran

diferencias significativas en vacas con CL con cavidad en comparación con los que tienen CL compacto.

La ultrasonografía ha sido usada para caracterizar el CL bovino durante el intervalo interovulatorio. Su ecotextura es diferente a la del estroma ovárico e identificable por ultrasonografía en la mayoría de las vaquillonas a partir del día de la ovulación (promedio: día 0,5 mm) y a partir del día 3 con bordes bien definidos. Normalmente se distingue a lo largo de casi todo el ciclo estral e inclusive hasta cerca de la siguiente ovulación (Boyezuk, 2007).

DesCôteaux *et al.*, (2010) aclara que la eliminación de las heces es necesaria cuando se requiere diagnosticar preñez temprana. Movimientos Longitudinales, transversales o en secciones oblicuas son aceptables, siempre y cuando se escanea el ovario entero. Una vez centrada la imagen en la pantalla la sonda se mueve lentamente de lado a lado para examinar totalmente.

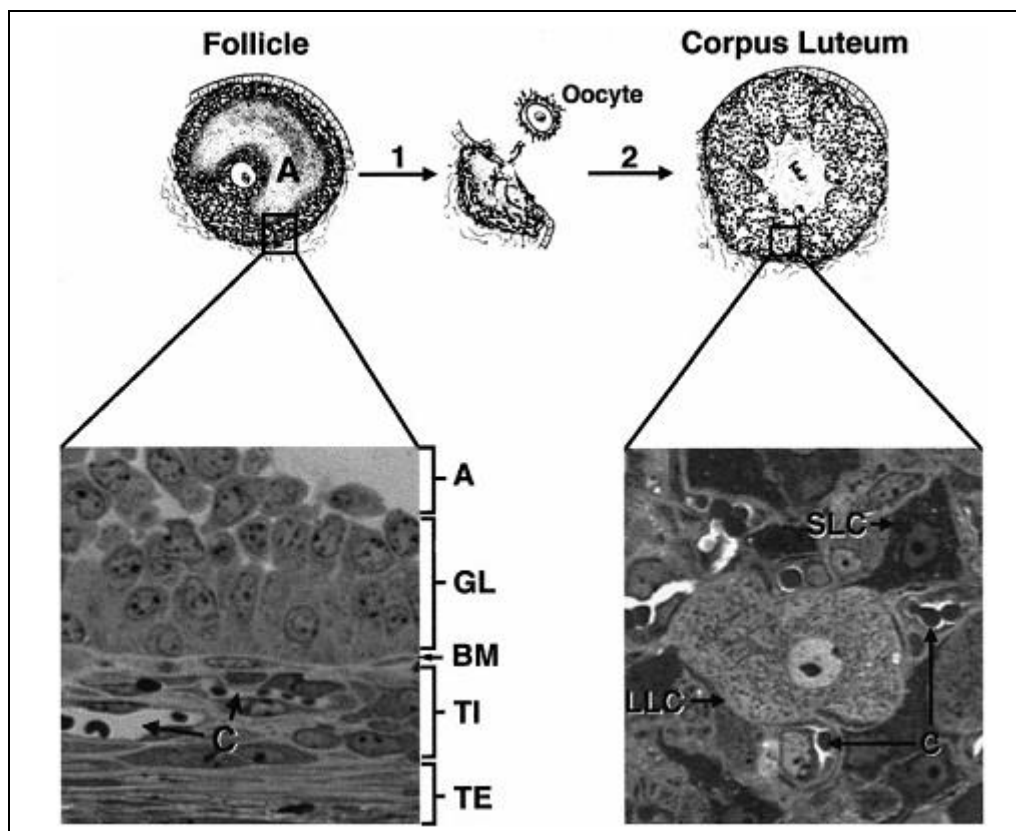


Figura 3. Desarrollo de un cuerpo lúteo de un folículo.

Fuente: Niswender *et al.*, (2000).

Antes de la ovulación, el folículo se organiza en capas distintas (ver la ampliación de la pared folicular). El antro (A) del folículo es un fluido lleno



lumen que está rodeado por la capa granulosa (GL). La capa granulosa y el ovocito se separan del resto del folículo por una membrana basal (BM). Las membranas basales son exteriores a las capas del folículo, teca interna (TI) y teca externa (TE).

Las células de la granulosa y teca interna son capaces de sintetizar y secretar hormonas esteroideas; Sin embargo, las células de la teca externa no son esteroideogénica. Los capilares (C) de la corona vascular que rodea los folículos están presentes en teca interna y externa, pero están ausentes en la capa granulosa porque la función de la membrana basal es como una barrera para la vascularización.

El Corpus luteum contiene una población heterogénea de células que incluye grandes células esteroideogénicas lúteas (LLC) y pequeñas células esteroideogénicas lúteas (SLC), que se proponen como células de la granulosa y la teca luteinizados, respectivamente (Niswender *et al.*, 2000).

2.3 Función del cuerpo lúteo.

El CL es un órgano transitorio del ovario, establecido por las células del folículo después de la ovulación (Okuda *et al.*, 2003), cuya función principal de CL es la producción de P₄ que regula diversas funciones reproductivas, esta hormona juega un papel clave en la regulación de la duración del ciclo estral y en la implantación del blastocisto (Niswender *et al.*, 2000).

Okuda *et al.*, (2003), señalan que, a pesar de las señales hormonales y neuronales son de vital importancia para el curso normal del ciclo estral en mamíferos, y que el CL tiene una extensa autonomía, concuerdan en que la principal función del cuerpo lúteo (CL) es la producción de progesterona que se requiere para el establecimiento y mantenimiento de la gestación

La función del CL varía de día a día después de la ovulación. Cuando las hembras no se quedan preñadas, la regresión del CL es esencial para reanudar la ciclicidad normal, ya que permite el desarrollo de un nuevo folículo ovulatorio (Rueda *et al.*, 1997).

En el ganado lechero, la función lútea inadecuada para apoyar el normal desarrollo del embrión, se ha establecido como un problema productivo y reproductivo importante. Repetidos estudios han demostrado que una



disminución de la concentración de progesterona durante la gestación temprana se traduce en falla de la preñez. Ahora hay evidencia considerable que es el tiempo en el que la concentración de progesterona comienza a aumentar, en lugar de la concentración final de P_4 alcanzada, que es el determinante crítico de los resultados de apareamiento (Wathes *et al.*, 2003).

2.4 Progesterona

Los progestágenos, en general, son clasificados según hayan sido sintetizados a partir del esqueleto de 21 carbonos de la progesterona o de la 19-nortestosterona de 19 carbonos (Brito, 2013).

Los progestágenos son secretados por el cuerpo amarillo ovárico, la placenta, la corteza suprarrenal y los testículos en menor cantidad. Los más importantes son la P_4 y el pregnanediol (Sumano *et al.*, 2007). Los progestágenos son compuestos que exhiben actividad progestacional que incluyen tanto la progesterona endógena y progestágenos sintéticos diseñados para imitar sus acciones (Zucchi *et al.*, 2014).

La P_4 es producida en el CL del ciclo o de la gestación, aunque en algunas especies, se produce también en la placenta y en las glándulas adrenales. Su acción es mantener la gestación en las hembras preñadas. En una vaca cíclica, su acción principal es regular la duración del ciclo gracias a su efecto inhibitorio del celo y de la ovulación. La P_4 natural tiene una vida media muy corta, apenas entre 3-4 minutos (González *et al.*, 2008).

Un nivel adecuado de P_4 lútea es crucial para determinar la duración fisiológica del ciclo estral y para lograr una gestación exitosa. El CL se regula no sólo por la gonadotropina hipofisaria, sino también por un número de citoquinas que se producen localmente. Un factor de necrosis tumoral (TNF) y sus receptores específicos (TNFR) están presentes en el CL de muchas especies. Este desempeña múltiples y probablemente importantes roles en función de CL a través del ciclo estral. TNF parece tener papeles luteotrópico y luteolíticos en el CL (Okuda *et al.*, 2003).

2.4.1 Síntesis y regulación de las concentraciones circulantes de P_4

Según Rekawiecki *et al.*, (2008), el CL autorregula la síntesis de P_4 que, a su vez, apoya su propia síntesis; y que afecta a la transcripción de genes que



codifican enzimas esteroideogénicas. Rekawiecki *et al.*, (2006), afirma que las altas concentraciones de P_4 en las células lúteas protegen contra la apoptosis, mientras que la interrupción o deterioro de la esteroideogénesis disminuye la capacidad de la producción de P_4 y de la muerte inducida por células lúteas.

Con el proceso de luteinización se inhibe la vía de aromatización y se comienza a producir P_4 desde niveles no detectables, hasta el día 2 postestro donde se registran niveles séricos mayores a 1ng/ml, y en el día 5 postestro se registran niveles mayores a 5ng/ml, considerando al cuerpo lúteo como funcional. La producción se mantiene en el tiempo, si un embrión logra el reconocimiento por parte de la madre o puede finalizar con el mecanismo de luteólisis si no hay preñez (Serrano *et al.*, 1997).

La exposición previa a los estrógenos, lo que induce la producción de receptores para la progesterona, se requiere para su actuar en el tracto reproductivo. En contraste, la progesterona regula la baja de los receptores de estradiol y de este modo bloquea muchas de las acciones de los estrógenos, que generalmente actúan como factores mitógenos. Un ejemplo de los efectos antiestrogénicos de progesterona, es en el oviducto donde los bloques de proteínas secretoras de progesterona inducen declinación de estradiol y el cese de actividad secretora del epitelio oviductal (Niswender *et al.*, 2000)

Las concentraciones de P_4 que llegan a los receptores dentro de cada célula en particular, son los principales factores determinantes de las acciones fisiológicas de P_4 en un animal. Por lo tanto, los factores que regulan P_4 circulante determinan principalmente la magnitud de las respuestas de P_4 en todo el cuerpo (Wiltbank *et al.*, 2012).

Wiltbank *et al.*, (2014) refieren que la circulación y concentración de P_4 está determinada por un equilibrio entre la producción de P_4 , principalmente por el cuerpo lúteo, y el metabolismo P_4 , principalmente en el hígado. El volumen de tejido luteal, el número y la función de células grandes lúteas son factores primarios que determinan la producción de P_4 . La tasa de metabolismo de P_4 se determina generalmente por el flujo sanguíneo del hígado y puede ser de importancia crítica en la determinación de las concentraciones circulantes de P_4 , sobre todo en el ganado lechero.



Por lo tanto, hay dos vías principales que regulan la P_4 circulante en vacas lecheras. En primer lugar, la alta producción de P_4 constitutiva por las grandes células luteales, es principalmente una función de la masa de tejido luteal o, en otras palabras, la masa de células lúteas grandes (Niswender *et al.*, 1994). En segundo lugar, el metabolismo P_4 elevada en vacas lecheras en producción, es principalmente una función de un hígado con capacidad enzimática importante para el metabolismo de P_4 y elevadas tasas de flujo sanguíneo hepático (Sangsritavong *et al.*, 2002).

Las concentraciones circulantes de P_4 durante principios de celo, pueden ser elevadas en el ganado por:

- La inducción de un cuerpo lúteo accesorio, después de la ovulación del folículo dominante de la primera ola, en respuesta a las inyecciones de GnRH, LH o hCG.
- Una mayor área de tejido luteal en respuesta al tratamiento hCG 2 o 5 días después del estro
- La administración de suplementos de P_4 exógeno (Pugliesi *et al.*, 2013).

2.4.2 Principales acciones de la Progesterona

Wiltbank *et al.*, (2012) recopilan información sobre el papel de la P_4 en la maduración de ovocitos de mamíferos, y dicen que:

- Una P_4 elevada durante el desarrollo del folículo ovulatorio se asocia con mejores tasas de preñez (Wiltbank *et al.*, 2012).
- El interruptor bien descrito de estradiol (E2) dominancia a P_4 dominio en el fluido folicular de folículos preovulatorios en el período entre el pico de LH y la ovulación (Dieleman *et al.*, 1983) coincidiendo con la reanudación de la meiosis y la maduración del ovocito;
- Los receptores de las células del cumulus para P_4 y secretar P_4 durante la maduración in vitro.
- La inhibición de la producción de P_4 in vitro se asocia con el desarrollo del embrión reducida (Aparicio *et al.*, 2011).

Los principales blancos de la progesterona son el aparato reproductor y el eje hipotálamo-hipófisis. En general, las acciones de la progesterona en el tracto reproductivo son para prepararlo para la implantación y el mantenimiento de la



preñez. La progesterona parece ejercer la mayoría de sus efectos mediante la regulación de la transcripción de los genes, directamente a través de receptores nucleares que actúan como factores de transcripción inducible de ligando. Tras la unión del ligando, estos receptores modulan la expresión de genes mediante la unión de elementos específicos, progesterona sensible en el ADN (Niswender et al, 2000).

Clemente *et al.*, (2009), indica que en muchos estudios informan una asociación positiva entre las concentraciones de progesterona y la probabilidad de supervivencia de los embriones. Los mecanismos propuestos por el cual la progesterona afecta la supervivencia embrionaria son indirectos, no actúa sobre el embrión mismo, pero si a través de los efectos sobre el endometrio uterino.

Se ha identificado que el aumento de las concentraciones de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral, altera el patrón de expresión de genes en el útero, que a su vez altera la composición de la histrotrofina uterina, es decir, disponibilidad de enzimas, proteínas portadoras, hormonas y nutrientes al embrión en desarrollo antes de la implantación. Por otra parte, se ha demostrado que las alteraciones en la progesterona sistémica durante la fase lútea temprana tienen efectos significativos en el alargamiento del conceptus (Clemente *et al.*, 2009).

Durante la fase luteal media, estas altas concentraciones sostenidas de progesterona circulantes, regulan el receptor de progesterona nuclear en el epitelio luminal del endometrio. Este es un interruptor crítico en lo que permite el aumento o disminución sincrónica de genes del endometrio que se requieren para iniciar la receptividad uterina, independientemente del estado de gestación de los animales. Si, por el día 16 del ciclo estral, el reconocimiento materno da la señal de gestación (interferón tau) no se ha detectado en cantidades suficientes, la regresión del CL se produce. La PGF es secretada por el útero en el bovino y es la principal hormona luteolítica en rumiantes (Crowe *et al.*, 2013).

