



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ANÁLISIS DE FECUNDIDAD EN HEMBRAS BOVINAS INSEMINADAS  
A TIEMPO FIJO CON SEMEN FRESCO**

Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos  
establecidos para optar por el título de:  
Médico Veterinario y Zootecnista

Profesor Guía:  
Ing. Diego Vela Tormen

Autor:  
José Alejandro Cedeño Escobar

Año  
2012

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

---

Diego Vela Tormen  
Ing. Zootecnista  
C.I.: 170775453-5

### **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

---

José Alejandro Cedeño Escobar

C.I.: 060344950-5

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco principalmente a Dios que me guía y siempre está presente en mi camino. A mi tutor de tesis el Ing. Diego Vela Tormen, por su dedicación e interés en ayudarme a desarrollar esta investigación, y por dedicarme todo el tiempo necesario para dirigirme en la misma, al Dr. Jorge Ron que sirvió de gran apoyo en la elaboración de mi tesis y sobre todo a mis padres por el apoyo incondicional que me han dado siempre.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mi familia, principalmente a mis padres que son la razón fundamental por la cual he podido cumplir mis objetivos, a mi novia por estar siempre presente y dándome la fuerza para continuar y terminar con éxito esta investigación. Sin su apoyo y comprensión habría sido difícil la culminación de este trabajo.

## RESUMEN

Se realizó un estudio con 30 vacas Holstein, en fase de lactancia con el objetivo de comprobar la fecundidad, luego de un protocolo de IATF, e inseminando con dos tipos de diluyentes, uno en base a leche descremada (T2) o experimental, y el otro con un diluyente comercial (TRILADYL) (T1) o testigo.

Este trabajo se desarrolló en la Hacienda Pacahuan del Cantón Quimiag, a una altitud de 3150 msnm., una temperatura promedio de 12° C y una pluviosidad de 1300 mm anuales, y en la Hacienda Chañag del cantón Quimiag a una altitud de 3200 msnm, una temperatura promedio de 12 ° C y una pluviosidad de 1300 mm anuales.

Los animales tanto del tratamiento testigo (T1), como los del tratamiento experimental (T2) se encontraron en pastoreo básicamente compuesto de pasto raygrass y pasto azul, con suministro de sales minerales, adicional en la hacienda Chañag una baja cantidad de concentrado con melaza durante los dos ordeños diarios; ambos grupos fueron sincronizados con el siguiente protocolo:

- D0: inserción vaginal del dispositivo CIDR y 2 mg de benzoato de estradiol vía im.
- D7: Retiro del dispositivo y una dosis de 2ml de prostaglandina vía im.
- D8: 1 mg de benzoato de estradiol vía im, y
- D9: IATF entre 52 y 56 horas posteriores a la aplicación de la prostaglandina.

En la hacienda Pacahuan se logró una fecundidad al primer servicio del 38% con el T1 y del 25% con T2, mientras que en la hacienda Chañag los resultados fueron de 57% con T1 y 43% de fecundidad con el T2.

Los resultados encontrados de las dos haciendas fueron de 47% de fecundidad para el T1 y 33% para el T2.

Se realizó un análisis utilizando regresiones logísticas,  $\chi^2$  y test exacto de Fisher, en el cual si  $P > 0,05$  significa que no hay influencia significativa entre variables ni tampoco diferencia significativa entre grupos de variables.

El costo por vaca en los tratamientos fueron de, 15,8 y \$1,1 dólares para el T1 y T2 respectivamente. Al analizar los costos por vaca preñada se obtuvo valores de 34 dólares con el tratamiento comercial (T1) y de 48,4 dólares con el tratamiento experimental (T2).

Por lo anterior se puede afirmar que el semen diluido con leche descremada puede utilizarse en procesos de inseminación de bovinos con semen fresco, ya que los resultados de preñez no difieren estadísticamente del diluyente comercial, aunque el costo por vaca preñada si resulto un 24% más alto.

## ABSTRACT

A study was conducted on 30 Holstein cows in lactation stage with the objective to prove fertility, after an IATF protocol I inseminated with two types of diluents one based on skim milk (T2) and the other is a commercial diluents (TRILADYL) (T1) or witness.