Niswender *et al.*, (2000) aclara que la P₄ actúa sobre el endometrio, como un factor de diferenciación. Durante la fase folicular, la proliferación inducida por el estrógeno de las células del endometrio y elevadas concentraciones de



progesterona durante la fase lútea del ciclo reproductivo inhiben la mitosis en el endometrio. La progesterona también induce la diferenciación del estroma, estimula las secreciones glandulares, en asociación con la acumulación de vacuolas basales en el epitelio glandular, y cambia el patrón de las proteínas secretadas por las células endometriales. Estas proteínas uterinas proporcionan un ambiente que apoya el desarrollo embrionario temprano.

Gran parte de la pérdida de potencial de crías en el ganado se concentra en el período embrionario, los primeros 42 días pos monta. La secreción de la progesterona luteínica es esencial para la gestación exitosa, para la ovulación de un oocito sano, el mantenimiento de la quiescencia uterina, la alimentación y la supervivencia del embrión, feto, y el parto normal (Inskeep, 2002).

Durante las fases lútea anterior e inmediatamente después del estro en vacas no preñadas, la progesterona regula el establecimiento y el momento de los mecanismos de la regresión lútea. Por los mismos mecanismos, la progesterona prepara el útero para el reconocimiento de la preñez. Además, las concentraciones de progesterona regulan el desarrollo folicular por el control de retroalimentación negativa de la frecuencia de impulsos de la secreción de LH (Inskeep, 2004).

2.4.3 Relación de P₄ con el desarrollo temprano del embrión.

Parr *et al.*, (2014) afirman que uno de los principales factores determinantes de preñez por inseminación artificial es una concentración óptima de P₄ en la fase lútea temprana. Así también lo confirman Spencer *et al.*, en su artículo del 2004, diciendo que esta hormona desempeña un papel central en la gestación por inseminación artificial, ya que está implicada en una cascada de eventos bioquímicos, moleculares y morfológicos en el establecimiento y mantenimiento del embarazo.

Wiltbank *et al.*, (2014), confirman lo anterior diciendo que elevar los niveles de P₄ después de la IA puede afectar positivamente el desarrollo embrionario y también pueden elevar la fertilidad.

El desarrollo embrionario está influenciado por los niveles de P₄ producidos por el CL que controlan el ambiente del oviducto y del útero. La secreción de progesterona por parte del CL estimula la actividad secretora de las glándulas



endometriales que producen sustancias encargadas de mantener el embrión hasta que se formen los placentomas. Estas secreciones, denominadas vulgarmente "leche uterina", son absorbidas por el blastocisto y el saco vitelino y utilizadas como nutrientes durante la etapa previa a la formación del corioalantoides (Diskin *et al.*, 2008).

El conceptus requiere la acción de P₄ en el útero para regular la función endometrial, incluyendo las interacciones maternas embrionarias, la preñez, el reconocimiento y la receptividad uterina para la implantación. Una considerable proporción de pérdida embrionaria puede ser atribuible a una insuficiente concentración de P₄ y las posteriores consecuencias sobre la expresión génica y la secreción endometrial histotrofina en el lumen. En efecto bajas concentraciones de P₄ uterino-circulante, se han implicado como un factor causal en la baja las tasas de preñez observados en vacas lecheras de alto rendimiento (Diskin *et al.*, 2008).

La suplementación de P₄ después de la ovulación temprana aumenta la P₄ endógena mejorando el desarrollo y la producción del interferón tau del embrión (Mann *et al.*, 2006).

Concentraciones bajas de P₄ circulante entre los días 3-8 post-ovulación se asocia con embriones más pequeños en el día 16, y, en consecuencia, pueden resultar en la secreción inefectiva de interferón-tau para bloquear el proceso luteolítico y para mantener la gestación (Mann *et al.*, 2001).

El aumento de las concentraciones de P₄ dentro de la primera semana después de la concepción están asociados con expresión génica alterada en el endometrio (Forde *et al.*, 2009), lo que conduce al avance en el alargamiento conceptus y aumento de la secreción de interferón-tau (Pugliesi *et al.*, 2013).

Aunque hay pruebas inequívocas de que no es un requisito absoluto de P₄ en el mantenimiento de la preñez (Inskeep, 2004), los resultados han sido algo más ambiguos acerca de la relación entre los niveles circulantes de P₄ después de la IA y la fertilidad en las vacas lecheras. Varios estudios han reportado bajos niveles de P₄ en vacas no preñadas que, en las vacas preñadas, mientras que otros estudios no informaron relación entre las concentraciones de P₄ post IA y la fertilidad (Wiltbank *et al.*, 2012).



2.5 Prostaglandina F₂α. (PGF₂α)

Las prostaglandinas, se generan en todo el cuerpo y su vida media biológica es corta. Ingresa a través del sistema circulatorio por la arteria uterina media llega al útero y ovario, alcanzado su nivel plasmático máximo una hora después de su aplicación y se elimina por completo en seis horas. Luego de su administración se metaboliza en el hígado y pulmones, y su eliminación se realiza seis horas después a través de la orina y heces (Sumano *et al.*, 2007)

La PGF₂α es una hormona que desencadena la luteólisis en vacas, induciendo al final de la fase lútea (Wiltbank *et al.*, 2012). Sin embargo, a pesar de la presencia de altas concentraciones de similar afinidad para receptores de PGF₂α del CL temprano, la luteólisis con PGF₂α exógena no suele ocurrir hasta 5 a 6 días después del estro. Los mecanismos de acción de PGF₂α en el CL recién formados no se entienden completamente (Tsai *et al.*, 1998; Trevisol *et al.*, 2015).

Junior *et al.*, (2016) mencionan que la luteólisis ocurre en más del 90% de las vacas que reciben una dosis única (25mg) de PGF₂α después de 8 días del ciclo estral. Al contrario de que cuando se coloca la misma dosis en los primeros 4 días del ciclo que no induce luteólisis.

Asegurar la luteólisis completa y la disminución total en la circulación de P₄ en el momento de la inseminación artificial (IA) es esencial para optimizar los resultados en protocolos programados de inseminación artificial a tiempo fijo (Monteiro *et al.*, 2015).

Las PGF₂α está encargada de lisar el cuerpo lúteo, una vez que el ovocito no se fertilizó o ha llegado el momento del parto. Es considerada una parahormona porque actúa localmente en el lugar donde se produce, no se encuentra en ningún tejido específico y son degradadas con rapidez en la sangre. Cuando se produce la degeneración del CL, caen los niveles altos de progesterona y comienzan nuevamente ondas foliculares por el efecto de la FSH, es decir comienza un nuevo ciclo estral (Orellana *et al.*, 2007).

El mecanismo de regresión del cuerpo amarillo por efecto de la PGF₂α se debe a que disminuye el riesgo de dicho cuerpo, lo que interfiere en el aporte



hormonal a éste; además, la $\text{PGF}_{2\alpha}$ parece tener efecto lítico directo sobre las células luteínicas. En el aparato reproductor femenino estimula la actividad del miometrio e induce a relajación del cuello uterino (Cervix) (Sumano *et al.*, 2007).

2.5.1 Uso de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ en la sincronización del celo.

Todos los protocolos con prostaglandinas solamente son indicados para animales cíclicos, resultando en completo fracaso cuando lo aplicamos en animales con condiciones nutricionales deficitarias y en estado de aciclia. (Becaluba, 2006).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ ha sido el tratamiento comúnmente utilizado para la sincronización del celo en bovinos (Odde, 1990). Los primeros estudios mostraron que la madurez del cuerpo lúteo (CL) en el momento del tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ influenciaba la respuesta luteolítica y que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ no inducía la luteólisis de manera efectiva durante los primeros 5 a 6 d después del celo (Momont *et al.*, 1984).

Además, en los bovinos en los que la luteólisis no se producía, el comienzo del celo se distribuía por un periodo de 6 días (Macmillan y Henderson, 1984). Los estudios en los que se utiliza la ecografía en tiempo real revelaron que el intervalo desde el tratamiento con PGF hasta la manifestación del celo y la ovulación está determinado por la fase de desarrollo del folículo dominante en el momento del tratamiento (Kastelic *et al.*, 1991).

Las prostaglandinas o sus análogos sintéticos son usadas para novillas y vacas lactantes son producidas por el útero y causan una regresión del cuerpo lúteo hacia el final del ciclo natural del estro o celo. Como el cuerpo lúteo regresa, el nivel de progesterona baja, el folículo dominante completa su desarrollo, el celo se expresa, y la ovulación sucede. Cuando la Prostaglandina es inyectada a la vaca o novilla entre el día 5 y 17 del ciclo, el cuerpo lúteo va a regresar y la mayoría de animales presentan celo en 2 a 5 días (García, 2010).

Si se administra PGF cuando el folículo dominante de una onda se encuentra en la última fase de crecimiento o en la primera fase estática, la ovulación se producirá entre 3 y 4 d. Por otro lado, el tratamiento con PGF administrado cuando el folículo dominante se encuentra en la fase estática media a tardía



(es decir, cuando ya no es viable), producirá la ovulación del folículo dominante de la próxima onda folicular entre 5 y 7 días más tarde (Kastelic *et al.*, 1991).

Este intervalo refleja el tiempo necesario para que el folículo dominante de la onda nueva crezca y se desarrolle con un tamaño pre ovulatorio y afirma que la detección eficaz del celo es esencial para lograr altas tasas de preñez en programas de IA. La combinación de la tasa de celo baja y variable y la alta incidencia del anestro, común en animales en pastoreo, explica la amplia variabilidad en la tasa de celo y en las tasas de preñez después de los tratamientos con PGF.

La fertilidad del celo inducido al administrar un análogo sintético de PGF_{2α}. En vacas lecheras con cuerpo lúteo palpable es igual al logrado con un celo natural. (Cairolí, *et al.*, 2006).

Existen evidencias de que los bovinos inyectados con PGF_{2α} en diestro avanzado tienen una respuesta de celo mayor y tasa de concepción más que los animales inyectados durante el diestro temprano o medio (Diskin, Austin, & Rocha, 2000).

2.6 Diagnóstico de concepción temprana.

Hernández, (2010), indica que el diagnóstico precoz de la gestación es una práctica común en los hatos lecheros y tiene como propósito identificar lo más rápido posible las vacas vacías para reintegrarlas al programa de inseminación. El retorno al estro sería el primer recurso para identificar a las hembras no gestantes; sin embargo, debido a la baja eficiencia en la detección de calores, la mitad de las vacas vacías no son observadas en estro y llegan hasta el diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación en las especies mayores reviste gran importancia económica y es un elemento indispensable en el control de la reproducción. En la vaca el diagnóstico se puede realizar por métodos clínicos o por métodos de laboratorio. Los métodos clínicos comprenden, métodos de exploración externa e interna (Hincapie *et al.*, 2005).

Hafez *et al.*, (2002), manifiesta que una vaca con alta progesterona no necesariamente significa que esté preñada y una vaca con progesterona baja no estará preñada. La exactitud en la predicción de la gestación ha variado



entre el 75 y 90%. Por el contrario, la exactitud de la no preñez es de 100%. Por tanto, la prueba de progesterona es más confiable para diagnosticar vacas vacías que preñada, y permitir hacerlo de manera más temprana que por palpación rectal.

La ecografía reproductiva es una valiosa tecnología, ampliamente utilizada durante los últimos 25 años, para estudiar y evaluar las estructuras anatómicas y el estado funcional del aparato reproductivo de los bovinos y de otras especies de interés zootécnico. Su propiedad permite observar los órganos genitales en forma rápida sin ocasionar daño alguno (Pérez, 2005).

Su funcionamiento se basa en la emisión y recepción de ondas sonoras de alta frecuencia (no audibles al oído humano) desde un transductor de ultrasonido o sonda que se introduce en el recto a través de cuyas paredes se examinan los órganos reproductivos de la vaca. Como resultado de este mecanismo se forma una imagen dinámica en la pantalla del monitor del equipo que muestra una delgada y profunda área de la estructura o tejido que se está evaluando.

Esto ha facilitado el desarrollo de un método de diagnóstico y de interpretación clínica y funcional del estado reproductivo durante el ciclo estral, la gestación y el posparto. Contar con esta tecnología, constituye una valiosa herramienta para ayudar a solucionar los numerosos problemas relacionados con la reproducción de la vaca en nuestro medio (Perea, 2005)

El objetivo de la Usx en el diagnóstico precoz de la preñez, es reducir el número de días abiertos (DA), período importante en el intervalo entre parto, este período comprende las etapas de inicio de posparto, celo y su detección, servicio o inseminación a la preñez. De acuerdo a estudios realizados la mortalidad prenatal es la principal causa de fallas en la preñez; dentro de éstas, la mortalidad embrionaria es la más importante (González *et al.*, 2008).

De un punto de vista diagnóstico, la mayor ventaja de la Usx es un excelente resultado predictivo de la no preñez. La ventaja es que se puede volver a sincronizar el celo de las vacas, luego inseminarlas y es de esta manera que los días abiertos serán reducidos (Descôteaux *et al.*, 2006).

Exámenes reproductivos por vía transrectal se realizan, con el método de sujeción con que se cuenta en el establecimiento y dependerá también del tipo



de ecógrafo a utilizar. La maniobra de exploración es semejante a la utilizada en la palpación (Boyezuk, 2007).

El signo que más precozmente permite el diagnóstico de gestación en la vaca, mediante la palpación por la vía rectal, es la presencia o ausencia del cuerpo lúteo de gravidez. Durante el periodo comprendido entre 21-24 días posteriores a haber recibido un servicio, el cuerpo lúteo habrá sufrido regresión si no ha habido gestación. La ausencia de cuerpo lúteo en esos momentos, nos indica un 100 % de efectividad que la vaca no está gestante, mientras que su presencia nos permite diagnosticar la gestación (Hincapie *et al*, 2005).

Goddard, (2000) planteó parámetros para determinar gestación y fueron:

- Luz anecogénica en el tercio anterior del cuerno uterino, o presencia del embrión como una línea dentro de esta luz.

Los parámetros para determinar una vaca no gestante fueron:

- Presencia de corte transversal hipo o hiperecoico, delimitado por bandas oscuras en forma de anillo y en el centro una línea leve y muy delgada dando la apariencia de una estrella.
- Presencia de una capa concéntrica hipoecogénica alrededor de la luz uterina anecoica, la cual variará en dependencia de la etapa del ciclo estral y la edad de la vaca.

A partir de los 25 – 28 días post-inseminación es posible detectar el saco gestacional con precisión (95%) y con mínimo riesgo de pérdida, debido a la escasa o nula manipulación del aparato genital.

Pudiendo detectar la gestación aún en forma más precoz (20 días post-inseminación) esta crece de sentido práctico ya que entre los 20 y 56 días post-inseminación el porcentaje de pérdida de gestación en el ganado lechero oscila entre el 6 y 14 %. Por lo tanto, de rutina todas las hembras diagnosticadas preñadas por ultrasonografía alrededor de los 25 días post-inseminación deben ser exploradas nuevamente a los 60 días momento en el cual disminuye la tasa de pérdida (Boyezuk, 2007).



CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales.

3.1.1 Materiales biológicos.

- 8 vaconas Brown Swiss
- 10 vaconas criollas
- 10 vaconas Holstein Friesian
- Pajuelas con semen de bovino

3.1.2 Materiales químicos.

- D – clorpostenol (Ciclase DL®)
- Progesterona (Progesterona Mad-4® Río de Janeiro)
- Gel lubricante
- Material general de asepsia

3.1.3 Materiales físicos.

- Material de sujeción
- Tubos Ependorf
- Tubos vacutainer con Heparina de litio
- Agujas vacutainer 21 G x 38 mm
- Pipetas 200µl
- Jeringas 5 ml
- Centrifuga
- Ecógrafo ALOKA Prosound 2
- Sonda lineal de 7,5 MHz
- Pistola de inseminación artificial
- Termo para descongelar pajuelas
- Tanque de nitrógeno líquido
- Cooler
- Papel secante
- Guantes de manejo
- Guantes ginecológicos
- Registros de observación



3.2. Método

3.2.1 Localización.

La investigación se realizó en la granja experimental Irquis, de la Universidad de Cuenca, ubicada en el km 23 de la vía Cuenca – Girón, en la parroquia Victoria del Portete, a 2663 msnm.; tiene aproximadamente 507,8 ha., y un clima templado frío con una temperatura promedio de 8°C, considerada como altiplano ecuatoriano.

Las muestras de P₄ plasmática fueron realizadas en el laboratorio CENBIOCLI S.A. ubicado en Francisco Moscoso y Av. 10 de agosto, edificio Torres de Yanuncay, en la ciudad de Cuenca.

3.2.2 Características da la unidad de análisis

Se seleccionó 30 vaconas al azar: 10 Brown Swiss, 10 Holstein Friesian y 10 Biotipo criollas, con una edad entre 30 y 40 meses, con una CC entre 2,5 y 3 según Edmonson *et al.*, (1988). Fueron distribuidas en tres grupos de acuerdo a los tratamientos planteados, los dos grupos recibieron dos dosis diferentes de P₄ exógena de larga acción al día 2 pos-inseminación luego de una sincronización de celo con PGF₂ α , considerando que un grupo actuó como testigo. Se evaluó P₄ plasmática en diferentes días de medición post – inseminación artificial y la morfología de CL.

Fueron excluidas 2 vaconas Brown Swiss que no tuvieron respuesta al protocolo de sincronización y por tal motivo no entraron en celo, así como animales enfermos, con infecciones del tracto reproductivo y de baja CC.

3.2.3 Metodología

3.2.3.1 Selección de grupos.

Las vaconas con las características descritas anteriormente se dividió en tres grupos aleatoriamente (Anexo 1), los que estuvieron formados por:

- G1 (control): 9 vaconas (3 Brwon Swiss, 3 Criolla y 3 Holstein Friesian).
- G2 (75 mg de P₄): 10 vaconas (3 Brown Swiss, 3 Criolla y 4 Holstein Friesian).
- G3 (100 mg de P₄): 9 vaconas (2 Brown Swiss, 4 Criolla y 3 Holstein Friesian).



3.2.3.2. Sincronización de celo e IA

Para empezar este trabajo se aplicó a 30 vaconas D – clorpostenol (Ciclase DL[®] cada ml de producto contiene Cloprostenol base 0,250 µg, Clorocresol 1mg, ácido cítrico 9.55mg hidróxido de sodio 5.3mg), 2ml vía intramuscular profunda, con la primera dosis de esta hormona el 50 % de los animales presento celo, entre los 2 y 3 días post inyección y se procedió a realizar IA 12 hs después del celo visto; al resto de vaconas se les repitió una segunda dosis de D – clorpostenol a intervalo de 14 días reaccionando en total 28 vaconas a este protocolo y se procediendo a la IA, como se explicó en líneas anteriores.

Fue considerando como día cero, el día en que se realizó la IA, la cual la practicó la misma persona a todos los animales, para minimizar el margen de error.

3.2.3.3 Aplicación de P4 exógena

Para todos los procedimientos realizados en este estudio, las vaconas fueron ingresadas a la manga de la granja, y manejados adecuadamente, para asegurar el bienestar animal y la seguridad de los operarios.

La Progesterona (Progesterona Mad-4[®], Río de Janeiro) que se utilizó es una hormona natural de larga acción, con una concentración de 25 mg por mililitro. Alcanza su nivel plasmático máximo a las 4 horas de inoculada, manteniendo niveles superiores a 1 ng/mL por cinco días, decayendo de una manera similar al descenso fisiológico de progesterona al final de un ciclo estral normal.

El día 2 post-IA se administró una baja dosis de P4 vía subcutánea (SC), de acuerdo al tratamiento al que corresponda cada vacona: Un primer grupo (n1=9) actuó como testigo (G1) y no fue administrado P4; un segundo grupo G2 (n2=10) recibió 75 mg de P4 exógena de larga acción; y finalmente un tercer grupo G3 (n3=9) recibió 100 mg de P4 exógena de larga acción.

Este proceso fue realizado por un operario diferente al que tomó la muestra de sangre con la finalidad de evitar contaminación de la muestra con el producto utilizado.

En el día 2 se realizó las siguientes actividades y en el orden descrito a continuación:



- Aplicación de P4 a las vaconas de acuerdo al tratamiento que correspondan.
- Toma de muestra de sangre por el método descrito para análisis de P4.
- Usx de los ovarios para medición del CL.

3.2.3.3 Análisis de P4 sérica

El primer procedimiento fue tomar la muestra de sangre se obtuvo por venopunción yugular, bajo el sistema Vacutainer, empezando a las 8 am y terminando este procedimiento en alrededor de una hora y en los días 0, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 y 16, considerando día cero el día de la IA. Las muestras fueron centrifugadas en el laboratorio de Biotecnologías de la Reproducción de la Granja Irquis, a una revolución de 1500 g durante 10 minutos separando el plasma, las muestras fueron conservadas en tubos Ependorf y fueron congeladas hasta su análisis.

Posteriormente, las muestras fueron enviadas al laboratorio CENBIOCLI S.A en la ciudad de Cuenca, y se determinó los niveles de P4 plasmático (ng/ml) mediante ensayo de electroquimioluminiscencia (Anexo 1, 2 y 3).

3.2.3.4 Análisis morfológico de CL

Se realizó seguimiento por ecografía al ovario que presentó cuerpo lúteo los días 2, 3, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16. Este procedimiento se realizó por ultrasonografía transrectal (Usx) usando el ecógrafo ALOKA Prosound 2 conectado a una sonda lineal de 7,5 Mz. Se escanearon los ovarios, para evaluar dentro de la morfología del CL, la presencia y el tamaño en mm (promedio de los dos diámetros mayores), en los días señalados, registrando el dato en las hojas de campo (Anexo 9, 10 y 11). El barrido de los ovarios se realizó de acuerdo a lo detallado por DesCôteaux *et al.*, 2010.

3.2.3.5 Evaluación del porcentaje de concepción temprana

Se determinó el porcentaje de concepción temprana el día 28 por Usx, bajo el mismo cuidado descrito anteriormente. El examen ginecológico se realizó con cuidado, avanzando cranealmente a lo largo del piso rectal cubriendo el tracto reproductivo. Se escanearon los dos cuernos uterinos, siendo el criterio para afirmar preñez: la presencia del embrión dentro de la vesícula gestacional y esta imagen fue guardada en el ecógrafo (Anexo 17).



3.2.4 Variables analizadas

3.2.4.1 Variables Independientes.

- Dosis P₄ 0mg, 75mg y 100mg.

3.2.4.2 Variables dependientes.

- Nivel de P₄ plasmática.
- Morfología del CL
- Porcentaje de concepción temprana.

3.2.5 Diseño experimental y pruebas estadísticas

Para esta investigación se utilizó un Diseño Bloques al Azar (DBA) con tres grupos de 9, 10 y 9 animales para el grupo 1, 2 y 3, respectivamente; con un total de 28 vaconas. Se consideró como un criterio de inclusión para la formación de bloques la edad, CC, y estado sanitario de las vaconas.

Los datos fueron sistematizados en Excel y analizados en el software SPSS versión 22.0.

Se consideró como variables paramétricas tipo continuas al nivel de P⁴ sérico y la morfología del CL. Con los valores promedios de cada grupo, los errores estándar e intervalos de confianza al 95%, se aplicó las pruebas de normalidad de datos y homogeneidad de las varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente ($P < 0,05$). Posteriormente se comprobaron diferencias significativas entre los tres grupos con un Análisis de varianza (ANOVA) y en caso de existirlo se midió el grado de significancia con Tukey 5%.

Se consideró como variable No paramétrica tipo Nominal a la Tasa de concepción temprana mediante una tabla de contingencia y para comprobar significancia se usó el estadístico de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).





CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Nivel de P4 plasmática (ng/ml)

Los datos sistematizados cumplieron los supuestos de normalidad (Anexo 3) y homogeneidad de las varianzas (Anexo 5), según las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente, excepto en el día 2 de medición.

Al analizar el nivel de P₄ plasmática durante los 5 primeros días de medición y mediante un ANOVA (Anexo 6) para los días 0, 3, 4 y 5; y con la prueba de Kruskal Wallis (Anexo 4) para el día 2 (por no cumplir normalidad), se comprobó la existencia de diferencias estadísticas ($P < 0,05$), en los días 3, 4 y 5, atribuyéndose eficacia al grupo 3; sin embargo, al comparar los grupos 1 y 2 los niveles de P₄ fueron similares ($P > 0,05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Estadísticos descriptivos del nivel de P₄ plasmática (ng/ml), en los tres grupos de estudio durante las primeras 5 mediciones.

Días de medición	Grupos	$\bar{X} \pm EE$ (ng/ml)	Intervalo de confianza 95%	
			Límite Inferior (ng/ml)	Límite superior (ng/ml)
Día 0	G1	0,28±0,041	0,184	0,376
	G2	0,24±0,055	0,114	0,360
	G3	0,38±0,063	0,232	0,522
Día 2	G1	0,32±0,056	0,193	0,452
	G2	0,55±0,161	0,188	0,914
	G3	0,72±0,163	0,347	1,100
Día 3	G1	0,46±0,041^b	0,367	0,553
	G2	0,93±0,182^b	0,514	1,338
	G3	2,24±0,340^a	1,454	3,021
Día 4	G1	1,06±0,238^b	0,515	1,614
	G2	1,27±0,220^b	0,769	1,765
	G3	2,78±0,470^a	1,692	3,861
Día 5	G1	1,43±0,261^b	0,831	2,033
	G2	1,87±0,300^b	1,192	2,550
	G3	3,87±0,615^a	2,450	5,286

\bar{X} = Media; EE= Error Estándar de la media; G1=grupo control; G2= 75 mg de P₄; G3= 100 mg de P₄. Letras distintas en cada columna y cada día muestran significación, según Tukey ($P < 0,05$)



Posteriormente, se analizó los días del 6 al 16 de medición, y mediante un ANOVA (Anexo 6) se comprobó que no existió diferencias estadísticas ($P>0,05$) en ningún día de medición entre los grupos (Tabla 2).

Tabla 2. Estadísticos descriptivos del nivel de P4 plasmática (ng/ml), en los tres grupos de estudio desde el día 6 al 16 de medición.

Días de medición	Grupos	$\bar{X} \pm EE$ (ng/ml)	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior (ng/ml)	Límite Superior (ng/ml)
Día 6	G1	3,25±0,433	2,255	4,252
	G2	3,27±0,599	1,917	4,625
	G3	4,13±0,780	2,332	5,931
Día 8	G1	4,26±0,406	3,328	5,201
	G2	4,54±0,673	3,019	6,066
	G3	5,85±0,913	3,742	7,951
Día 10	G1	5,69±0,650	4,192	7,190
	G2	5,63±0,678	4,092	7,160
	G3	6,96±0,674	5,406	8,514
Día 12	G1	6,80±0,485	5,683	7,922
	G2	6,39±0,933	4,278	8,500
	G3	7,61±0,667	6,073	9,149
Día 14	G1	6,88±0,704	5,259	8,504
	G2	6,81±0,776	5,056	8,566
	G3	9,00±0,969	6,770	11,239
Día 16	G1	6,97±0,738	5,270	8,673
	G2	7,69±0,759	5,888	9,486
	G3	9,76±1,138	7,133	12,382

\bar{X} = Media; EE= Error Estándar de la media; G1=grupo control; G2= 75 mg de P4; G3= 100 mg de P4. Letras distintas en cada fila y cada día muestran significación, según Tukey ($P<0,05$)

Esta apreciación se muestra en el Gráfico 1, los valores promedios de cada grupo durante las 11 mediciones, y podemos corroborar que a pesar de que cada grupo los niveles de P4 plasmático van incrementando conforme avanza los días de medición, solamente se muestra diferencias significativas en los días 3, 4 y 5 de medición, siendo el G3 (100 mg de P4) el más eficiente durante el estudio.