This Project took place at Pacahuan farm in Quimiag with an altitude of 3150 msnm, an average temperature of 12°C and rainfall of 1300 mm per year also at Chañag farm with an altitude of 3200 msnm, an average temperature of 12°C and rainfall of 1300 mm per year.

The animals in treatment witness (T2) as well as those in experimental treatment (T1) were grazing ray grass and blue pasture, accompanied with mineral salts and in Chañag farm they were provided with a small amount of concentrate and molasses during both milking; both groups were synchronized the same way with the following protocol.

- D0: Vaginal insertion with a CIDR device and 2mg of estradiol benzoate.
- D7: Removal of device u and a 2ml intramuscular dose of prostaglandin.
- D8: 1 mg estradiol benzoate.
- D9: IATF between 52 and 56 hour after the application of intramuscular prostaglandin.

In Pacahuan farm we achieved 38% fertility in their first cycle on T1 and 25% on T2, while in Chañag the results corresponded to 57% on T1 and 43% on T2.

The obtained results in both farms were of 47% in fertility for T1 and 33% for T2.

An analysis was conducted using logistic regressions,  $\chi^2$  and Fisher test in which if  $P > 0.05$  it means that there is neither significant difference between the variables nor a significant difference between the variable groups.

The cost per cow in the treatments were of 15.8 and 1.1 USD, respectively for T1 and T2. When I analyzed the costs per pregnant cow the results obtained were of 34 USD with the commercial treatment (T1) and 48.40 USD with experimental treatment (T2).

Because the earlier statement we can conclude that diluted semen with skim milk

May be used for bovine insemination processes with fresh semen since the pregnancy results statistically don't differ from commercial diluents even though the costs per pregnant cow were 24% higher.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>3</b>
<b>1 MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
1.1 BOVINOTECNIA .....	3
1.2 FISIOLÓGÍA DEL CICLO ESTRAL BOVINO .....	4
1.2.1 El Hipotálamo, la Hipófisis y Hormonas de la Reproducción.....	4
1.2.2 Hormonas Hipotalámicas.....	4
1.2.3 Hormonas Hipofisarias Gonadotróficas.....	5
1.2.4 Hormonas Gonadales .....	7
1.2.5 Hormonas Esteroidales gonadales .....	7
1.2.6 Hormonas Uterinas .....	9
1.3 CONTROL ENDOCRINO DEL CICLO ESTRAL .....	10
1.3.1 Control de la Secreción de Gonadotrofinas, Eje Hipotalámico Hipofisiario Gonadal Uterino .....	11
1.3.2 Fases del Ciclo Estral Bovino .....	12
1.4 DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA EN EL GANADO BOVINO .....	18
1.4.1 Dinámica Folicular durante el Ciclo Estral del Bovino Adulto.....	18
1.4.2 Interrelación Endócrinas y Foliculares durante el Ciclo Estral Bovino.....	18
1.5 BIOLOGÍA CELULAR DE LA FOLICULOGÉNESIS BOVINA .....	21
1.5.1 Ovogénesis y Foliculogénesis en la Fase Prenatal.....	21
1.5.2 Proceso de la Foliculogénesis .....	21
1.6 ANATOMÍA FUNCIONAL DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MACHO .....	23
1.6.1 Vesícula Seminal .....	23
1.6.2 Próstata .....	24
1.6.3 Glándulas Bulbo Uretrales .....	24
1.6.4 Pene .....	24
1.6.5 Prepucio.....	24
1.7 EXAMEN DE LAS CONDICIONES REPRODUCTIVAS DEL MACHO .....	25
1.7.1 Examen Físico .....	25
1.7.2 Circunferencia Escrotal.....	26
1.7.3 Examen Rectal.....	26
1.7.4 Conducta Copulativa.....	26
1.7.5 Valoración del Semen.....	27
1.8 ALTERACIONES DE LA OVULACIÓN MUERTE EMBRIONARIA .....	27