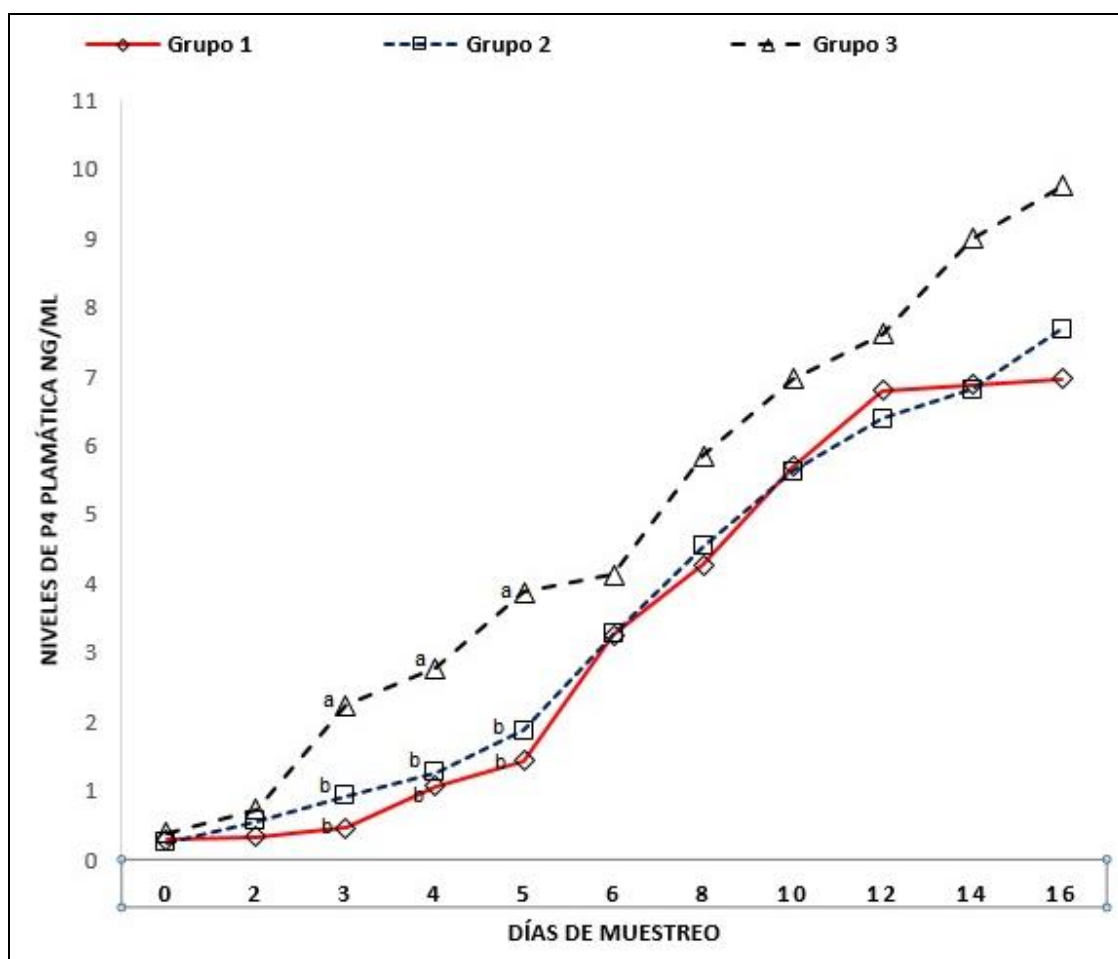


Gráfico 1. Niveles de P4 plasmática (ng/ml), en los tres grupos, durante los días de medición (Letras diferentes en cada día de medición entre los grupos muestran significación, según Tukey, $P < 0,05$).

4.2 Morfología del CL

Los datos referentes al tamaño del CL (mm), fueron sometidos al Test de Normalidad y homogeneidad, con las pruebas de Shapiro Wilk (Anexo 9) y Levene (Anexo 10), respectivamente, cumpliendo con estos supuestos en todas sus mediciones.

Al analizar el CL, se obtuvieron los valores promedios de cada grupo y su variabilidad, y mediante un ANOVA (Anexo 11), se comprobó la existencia de diferencias estadísticas ($P < 0,05$) únicamente en el día 2 de medición, con valores más altos para G3 (100 mg de P4) (Tabla 3).

Tabla 3. Estadísticos descriptivos del tamaño del CL (mm) en los tres tratamientos y 11 días de medición.

Días de medición	Grupos	$\bar{X} \pm EE$ (mm)	Intervalo de confianza 95%	
			Límite Inferior (mm)	Límite Superior (mm)
Día 2	G1	12,5±0,18^b	12,1	12,9
	G2	14,4±0,82^b	12,6	16,2
	G3	15,6±0,33^a	14,8	16,3
Día 3	G1	15,5±1,10	13,0	18,0
	G2	16,0±0,50	14,9	17,2
	G3	17,0±0,70	15,3	18,6
Día 6	G1	18,8±0,88	16,8	20,9
	G2	20,9±0,54	19,7	22,1
	G3	20,2±0,62	18,7	21,7
Día 8	G1	22,7±0,65	21,2	24,2
	G2	22,6±0,56	21,3	23,9
	G3	22,3±0,47	21,2	23,4
Día 10	G1	23,4±0,53	22,2	24,7
	G2	24,2±0,83	22,3	26,0
	G3	22,7±0,44	21,6	23,7
Día 11	G1	23,9±0,54	22,6	25,1
	G2	25,0±0,81	23,1	26,8
	G3	23,2±0,35	22,4	24,1
Día 12	G1	25,0±0,67	23,5	26,6
	G2	25,8±0,73	24,1	27,4
	G3	23,9±0,42	22,9	24,9
Día 13	G1	25,2±0,56	23,9	26,5
	G2	26,1±0,76	24,4	27,8
	G3	24,3±0,61	22,8	25,7
Día 14	G1	25,5±0,47	24,4	26,6
	G2	26,5±0,74	24,9	28,2
	G3	25,1±0,62	23,7	26,6
Día 15	G1	25,0±0,66	23,5	26,5
	G2	26,6±0,84	24,7	28,5
	G3	25,5±0,60	24,0	26,9
Día 16	G1	24,9±0,81	23,0	26,8
	G2	26,6±1,06	24,2	29,0
	G3	25,9±0,99	23,6	28,3

\bar{X} = Media, EE= Error Estándar, G1=grupo control; G2= 75 mg de P4; G3= 100 mg de P4
Letras distintas en cada fila y cada día muestran significación, según Tukey (P<0,05)

Esta apreciación se muestra en el Gráfico 2, expresando los valores promedios de cada grupo durante los 11 días de medición, y podemos corroborar que a pesar de que cada grupo el tamaño del CL van incrementando conforme avanza los días de medición, solamente se muestra diferencias significativas en el inicio de medición (día 2), atribuyendo un mayor tamaño de CL al G3, lo que significa que al momento de la inyección de P4 en los tres grupos debió haber existido una dominancia folicular y luteal diferente.

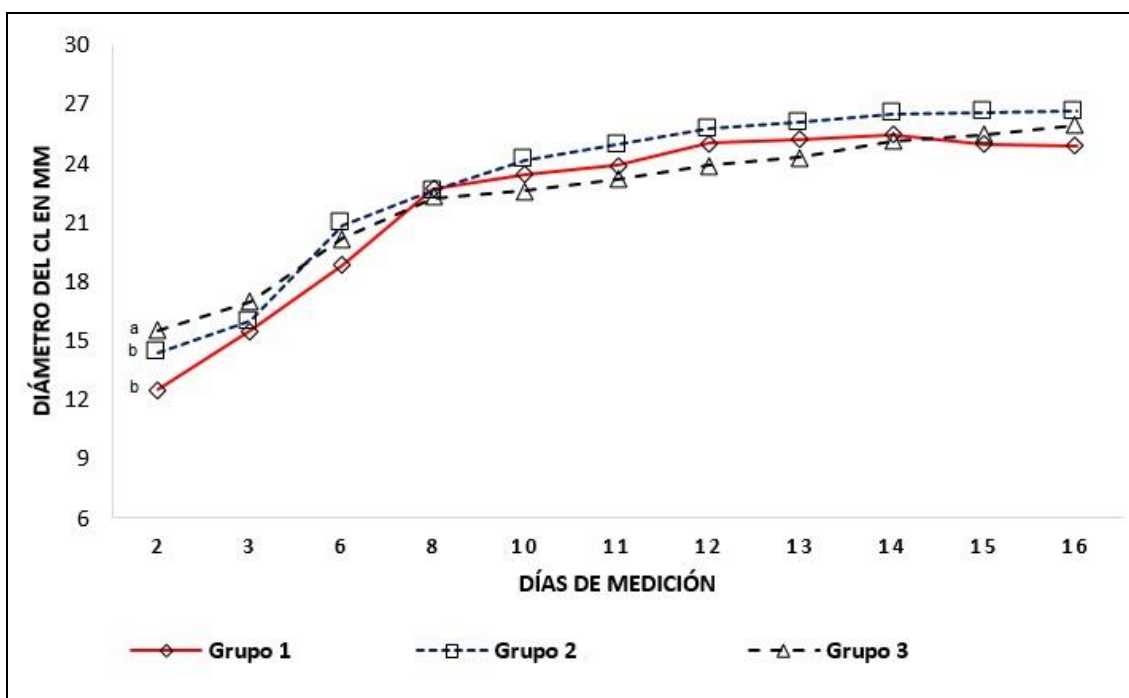


Gráfico 2. Tamaño de CL (mm), en los tres grupos, durante los días de medición (Letras diferentes en cada día de medición entre los grupos muestran significación, según Tukey, $P < 0,05$).

4.3 Porcentaje de concepción temprana (%)

Al analizar la tasa de concepción temprana, se realizó una tabla de contingencia que muestra los porcentajes de diagnóstico de preñez de los tres grupos, de tal manera que se muestra valores porcentuales más altos en G3; sin embargo, al comparar estos porcentajes mediante la prueba Kruskal Wallis (Anexo 13) se comprobó que no existió diferencias estadísticas ($P > 0,05$), mostrándose dicha tasa de concepción de manera similar en los tres grupos en estudio.

Tabla 4. Porcentaje de concepción temprana en los tres grupos en estudio.

Grupos	Tasa de concepción temprana	
	Positivo (%)	Negativo (%)
G1	66,70 ^a	33,30
G2	70,00 ^a	30,00
G3	88,90 ^a	11,10

G1=grupo control; G2= 75 mg de P4; G3= 100 mg de P4. Letras distintas en cada fila y cada día muestran significación, según Kruskal Wallis ($P < 0,05$)

En el gráfico 3, se aprecia estos valores porcentuales de cada grupo, con valores más altos en el siguiente orden G3, G2 y G1, sin embargo, en el análisis estadístico no existen diferencias, lo que significa que la tasa de concepción temprana en los tres grupos se comportó de manera similar.

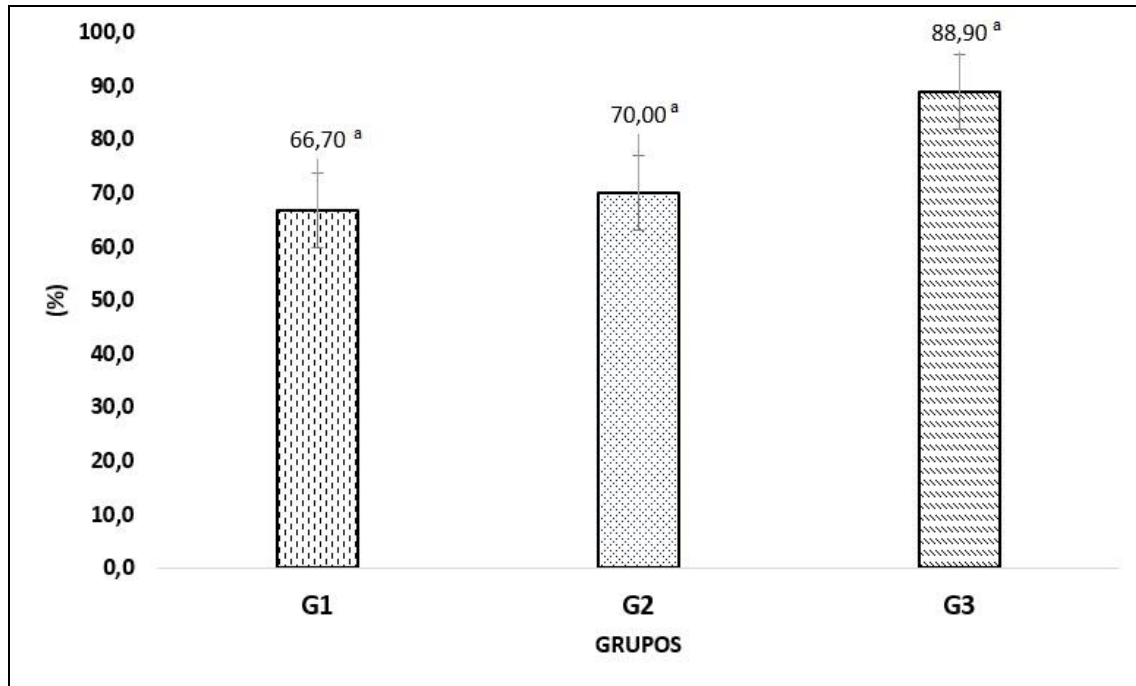


Gráfico 3. Porcentaje de concepción temprana de los tres grupos en estudio (Letras diferentes en cada grupo muestran significación, según Kruskal Wallis, $P < 0,05$).



CAPITULO V: DISCUSIÓN

5.1 Nivel de P₄ plasmática (ng/ml).

Al administrar P₄ de larga acción a una dosis de 100mg en vaconas, se logró aumentar la P₄ plasmática circulante durante 3 días consecutivos (días 3, 4 y 5), mostrando diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) al compararlas con los resultados de G₂ y G₃, atribuyendo este resultado a que la dosis de G₃ tiene mejor biodisponibilidad para elevar y mantener los niveles de P₄ plasmática en la fase lútea temprana.

Aunque el producto comercial indica que las concentraciones exógenas de P₄ permanecen durante 5 días, en este estudio y con las concentraciones suministradas, los niveles se mantuvieron durante 3 días, de acuerdo a los datos de la Tabla 1. Resultados similares a los de esta investigación obtiene Lonergan (2011), en su estudio realizado, indicando que la administración de P₄ exógena en los días 1, 2, 3 y 4 aumenta la concentración periférica de progesterona en plasma los días 2 al 5 en comparación con el grupo de control. Estos resultados sugieren que el aumento de las concentraciones de progesterona durante los primeros 5 días de preñez estimulan cambios en las secreciones uterinas que directa o indirectamente estimulan el crecimiento y el desarrollo del conceptus.

Garrett *et al*, (1988), en su estudio sobre la “Evidencia de la regulación materna del crecimiento y el desarrollo del embrión temprano en el ganado vacuno”, administraron 100 mg de progesterona en los días 1, 2, 3, y 4 de la preñez que resultó en un aumento de las concentraciones plasmáticas de progesterona periféricas en los días 2 a 5, resultados que coinciden con los nuestros.

Así mismo Pugliesi *et al*, (2014), realizan una investigación en donde las vacas fueron tratadas con 150 y 300 mg de P₄ de acción prolongada en el día 2 o 3 después de la ovulación (6-7 vacas / grupo). Las concentraciones plasmáticas de P₄ fueron mayores ($P < 0,05$) desde el día 2.5 -5.5 en los grupos. En conclusión, se mostró por primera vez que la suplementación de P₄ de acción prolongada en el día 2 ó 3 después de la ovulación aumenta las



concentraciones de P₄ durante ≥ 3 días. Efecto encontrado también en el presente estudio.

El aumento de las concentraciones de P₄ dentro de la primera semana después de la concepción están asociados con la expresión génica alterada en el endometrio, que conduce al avance en el alargamiento conceptus (Carter *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2009; O'Hara *et al.*, 2014) y el aumento de la secreción de interferón-tau (Mann y Lamming, 1999; O'Hara *et al.*, 2014).

5.2 Morfología del Cuerpo Lúteo.

Al analizar los datos obtenidos de la medición del CL, se encontró en el día 2 diferencias significativas ($P < 0,05$) de G3 con respecto a G1 y G2, día que corresponde con el día que se administró P4 de larga acción, lo que presume el diferente estado fisiológico de los animales. En los días posteriores de medición no se encontró diferencias significativas, lo que indica que la dosis de 75 mg y 100mg de G2 y G3 respectivamente no influye sobre la morfología del CL. Sin embargo, se muestra un desarrollo proporcional y progresivo del crecimiento del CL desde el día 2 al 16.

Luego de la administración de P4, los niveles de la hormona se hacen mayores en las vacas que recibieron mayor concentración de P4 (G2 y G3) y menores en las que recibieron menos o nada (G1). Este fenómeno se observa durante el periodo en que la hormona exógena estuvo circulando, y una vez que sus niveles se reducen hasta desaparecer (día 3 de administración), solamente la P4 producida por el CL se refleja en las concentraciones que se midieron y que se muestran en la Tabla 3, con un comportamiento similar en los tres grupos reflejando que los hallazgos del estudio parecen tener un sentido fisiológico.

También pudiese ser que debido a la presencia de receptores de P4 en el CL, la P4 exógena pudiera reforzar la capacidad esteroidogénica de las células luteínicas, y por lo tanto pudiera aumentar la P4 plasmática.

En estudio realizado por Pugliesi *et al.*, (2014), área de CL y el flujo sanguíneo durante los días 2 al 8,5 no difiere ($P > 0,05$) entre los grupos, lo que sugiere que el tratamiento con P4 no tiene efecto sobre el desarrollo del cuerpo lúteo.



En conclusión, de su trabajo, se mostró por vez primera que la suplementación de P4 de acción prolongada en el día 2 ó 3 después de la ovulación no tiene efecto sobre el desarrollo del cuerpo lúteo. Siendo estos resultados semejantes a los obtenidos en este estudio.

Por su parte O'Hara *et al* (2014), ponen de manifiesto que los efectos de la suplementación con P4 son paradójicas al administrar en el período de metaestro temprano en cuanto a su efecto positivo en el desarrollo embrión y sus efectos negativos sobre la vida útil del CL.

5.3 Porcentaje de concepción temprana

De los datos obtenidos en el trabajo realizado en 28 unidades experimentales, se comparó entre grupos y los resultados fueron no significativos, obteniéndose para G1 = 66.7%, G2 = 77% y G3 = 88,9%, sin embargo, numéricamente los valores obtenidos son muy altos y con una diferencia del 22% entre G1 y G3, pudiendo ser muy importante económicamente para una finca comercial. Puede ser probable que el factor raza puede haber influido en este trabajo, pero al no ser considerado dentro del diseño estadístico pudiese haber influido en la falta de significancia ante tal diferencia numérica.

Además, los altos porcentajes de preñez temprana pueden atribuirse a una correcta observación de celos, una buena técnica al momento de realizar IA y/o la calidad de las pajuelas utilizadas. Considerando también que el número de unidades experimentales es reducido no se debería considerar estos resultados como concluyentes.

Los resultados obtenidos en este estudio se fundamentan a partir de que la P4 insuficiente en los primeros días de la concepción puede conllevar a la pérdida embrionaria y la aplicación de P4 de larga acción con dosis reducidas compensaría esta insuficiencia, disminuyendo la pérdida de preñez, como plantean Arndt *et al.*, (2009), quienes encontraron rasgos de pérdidas embrionarias del 20 al 30 % durante los primeros días de gestación en el ganado.



Los resultados de incremento en el porcentaje de concepción entre G3 y G1 (22,2%) son similares con los obtenidos por Mann y Lamming, quienes demostraron que las tasas de preñez aumentan en las vacas lecheras al recibir dispositivos intravaginales liberadores de progesterona o progesterona inyectable después de la inseminación.

De igual forma con relación al porcentaje de preñez, Flores *et al.*, (2007) encontraron que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos con implante y sin implante, estando dicho incremento a favor del tratamiento con implante entre 24 y 49% cuyo promedio 36,3% se muestra semejante al obtenido en la presente investigación 22,2%.

Así mismo, Larson *et al.*, (2007) demostraron que el tratamiento CIDR aumentó las concentraciones circulantes de progesterona en los animales tratados frente a los animales de control, encontrando al día 4, 0.7ng/ml ($p < 0,05$) y mayor tasa de gestación del 35% (22/63) al 48% (32/67) ($p = 0,068$).

En el estudio realizado por la autora Mónica Brito, (2013), se obtienen también resultados muy parecidos a los nuestros en cuanto a la tasa de preñez. En el que considerando que las vacas del experimento fueron tratadas en iguales condiciones de manejo sanitario y nutricional y una vez realizado el correspondiente análisis se encontró evidencia estadística suficiente para afirmar que existe un porcentaje de preñez de 83,33% en vacas tratadas con progesterona post-inseminación, con respecto a las que no fueron tratadas con este producto.



CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

De acuerdo a los datos obtenidos en esta investigación, se puede concluir que, la administración exógena de bajas dosis de P₄ de larga acción vía subcutánea en vaconas del altiplano ecuatoriano dos días post IA no afecta la funcionalidad y morfología del CL y estadísticamente no mejora el porcentaje de concepción temprana. Sin embargo, numéricamente los valores obtenidos son muy altos y con una diferencia del 22% entre G1 y G3, pudiendo ser muy importante económicamente para una finca comercial.

La aplicación de una inyección de P₄ (100 mg) de acción prolongada (SC), dos días después de la IA, puede ser la mejor opción para mantener constante los niveles de P₄ plasmática en las vaconas durante los días 3, 4 y 5 post IA. No obstante, las mediciones de P₄ plasmático tuvieron un comportamiento similar hasta los 16 días de medición.

Además, el aumento temprano y sostenido de P₄ plasmática después de la IA no afecta la morfología (presencia y el tamaño) del CL.

Finalmente, la aplicación exógena de P₄ no afecta el porcentaje de concepción temprana y a pesar de que los porcentajes fueron altos en los tres grupos no existió diferencias estadísticas que demuestren eficacia en los grupos experimentales.

6.2 Recomendaciones

Continuar realizando investigaciones donde se aplique P₄ de larga acción con dosis reducidas post IA, incrementando la muestra de vaconas a utilizar. Con el objetivo de obtener resultados concluyentes sobre la eficacia del tratamiento en lo que respecta a porcentaje de concepción temprana en nuestro país.

Poner a disposición esta investigación, con la finalidad de que se utilice esta técnica como herramienta de trabajo para mejorar la eficiencia reproductiva bovina, que a su vez brindará un gran aporte al sector ganadero con el incrementando el número de crías por año.



Divulgar los resultados obtenidos en la presente investigación a todos aquellos involucrados en mejorar la eficiencia reproductiva en los hatos ganaderos, profesionales, estudiantes, productores ganaderos y personas afines al tema.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aparicio, I. M., Garcia-Herreros, M., O'shea, L. C., Hensey, C., Lonergan, P., & Fair, T. (2011). Expression, regulation, and function of progesterone receptors in bovine cumulus oocyte complexes during in vitro maturation. *Biology of reproduction*, 84(5), 910-921.
- Arndt, W. J., Holle, A. J., Bauer, M. L., Kirsch, J. D., Schimek, D. E., Odde, K. G., & Vonnahme, K. A. (2009). Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 73(4), 271.
- Ashworth, C. J., Sales, D. I., & Wilmut, I. (1989). Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal of reproduction and fertility*, 87(1), 23-32.
- Becaluba Facundo. (2006). Métodos de sincronización de celos en Bovinos. Sitio Argentino de producción animal.
- Boyezuk, A. (2007). Diagnóstico precoz de gestación por ultrasonografía en programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). *Producir XXI*, 16(193), 51-55.
- Brito Solano, M. D. C. (2013). Efecto de la progesterona post-inseminación en la preñez en vacas Holstein posparto.
- Callejas, S. (2001). Fisiología del ciclo estral bovino. *Jornadas de Biotecnología de la Reproducción en hembras de interés zootécnico, UNLZ y SYNTEX SA, Lomas de Zamora*, 15.
- Carter, F., Forde, N., Duffy, P., Wade, M., Fair, T., Crowe, M. A., & Lonergan, P. (2008). Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 20(3), 368-375.
- Cairoli, F., Mollo, A., Veronesi, M. C., Renaville, B., Faustini, M., & Battocchio, M. (2006). Comparison between Cloprostenol-induced and Spontaneous Oestrus Fertility in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 41(2), 175-179.



- Clemente, M., de La Fuente, J., Fair, T., Al Naib, A., Gutierrez-Adan, A., Roche, J. F., ... & Lonergan, P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium?. *Reproduction*, 138(3), 507-517.
- Crowe, M. A., & Mullen, M. P. (2013). Regulation and Function of Gonadotropins Throughout the Bovine Oestrous Cycle. INTECH Open Access Publisher.
- del Valle Díaz Thaís (2008). Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En C. G. Stagnaro, & N. M. Belloso (Edits.), *Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito* (págs. 546-554). Trujillo, Venezuela: Ediciones Astro Data S.A. Obtenido de http://www.avpa.ula.ve/libros_nacionales.html
- DesCôteaux, L., Colloton, J., & Gnemmi, G. (Eds.). (2009). Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography. John Wiley & Sons.
- Dieleman, S. J., Bevers, M. M., Poortman, J., & Van Tol, H. T. M. (1983). Steroid and pituitary hormone concentrations in the fluid of preovulatory bovine follicles relative to the peak of LH in the peripheral blood. *Journal of reproduction and fertility*, 69(2), 641-649.
- Diskin, M. G., & Morris, D. G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(s2), 260-267.
- Diskin, M. G., Murphy, J. J., & Sreenan, J. M. (2006). Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal reproduction science*, 96(3), 297-311.
- Fernández Tubino Alvaro. (2003). Dinámica folicular: funcionamiento y regulación Sitio Argentino de Producción animal.
- Flores, E., Vega, J., & Tello, V. (2007). Efectos del uso de un progestágeno (CIDR-B), tempranamente post-inseminación a tiempo fijo en la fertilidad de vacas lecheras alta productoras.
- Forde, N., Carter, F., Fair, T., Crowe, M. A., Evans, A. C. O., Spencer, T. E., ... & Lonergan, P. (2009). Progesterone-regulated changes in endometrial



- gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biology of Reproduction*, 81(4), 784-794.
- García, L. (2010). Reproducción, características del ciclo estral Engormix.
- Garrett, J. E., Geisert, R. D., Zavy, M. T., & Morgan, G. L. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2), 437-446.
- Goddard, P.J. 2000. Diagnóstico ecográfico a tiempo real en reproducción bovina. En: *Ecografía Veterinaria*. Zaragoza, España. Ed. ACRIBIA S.A. 387 p.
- González Starnago Carlos; Ninoska Madrid Bury; Eleazar Soto Belloso. (2008). *Desarrollo Sostenible de la Ganadería Doble Propósito*. (T. d. Díaz, Ed.) Maracaibo, Venezuela Ediciones Astro Data S.A.
- Hafez, E. S. (2002). *Reproducción e Inseminación en Animales Domésticos*. México: McGraw Hill Interamericana.
- Hernández Cerón Joel. (2010). Proteína B específica de la gestación. *Noticias de Reproducción bovina*. 3(30), editorial.
- Hincapie J.J., Brito R., Campo E. (2005). *Reproducción animal aplicada: fundamentos de fisiología y biotecnología*. 2a. ed. Tegucigalpa, Honduras. Pag. 85-90.
- Inskeep, E. K. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of animal science*, 82(13_suppl), E24-E39.
- Inskeep, E. K. (2002). Factors that affect embryonic survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In *Factors affecting calf crop: biotechnology of reproduction* (pp. 255-275). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Junior, M. V. C. F., Pires, A. V., Biehl, M. V., Santos, M. H., Polizel, D. M., Nepomuceno, D. D., . & Day, M. L. (2016). Luteolysis in *Bos indicus* cows on Days 5 and 7 of estrous cycle with varying doses of PGF 2 α . *Theriogenology*.



- Kastelic, J. P., & Ginther, O. J. (1991). Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Animal Reproduction Science*, 26(1), 13-24.
- Larson, S. F., Butler, W. R., & Currie, W. B. (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal reproduction science*, 102(1), 172-179.
- Lenis Sanín Yasser, Lynda Jhailú Tamayo Arango, Nélida Rodríguez Osorio, Leonardo Duque Muñoz, José Ignacio Naranjo Nicholls, Diego Fernando Carrillo González, Mónica Duque Quintero, Juan Guillermo Maldonado Estrada, Ariel Marcel Tarazona Morales. (2014). *Reproducción de la vaca. Manual didáctico sobre la reproducción, gestación, lactancia y bienestar de la vaca*. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.
- Lonergan, P. (2011). Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*, 76(9), 1594-1601.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (1999). The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34(3-4), 269-274.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*, 121(1), 175-180.
- Mann, G. E., Fray, M. D., & Lamming, G. E. (2006). Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *The Veterinary Journal*, 171(3), 500-503.
- Macmillan, K. L., & Henderson, H. V. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F 2 α to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. *Animal reproduction science*, 6(4), 245-254.
- McNeill, R. E., Diskin, M. G., Sreenan, J. M., & Morris, D. G. (2006). Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, 65(7), 1435-1441.



- Momont, H. W., & Seguin, B. E. (1984). Influence of day of estrous cycle on response to PGF2 alpha products: implications for AI programs for dairy cattle. In 10. international congress on animal reproduction and artificial insemination, University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois (USA), 10-14 Jun 1984. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Monteiro, P. L. J., Borsato, M., Silva, F. L. M., Prata, A. B., Wiltbank, M. C., & Sartori, R. (2015). Increasing estradiol benzoate, pretreatment with gonadotropin-releasing hormone, and impediments for successful estradiol-based fixed-time artificial insemination protocols in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 98(6), 3826-3839.
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological reviews*, 80(1), 1-29.
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., McGuire, W. J., Belfiore, C. J., & Wiltbank, M. C. (1994). Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction*, 50(2), 239-247.
- Odde, K. G. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*, 68(3), 817-830.
- O'Hara, L., Forde, N., Carter, F., Rizos, D., Maillo, V., Ealy, A. D., & Lonergan, P. (2014). Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 26(2), 328-336.
- Okuda, K., & Sakumoto, R. (2003). Multiple roles of TNF super family members in corpus luteum function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 1.
- Orellana Banegas Julio César; Ever Manuel Peralta Peralta. (2007). *Manual de procedimientos para el laboratorio*. Zamorano, Honduras.
- Palma Gustavo A. (2001). *Biotecnología de la reproducción*. Argentina, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Parr, M. H., Crowe, M. A., Lonergan, P., Evans, A. C. O., Rizos, D., & Diskin, M. G. (2014). Effect of exogenous progesterone supplementation in the



- early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein–Friesian cows. *Animal Reproduction Science*, 150(1), 7-14.
- Perea Ganchou Fernando. (2005). *Manual de Ganadería Doble Propósito*. (E. S.-B. C. González-Stagnaro, Ed.) Maracaibo, Venezuela: Ediciones Astro Data, S.A.
- Pérez, F. (2004). *Reconocimiento maternal de la gestación*. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina.
- Pugliesi, G., Oliveria, M. L., Scolari, S. C., Lopes, E., Pinaffi, F. V., Miagawa, B. T., . & Binelli, M. (2014). Corpus Luteum Development and Function after Supplementation of Long-Acting Progesterone During the Early Luteal Phase in Beef Cattle. *Reproduction in domestic animals*, 49(1), 85-91.
- Rekawiecki, R., Kowalik, M. K., Slonina, D., & Kotwica, J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum. *J Physiol Pharmacol*, 59(suppl 9), 75-89.
- Rekawiecki, R., & Kotwica, J. (2006, August). Molecular regulation of progesterone (P4) synthesis within the bovine corpus luteum (CL). In *REPRODUCTION IN DOMESTIC ANIMALS* (Vol. 41, No. 4, pp. 356-356). 9600 GARSINGTON RD, OXFORD OX4 2DQ, OXON, ENGLAND: BLACKWELL PUBLISHING.
- Rippe, C. A. (2009). El ciclo estral. In *2009 Dairy Cattle Reproduction Conference*. Minneapolis, MN (pp. 111-117).
- Rivera, H. (2009). Revisión anatómica del aparato reproductor de las vacas. In *Dairy Cattle Reproduction Conference* (Vol. 103, pp. 103-109).
- Rodríguez M. José Manuel. (2001). Fisiología. Mecanismos para el reconocimiento materno. En G. S. Carlos, *Reproducción bovina* (págs. 30-39). Maracaibo, Venezuela: Ediciones Astro Data S. A.
- Rueda, B. R., Tilly, K. I., Botros, I. W., Jolly, P. D., Hansen, T. R., Hoyer, P. B., & Tilly, J. L. (1997). Increased bax and interleukin-1beta-converting enzyme messenger ribonucleic acid levels coincide with apoptosis in the



- bovine corpus luteum during structural regression. *Biology of reproduction*, 56(1), 186-193.
- Sangsrivong, S., Combs, D. K., Sartori, R., Armentano, L. E., & Wiltbank, M. C. (2002). High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(11), 2831-2842.
- Serrano, C. A., & Olivera, M. (2015). Caracterización de la función luteal durante el primer ciclo post-parto inducido por medio de un progestágeno en vacas cebú brahmán en amamantamiento. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian Journal of Animal Science and Veterinary Medicine)*, 10(1), 29-37.
- Sheldon, I. M. Price, S. B., Cronin, J., Gilbert, R. O., & Gadsby, J. E. (2009). Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(s3), 1-9.
- Spencer, T. E., & Bazer, F. W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 7, d1879-98.
- Spencer, T. E., Johnson, G. A., Bazer, F. W., Burghardt, R. C., & Palmarini, M. (2006). Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*, 19(1), 65-78.
- Spencer, T. E., Johnson, G. A., Burghardt, R. C., & Bazer, F. W. (2004). Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. *Biology of Reproduction*, 71(1), 2-10.
- Stötzel, C., Ehrig, R., Boer, H. M. T., Plöntzke, J., & Röblitz, S. (2016). Exploration of different wave patterns in a model of the bovine estrous cycle by Fourier analysis 3. In *BIOMAT 2014: Proceedings of the International Symposium on Mathematical and Computational Biology*, 114-128.



- Stronge, A. J. H., Sreenan, J. M., Diskin, M. G., Mee, J. F., Kenny, D. A., & Morris, D. G. (2005). Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, 64(5), 1212-1224.
- Sumano López Hector; Ocampo Camberos Luis. (2007). Farmacología de la reproducción. Esteroides sexuales. En *Farmacología Veterinaria* (tercera edición ed., págs. 839-861). México: Mc Graw-Hill Interamericana.
- Tamayo Torres Manuel. (2015). La ecografía como medio diagnóstico y evaluación de los procesos reproductivos en el bovino. Sitio argentino de producción Animal.
- Trevisol, E., Ferreira, J. C., Ackermann, C. L., Destro, F. C., Marques Filho, W. C., Carmagos, A. S., ... & Ferreira, J. C. P. (2015). Luteal changes after treatment with sub-luteolytic doses of prostaglandin (cloprostenol sodium) in cattle. *Animal reproduction science*, 153, 8-12.
- Tsai, S. J., & Wiltbank, M. C. (1998). Prostaglandin F2alpha regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biology of reproduction*, 58(2), 346-352.
- Wathes, D. C., Taylor, V. J., Cheng, Z., & Mann, G. E. (2003). Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction supplement*, 61, 219-237.
- Wiltbank, M. C., Gümen, A., & Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57(1), 21-52.
- Wiltbank, M. C., Salih, S. M., Atli, M. O., Luo, W., Bormann, C. L., Ottobre, J. S., ... & Sartori, R. (2012). Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. *Animal reproduction/Colegio Brasileiro de Reproducao Animal*, 9(3), 242.
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Bender, R. W., & Nascimento, A. B. (2011). Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(1), 238-243.
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Cunha, A. P., Giordano, J. O., Fricke, P. M., ... & Diskin, M. G. (2014). Physiological and practical



effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8(s1), 70-81.

Zucchi, S., Mirbahai, L., Castiglioni, S., & Fent, K. (2014). Transcriptional and physiological responses induced by binary mixtures of drospirenone and progesterone in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental science & technology*, 48(6), 3523-3531.

ANEXOS

Anexo 1. Razas y número de vaconas que conformaron los grupos 1, 2 y 3 en este estudio.

	BORWN SWISS	BIOTIPO CRIOLLA	HOLSTEIN FRIESIEAN	TOTAL
G1	3	3	3	9
G2	3	3	4	10
G3	2	4	3	9
TOTAL	8	10	10	28

Anexo 2. Niveles de progesterona (P4) expresada en ng/ml, durante los días de muestreo. Grupo 1, 2 y 3.

GRUPO	RAZA	Día 0	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 8	Día 10	Día 12	Día 14	Día 16
G1	A	0,26	0,23	0,56	0,88	1,28	4,64	4,64	4,97	6,83	7,28	8,27
	A	0,51	0,64	0,74	2,69	2,96	3,8	4,43	4,92	4,99	4,21	3,54
	A	0,24	0,24	0,46	1,59	0,91	4,17	5,36	9,05	9,09	9,94	7,71
	B	0,26	0,3	0,37	0,71	1,33	1,7	4,25	5,22	7,94	7,54	9,66
	B	0,11	0,18	0,42	0,39	0,47	0,73	1,78	2,26	4,74	3,93	5,34
	B	0,34	0,55	0,34	0,74	1,97	3,43	6,14	7,09	7,58	9,41	10,14
	C	0,18	0,19	0,41	0,73	1,28	4,48	4,49	6,32	6,21	7,25	5,93
	C	0,2	0,19	0,42	0,54	0,64	3,39	3,64	7,05	7,9	7,27	7,21
	C	0,42	0,38	0,42	1,31	2,05	2,94	3,65	4,34	5,94	5,1	4,94
G2	A	0,1	0,14	0,11	0,32	0,38	1,07	1,15	2,91	3,47	4,74	5,49
	A	0,09	0,21	0,43	1,06	1,6	1,91	4,77	5,46	4,6	4,37	5,11
	A	0,08	1,73	1,77	2,78	3,1	5,98	7,83	6,63	6,85	7,47	7,52
	B	0,13	0,16	0,88	1,5	2,09	4,88	6,08	8,55	12,57	12	12,4
	B	0,28	0,52	0,92	0,63	1,9	3,94	5,1	7,27	5,36	6,21	5,41
	B	0,41	1,02	1,08	1,43	1,95	1,42	4,28	4,89	6,28	7,11	7,97
	C	0,22	0,6	0,89	1,43	1,3	3,9	2,83	4,57	5,46	6,6	7,03
	C	0,17	0,14	0,29	0,55	1,01	1,72	3,73	4,91	5,27	5,65	8,82
	C	0,63	0,71	1	1,56	1,73	1,94	2,38	2,41	3,53	4,27	5,85
C	0,26	0,28	1,89	1,41	3,65	5,95	7,27	8,66	10,5	9,69	11,27	
G3	A	0,21	0,23	2,01	2,15	4,05	5,77	6,53	7,66	7,57	8,44	10,43
	A	0,51	1,55	1,79	2,02	1,81	1,03	2,03	5,72	5,85	5,32	5
	B	0,27	1,08	4,04	5,19	5,9	6,73	9,68	9,72	10,43	12,84	12,47
	B	0,17	0,18	1,2	1,25	1,55	1,63	3,32	5,69	6,25	8,29	8,9
	B	0,25	0,3	1,49	1,67	1,75	1,52	3,03	3,52	4,68	6,06	6,49
	B	0,6	0,89	1,43	1,3	3,9	2,83	4,57	5,46	6,6	6,98	7,05
	C	0,38	0,99	2,34	4,2	5,9	6,5	8,9	8,7	10,3	11,8	14,53
	C	0,71	1,02	3,81	3,62	3,88	5,28	6,62	7,14	7,7	8,16	8,7
	C	0,29	0,27	2,03	3,59	6,07	5,89	7,94	9,03	9,12	13,15	14,25

A = BROWN SWISS, B = BIOTIPO CRIOLLO, C = HOLSTEIN FRESIAN



Fuente: Reporte de resultados del laboratorio CENBIOCLI S.A.

Anexo 3. Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición de la P4 plasmática.

GRUPOS		Pruebas de normalidad		
		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 0	Grupo 1	0,95	9	0,69
	Grupo 2	0,85	10	0,058
	Grupo 3	0,902	9	0,264
Día 2	Grupo 1	0,821	9	0,035
	Grupo 2	0,818	10	0,024
	Grupo 3	0,875	9	0,139
Día 3	Grupo 1	0,797	9	0,019
	Grupo 2	0,925	10	0,402
	Grupo 3	0,835	9	0,051
Día 4	Grupo 1	0,818	9	0,032
	Grupo 2	0,895	10	0,195
	Grupo 3	0,905	9	0,28
Día 5	Grupo 1	0,935	9	0,53
	Grupo 2	0,954	10	0,72
	Grupo 3	0,858	9	0,09
Día 6	Grupo 1	0,9	9	0,255
	Grupo 2	0,875	10	0,115
	Grupo 3	0,847	9	0,069
Día 8	Grupo 1	0,941	9	0,594
	Grupo 2	0,98	10	0,966
	Grupo 3	0,942	9	0,605
Día 10	Grupo 1	0,973	9	0,917
	Grupo 2	0,946	10	0,617
	Grupo 3	0,955	9	0,75
Día 12	Grupo 1	0,96	9	0,797
	Grupo 2	0,842	10	0,046
	Grupo 3	0,945	9	0,634
Día 14	Grupo 1	0,915	9	0,351
	Grupo 2	0,895	10	0,193
	Grupo 3	0,898	9	0,239
Día 16	Grupo 1	0,97	9	0,892
	Grupo 2	0,887	10	0,156
	Grupo 3	0,94	9	0,586

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors



Anexo 4. Prueba de Kruskal Wallis para el día 2 de medición de P4

Estadísticos de prueba^{a,b}	
	DIA_2
Chi-cuadrado	2,79
gl	2
Sig. asintótica	0,25
a. Prueba de Kruskal Wallis	

Anexo 5. Test de Homogeneidad de las varianzas de Levene en todos los días de medición de la P4 plasmática

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Día 0	0,875	2	25	0,429
Día 2	4,184	2	25	0,027
Día 3	6,162	2	25	0,007
Día 4	6,44	2	25	0,006
Día 5	3,633	2	25	0,041
Día 6	5,576	2	25	0,01
Día 8	4,146	2	25	0,028
Día 10	0,102	2	25	0,904
Día 12	1,221	2	25	0,312
Día 14	0,723	2	25	0,495
Día 16	1,319	2	25	0,285

Anexo 6. ANOVA para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, en diferentes días, post IA y aplicación de P4 exógena de larga acción.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 0	Entre grupos	0,096	2	0,048	1,769	0,191
	Dentro de grupos	0,676	25	0,027		
	Total	0,772	27			
Día 2	Entre grupos	0,729	2	0,365	2,04	0,151
	Dentro de grupos	4,467	25	0,179		
	Total	5,196	27			
Día 3	Entre grupos	15,372	2	7,686	16,821	0
	Dentro de grupos	11,423	25	0,457		
	Total	26,795	27			
Día 4	Entre grupos	15,939	2	7,969	8,175	0,002
	Dentro de grupos	24,372	25	0,975		
	Total	40,311	27			
Día 5	Entre grupos	30,595	2	15,297	9,504	0,001
	Dentro de grupos	40,238	25	1,61		
	Total	70,832	27			
Día 6	Entre grupos	4,608	2	2,304	0,643	0,534
	Dentro de grupos	89,591	25	3,584		
	Total	94,199	27			
Día 8	Entre grupos	12,961	2	6,48	1,438	0,256
	Dentro de grupos	112,677	25	4,507		
	Total	125,638	27			
Día 10	Entre grupos	10,391	2	5,196	1,243	0,306
	Dentro de grupos	104,484	25	4,179		
	Total	114,876	27			
Día 12	Entre grupos	7,242	2	3,621	0,711	0,501
	Dentro de grupos	127,399	25	5,096		
	Total	134,642	27			
Día 14	Entre grupos	28,523	2	14,261	2,265	0,125
	Dentro de grupos	157,442	25	6,298		
	Total	185,965	27			
Día 16	Entre grupos	37,895	2	18,948	2,501	0,102
	Dentro de grupos	189,369	25	7,575		
	Total	227,264	27			

Anexo 7. Prueba estadística de Tukey, para niveles de P4 plasmática.

Variable dependiente	(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Día 0	Grupo 1	Grupo 2	0,043	0,076	0,838	-0,145	0,231
		Grupo 3	-0,097	0,078	0,438	-0,290	0,096
	Grupo 2	Grupo 1	-0,043	0,076	0,838	-0,231	0,145
		Grupo 3	-0,140	0,076	0,175	-0,328	0,049
	Grupo 3	Grupo 1	0,097	0,078	0,438	-0,096	0,290
		Grupo 2	0,140	0,076	0,175	-0,049	0,328
Día 2	Grupo 1	Grupo 2	-0,229	0,194	0,477	-0,713	0,255
		Grupo 3	-0,401	0,199	0,130	-0,897	0,095
	Grupo 2	Grupo 1	0,229	0,194	0,477	-0,255	0,713
		Grupo 3	-0,172	0,194	0,653	-0,656	0,311
	Grupo 3	Grupo 1	0,401	0,199	0,130	-0,095	0,897
		Grupo 2	0,172	0,194	0,653	-0,311	0,656
Día 3	Grupo 1	Grupo 2	-0,466	0,311	0,308	-1,240	0,308
		Grupo 3	-1,7778*	0,319	0,000	-2,572	-0,984
	Grupo 2	Grupo 1	0,466	0,311	0,308	-0,308	1,240
		Grupo 3	-1,3118*	0,311	0,001	-2,085	-0,538
	Grupo 3	Grupo 1	1,7778*	0,319	0,000	0,984	2,572
		Grupo 2	1,3118*	0,311	0,001	0,538	2,085
Día 4	Grupo 1	Grupo 2	-0,203	0,454	0,896	-1,333	0,927
		Grupo 3	-1,7122*	0,465	0,003	-2,872	-0,553
	Grupo 2	Grupo 1	0,203	0,454	0,896	-0,927	1,333
		Grupo 3	-1,5097*	0,454	0,007	-2,640	-0,380
	Grupo 3	Grupo 1	1,7122*	0,465	0,003	0,553	2,872
		Grupo 2	1,5097*	0,454	0,007	0,380	2,640
Día 5	Grupo 1	Grupo 2	-0,439	0,583	0,735	-1,891	1,013
		Grupo 3	-2,4356*	0,598	0,001	-3,925	-0,946
	Grupo 2	Grupo 1	0,439	0,583	0,735	-1,013	1,891
		Grupo 3	-1,9968*	0,583	0,006	-3,449	-0,545
	Grupo 3	Grupo 1	2,4356*	0,598	0,001	0,946	3,925
		Grupo 2	1,9968*	0,583	0,006	0,545	3,449
Día 6	Grupo 1	Grupo 2	-0,018	0,870	1,000	-2,184	2,149
		Grupo 3	-0,878	0,892	0,594	-3,101	1,345
	Grupo 2	Grupo 1	0,018	0,870	1,000	-2,149	2,184
		Grupo 3	-0,860	0,870	0,591	-3,027	1,306
	Grupo 3	Grupo 1	0,878	0,892	0,594	-1,345	3,101
		Grupo 2	0,860	0,870	0,591	-1,306	3,027
Día 8	Grupo 1	Grupo 2	-0,278	0,975	0,956	-2,707	2,152



		Grupo 3	-1,582	1,001	0,272	-4,075	0,911
	Grupo 2	Grupo 1	0,278	0,975	0,956	-2,152	2,707
		Grupo 3	-1,305	0,975	0,388	-3,734	1,125
	Grupo 3	Grupo 1	1,582	1,001	0,272	-0,911	4,075
		Grupo 2	1,305	0,975	0,388	-1,125	3,734
Día 10	Grupo 1	Grupo 2	0,065	0,939	0,997	-2,275	2,405
		Grupo 3	-1,269	0,964	0,399	-3,669	1,132
	Grupo 2	Grupo 1	-0,065	0,939	0,997	-2,405	2,275
		Grupo 3	-1,334	0,939	0,346	-3,674	1,006
	Grupo 3	Grupo 1	1,269	0,964	0,399	-1,132	3,669
		Grupo 2	1,334	0,939	0,346	-1,006	3,674
Día 12	Grupo 1	Grupo 2	0,413	1,037	0,917	-2,170	2,997
		Grupo 3	-0,809	1,064	0,730	-3,460	1,842
	Grupo 2	Grupo 1	-0,413	1,037	0,917	-2,997	2,170
		Grupo 3	-1,222	1,037	0,477	-3,806	1,361
	Grupo 3	Grupo 1	0,809	1,064	0,730	-1,842	3,460
		Grupo 2	1,222	1,037	0,477	-1,361	3,806
Día 14	Grupo 1	Grupo 2	0,070	1,153	0,998	-2,802	2,942
		Grupo 3	-2,123	1,183	0,192	-5,070	0,823
	Grupo 2	Grupo 1	-0,070	1,153	0,998	-2,942	2,802
		Grupo 3	-2,193	1,153	0,159	-5,066	0,679
	Grupo 3	Grupo 1	2,123	1,183	0,192	-0,823	5,070
		Grupo 2	2,193	1,153	0,159	-0,679	5,066
Día 16	Grupo 1	Grupo 2	-0,716	1,265	0,839	-3,866	2,434
		Grupo 3	-2,787	1,297	0,100	-6,018	0,445
	Grupo 2	Grupo 1	0,716	1,265	0,839	-2,434	3,866
		Grupo 3	-2,071	1,265	0,249	-5,221	1,079
	Grupo 3	Grupo 1	2,787	1,297	0,100	-0,445	6,018
		Grupo 2	2,071	1,265	0,249	-1,079	5,221

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 7,575.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.



Anexo 8. Morfología del CL (promedio de los diámetros mayores), expresado en mm, durante los días en que se realizó las mediciones por ultrasonografía, correspondientes al grupo 1, 2 y 3.

Grupo	Raza	Día 2	Día 3	Día 6	Día 8	Día 10	Día 11	Día 12	Día 13	Día 14	Día 15	Día 16
G1	A	12,7	12,7	20,2	23,4	23,4	24	25	25,8	26	26,2	26,7
	A	12	23,1	22,7	24,4	24,6	25,2	25,9	23,7	24,6	24	23
	A	11,3	15,7	19,1	23,7	25,7	26,6	28,5	26,8	27,2	27,9	27,9
	B	12,8	15,7	14,7	22,6	22,1	20,7	24,1	24,5	24,9	25,3	25,8
	B	12,8	15,7	15,1	20,5	21	23,3	23,4	23,8	23,7	23	22,9
	B	12,8	12,7	19	21	22,3	23	23	23,7	24	24,3	25,6
	C	12,8	17,1	18,6	23,1	25,6	23,6	22,8	25,1	25,4	21,6	20
	C	12,8	14,3	18,6	20	22,9	23,8	24,9	25	25,6	25,8	25,8
	C	12,8	12,4	21,6	26	23,2	24,8	27,7	28,8	27,9	27	26,2
G2	A	18	18	19	21	21	21,5	24,8	25,1	25	24,8	24
	A	16,6	17,8	23,4	21,4	21,2	24,6	25	24,6	25,8	24	23,5
	A	17,3	15,9	20,3	21	23,7	24,1	24,9	25	25,8	26,9	27,2
	B	16	16,9	19	21	22,1	22,1	23	23,8	24,9	25	25,9
	B	13,9	17,5	19,4	23,8	24,4	24,1	23,9	23,7	23	22,4	20,3
	B	11,8	14,3	22,4	23,6	24,8	25	26,2	26,9	27,5	28,9	30
	C	11,3	14,9	22	23	25,6	26,6	27,6	28,1	29	29,2	29,5
	C	11,3	14,9	22	24,2	27,6	28,6	29,3	30	29,5	29,2	30
	C	12,4	13,4	22,4	26	28,8	29,4	29,5	29,7	30	30,2	30,2
G3	A	13,7	16,8	17,7	20	20,6	21,3	21,7	21,6	21,3	22,7	24,2
	A	15,9	16,4	21,1	22,5	22	22,9	23,5	22	24,8	23,6	20
	B	15,9	14,2	17,9	21	22,4	23,1	24,8	25,9	26,1	25,8	27
	B	15,5	15,8	19,2	21,8	22,1	23	23,5	24	24,7	25,4	26,5
	B	15,5	15,8	22,7	23	23,8	24	24,5	25,9	26	26,4	26,9
	B	16,4	19,4	20,6	22,2	22,2	22,9	23	23,8	24,8	24,9	25,6
	C	16,7	17,3	21	23,9	24,5	24,5	25	25,6	26,8	27,2	28,3
	C	14,9	20,2	21,3	23,7	23,7	24,1	25,2	25,5	26,6	27,7	28,9
	C	13,3	16,7	22,6	26	26,9	27,5	29,2	29,4	29,4	29	29,5

A = BROWN SWISS, B = BIOTIPO CRIOLLO, C = HOLSTEIN FRESIAN



Anexo 9. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para CL en los tres grupos y los días de medición.

Pruebas de normalidad				
Grupos		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 2	Grupo 1	0,598	9	0
	Grupo 2	0,9	10	0,219
	Grupo 3	0,924	8	0,467
Día 3	Grupo 1	0,82	9	0,034
	Grupo 2	0,939	10	0,546
	Grupo 3	0,939	8	0,6
Día 6	Grupo 1	0,926	9	0,444
	Grupo 2	0,851	10	0,06
	Grupo 3	0,919	8	0,421
Día 8	Grupo 1	0,961	9	0,805
	Grupo 2	0,847	10	0,054
	Grupo 3	0,964	8	0,849
Día 10	Grupo 1	0,946	9	0,644
	Grupo 2	0,944	10	0,596
	Grupo 3	0,94	8	0,607
Día 11	Grupo 1	0,96	9	0,794
	Grupo 2	0,936	10	0,51
	Grupo 3	0,906	8	0,328
Día 12	Grupo 1	0,916	9	0,358
	Grupo 2	0,899	10	0,216
	Grupo 3	0,917	8	0,407
Día 13	Grupo 1	0,87	9	0,124
	Grupo 2	0,859	10	0,075
	Grupo 3	0,847	8	0,09
Día 14	Grupo 1	0,954	9	0,73
	Grupo 2	0,921	10	0,369
	Grupo 3	0,822	8	0,049
Día 15	Grupo 1	0,986	9	0,988
	Grupo 2	0,923	10	0,385
	Grupo 3	0,969	8	0,886
Día 16	Grupo 1	0,896	9	0,232
	Grupo 2	0,905	10	0,25
	Grupo 3	0,876	8	0,174

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors



Anexo 10. Test de Levene para homogeneidad de las varianzas en los días de medición del CL.

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Día 2	18,718	2	24	0
Día 3	0,781	2	24	0,469
Día 6	0,311	2	24	0,736
Día 8	0,941	2	24	0,404
Día 10	2,436	2	24	0,109
Día 11	2,563	2	24	0,098
Día 12	1,818	2	24	0,184
Día 13	1,683	2	24	0,207
Día 14	2,125	2	24	0,141
Día 15	2,086	2	24	0,146
Día 16	0,71	2	24	0,502

Anexo 11. ANOVA para tratamientos y evaluación de la morfología del CL (promedio de diámetros mayores), en diferentes días de medición post IA y aplicación de P4.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DIA 2	Entre grupos	40,088	2	20,044	7,033	0,004
	Dentro de grupos	68,399	24	2,85		
	Total	108,487	26			
DIA 3	Entre grupos	9,703	2	4,851	0,849	0,44
	Dentro de grupos	137,114	24	5,713		
	Total	146,816	26			
DIA 6	Entre grupos	20,22	2	10,11	2,335	0,118
	Dentro de grupos	103,92	24	4,33		
	Total	124,14	26			
DIA 8	Entre grupos	1,026	2	0,513	0,173	0,842
	Dentro de grupos	71,121	24	2,963		
	Total	72,147	26			



DIA 10	Entre grupos	10,137	2	5,068	1,302	0,29
	Dentro de grupos	93,415	24	3,892		
	Total	103,552	26			
DIA 11	Entre grupos	13,745	2	6,873	1,878	0,175
	Dentro de grupos	87,829	24	3,66		
	Total	101,574	26			
DIA 12	Entre grupos	15,595	2	7,798	2,054	0,15
	Dentro de grupos	91,121	24	3,797		
	Total	106,716	26			
DIA 13	Entre grupos	14,947	2	7,474	1,876	0,175
	Dentro de grupos	95,587	24	3,983		
	Total	110,534	26			
DIA 14	Entre grupos	9,745	2	4,872	1,349	0,279
	Dentro de grupos	86,715	24	3,613		
	Total	96,46	26			
DIA 15	Entre grupos	12,62	2	6,31	1,308	0,289
	Dentro de grupos	115,817	24	4,826		
	Total	128,436	26			
DIA 16	Entre grupos	14,791	2	7,395	0,867	0,433
	Dentro de grupos	204,795	24	8,533		
	Total	219,585	26			



Anexo 12. Prueba estadística de Tukey, para morfología de CL.

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Día 3	Grupo 1	Grupo 2	-0,53111	1,09822	0,88	-3,274	2,2115
		Grupo 3	-1,49861	1,16143	0,414	-4,399	1,4018
	Grupo 2	Grupo 1	0,53111	1,09822	0,88	-2,212	3,2737
		Grupo 3	-0,9675	1,13377	0,674	-3,799	1,8639
	Grupo 3	Grupo 1	1,49861	1,16143	0,414	-1,402	4,399
		Grupo 2	0,9675	1,13377	0,674	-1,864	3,7989
Día 14	Grupo 1	Grupo 2	-1,05222	0,87337	0,462	-3,233	1,1288
		Grupo 3	0,34028	0,92364	0,928	-1,966	2,6469
	Grupo 2	Grupo 1	1,05222	0,87337	0,462	-1,129	3,2333
		Grupo 3	1,3925	0,90164	0,289	-0,859	3,6442
	Grupo 3	Grupo 1	-0,34028	0,92364	0,928	-2,647	1,9663
		Grupo 2	-1,3925	0,90164	0,289	-3,644	0,8592
Día 15	Grupo 1	Grupo 2	-1,57889	1,00934	0,28	-4,1	0,9417
		Grupo 3	-0,45139	1,06743	0,907	-3,117	2,2143
	Grupo 2	Grupo 1	1,57889	1,00934	0,28	-0,942	4,0995
		Grupo 3	1,1275	1,04201	0,534	-1,475	3,7297
	Grupo 3	Grupo 1	0,45139	1,06743	0,907	-2,214	3,1171
		Grupo 2	-1,1275	1,04201	0,534	-3,73	1,4747
Día 16	Grupo 1	Grupo 2	-1,76222	1,34217	0,402	-5,114	1,5896
		Grupo 3	-1,04722	1,41942	0,744	-4,592	2,4975
	Grupo 2	Grupo 1	1,76222	1,34217	0,402	-1,59	5,114
		Grupo 3	0,715	1,38562	0,864	-2,745	4,1753
	Grupo 3	Grupo 1	1,04722	1,41942	0,744	-2,498	4,5919
		Grupo 2	-0,715	1,38562	0,864	-4,175	2,7453

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Anexo 13. Prueba de Kruskal Wallis de los tres grupos en estudio

Estadísticos de prueba ^{a,b}	
	Preñez
Chi-cuadrado	1,343
gl	2
Sig. asintótica	0,511
a. Prueba de Kruskal Wallis	
b. Variable de agrupación: Tratamiento	

Anexo 14. Fotografías del trabajo realizado en campo.



Vaonas del experimento en el corral de la Granja Irquis.



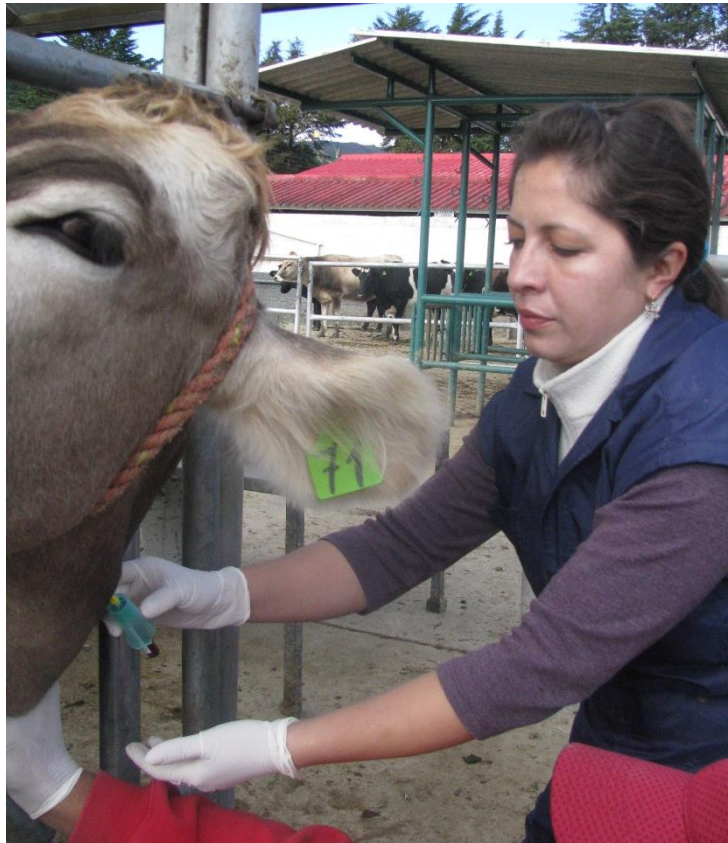
Dirigiendo a las vaonas a través de la manga de la Granja de Irquis.



Registro de las actividades realizadas.



Material utilizado en campo.



Extracción de sangre de la vena yugular, sistema vacutainer.



Ecografía transrectal para observación de los ovarios y CL.

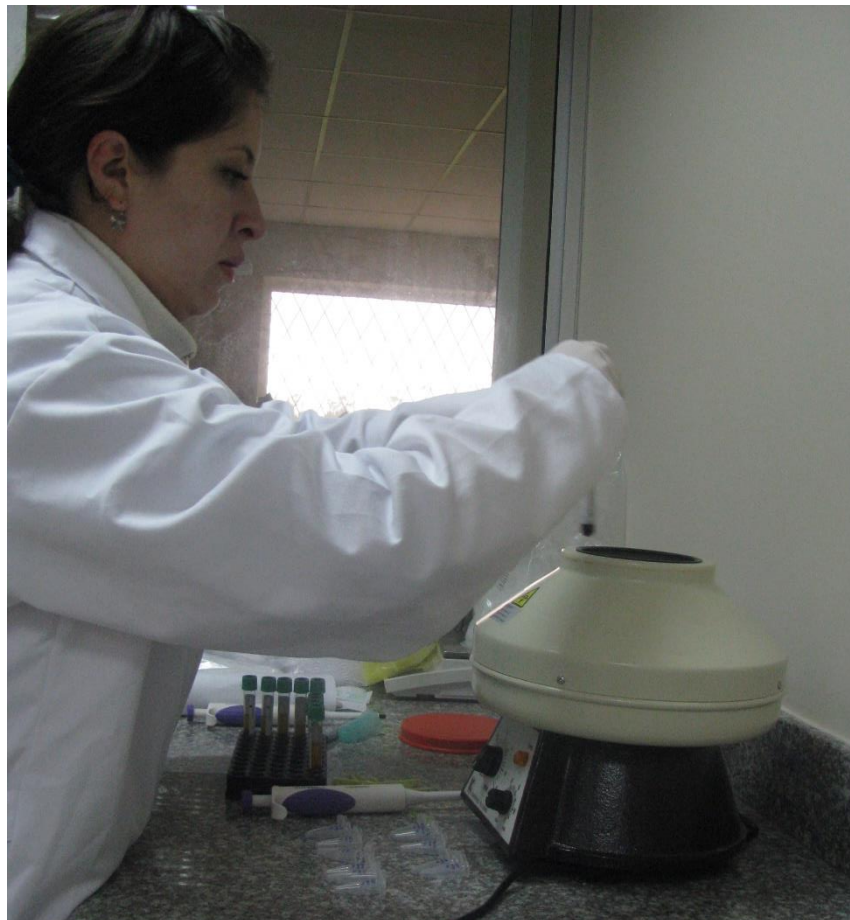


Ecografía transrectal para observación de los ovarios y CL.



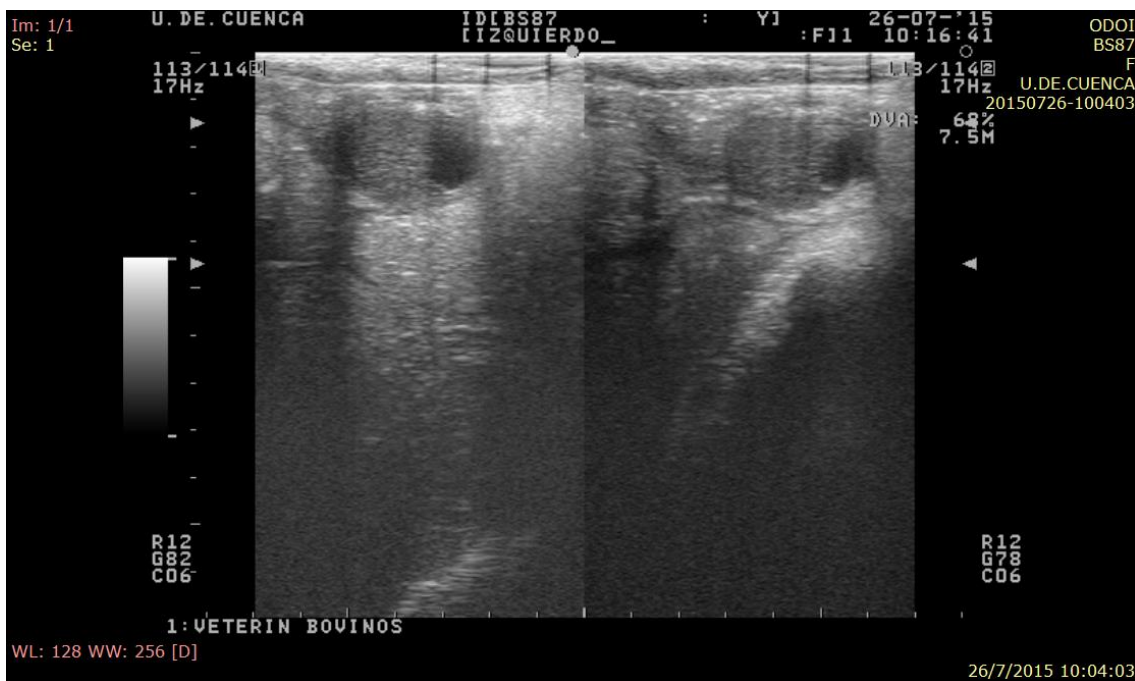
Ecografía transrectal para observación de los ovarios y CL.

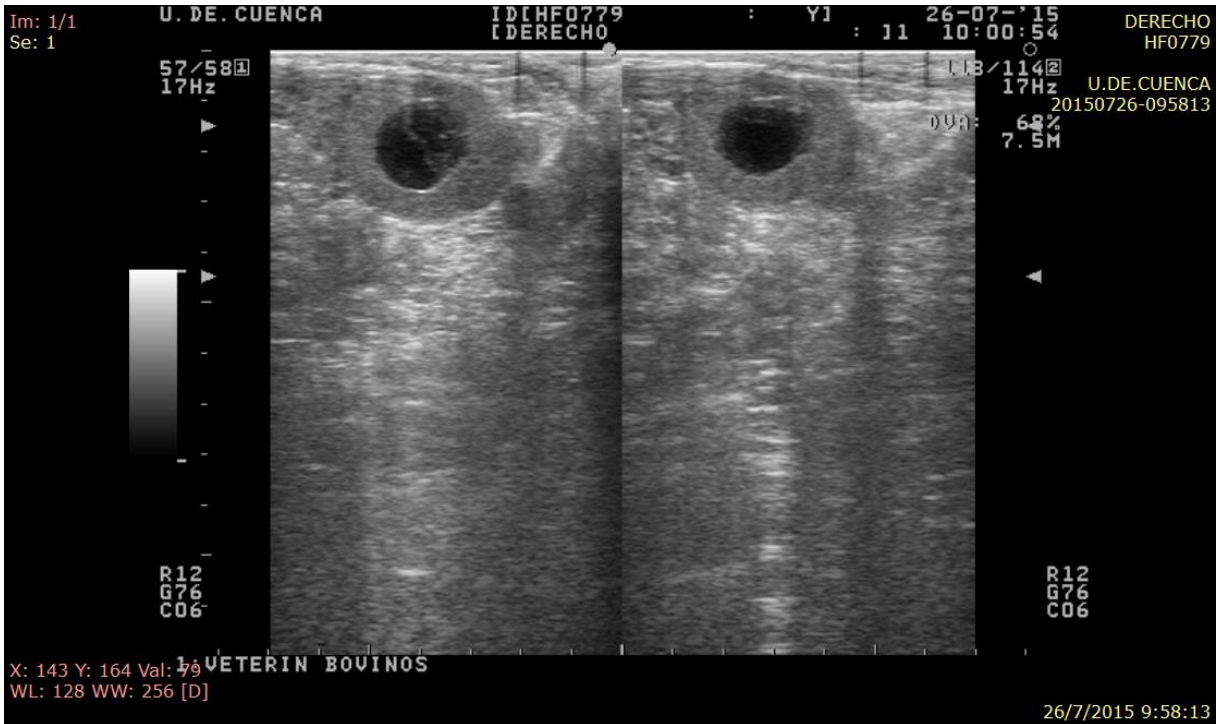
Anexo 15. Fotos del trabajo en el laboratorio de la Granja. Separación del plasma sanguíneo, por medio de centrifugación.





Anexo 16. Ecografías de ovarios, se muestran los cuerpos lúteos.







Anexo 17. Ecografías donde se puede evidenciar gestación.