1.8.1	Disfunciones Ováricas .....	27
1.8.2	Anestro .....	27
1.8.3	Anormalidades Ováricas .....	28
1.8.4	Incapacidad Ovulatoria .....	28
1.9	TRASTORNOS DE LA FECUNDIDAD .....	29
1.9.1	Incapacidad de Fertilización .....	29
1.9.2	Fecundidad Atípica .....	31
1.10	PERDIDA DE LA PREÑEZ.....	31
1.10.1	Mortalidad Embrionaria .....	32
1.11	PRINCIPALES ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS.....	34
1.11.1	Campylobacteriosis Genital Bovina .....	34
1.11.2	Leptospirosis Bovina .....	35
1.11.3	Brucelosis Bovina .....	35
1.11.4	Diarrea Viral Bovina (DVB) .....	36
1.11.5	Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).....	36
1.12	REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	37
1.12.1	Sexado de Semen .....	37
1.12.2	Inseminación Artificial .....	38
1.12.3	Transferencia de Embriones .....	40
1.12.4	Clonación .....	41
1.13	SINCRONIZACIÓN DE CELO .....	41
1.13.1	Utilización de Hormonas .....	41
1.14	TÉCNICAS HORMONALES DE SINCRONIZACIÓN .....	42
1.14.1	Prostaglandinas .....	42
1.14.2	Sistema Celo-Synch .....	43
1.14.3	Sistema Ov-Synch .....	43
1.14.4	Sistema Co-Synch .....	43
1.14.5	Progesterona .....	43
1.15	TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL .....	46
1.16	MANEJO DE LOS MACHOS.....	47
1.16.1	Colección de Semen .....	47
1.16.2	Evaluación del Semen .....	48
1.17	DIAGNOSTICO DE PREÑEZ EN BOVINOS.....	52
1.17.1	No Retorno al Estro .....	52
1.18	MÉTODOS CLÍNICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE PREÑEZ.....	53
1.18.1	Exploración Rectal .....	53
1.18.2	Ultrasonografía .....	53
1.19	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA) .....	54
1.20	SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF) .....	56
1.21	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF) .....	57
1.21.1	Algunos Resultados con IATF.....	61

<b>CAPITULO II</b> .....	<b>64</b>
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>64</b>
2.1 MATERIALES.....	64
2.2 REACTIVOS.....	64
2.3 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	65
2.3.1 Ubicación Geográfica.....	65
2.3.2 Condiciones Climáticas.....	65
2.4 METODOLOGÍA.....	65
2.5 VARIABLES ANALIZADAS .....	71
2.5.1 Evaluación del Semen .....	71
2.5.2 Condición Corporal (CC).....	71
2.5.3 % de Fecundidad al 1º Servicio .....	71
2.5.4 Análisis de Costos .....	72
<b>CAPITULO III</b> .....	<b>73</b>
<b>3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>73</b>
3.1 EVALUACIÓN DEL SEMEN.....	73
3.1.1 Hacienda Pacahuan.....	73
3.1.2 Hacienda Chañag .....	73
3.2 CONDICIÓN CORPORAL.....	74
3.3 FECUNDIDAD AL PRIMER SERVICIO (%).....	74
3.3.1 Hacienda Pacahuan.....	74
3.3.2 Hacienda Chañag .....	76
3.4 ANÁLISIS DE INFLUENCIA SIGNIFICATIVA CON REGRESIÓN LOGÍSTICA.....	79
3.5 TEST EXACTO DE FISHER y $X^2$ (CHI CUADRADO) .....	81
3.6 ANÁLISIS DE COSTOS .....	83
<b>CAPITULO IV</b> .....	<b>85</b>
<b>4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>85</b>
4.1 CONCLUSIONES.....	85
4.2 RECOMENDACIONES .....	86
<b>Referencias</b> .....	<b>87</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>88</b>

## INTRODUCCIÓN

En la ganadería bovina como en los otros proyectos pecuarios, la eficiencia reproductiva es un factor muy importante que determina la rentabilidad del proceso. La reproducción no es un proceso fisiológico independiente, todo lo contrario, es la respuesta a la adecuada interacción de entre otros factores como son la nutrición, sanidad, manejo y clima. Si alguno o varios de estos factores fallan o no cubren las necesidades mínimas para el bienestar del animal o del hato en general, lo primero que se verá afectado es la reproducción en la misma magnitud que sea la alteración de estos factores. La primera falla reproductiva será el anestro, luego podrá registrarse fallas ovulatorias, muerte embrionaria, abortos, etc.

El propósito reproductivo de todo ganadero o técnico será lograr un promedio de intervalo entre partos no superior a los 400 días. Para alcanzar esta meta, y considerando que la duración de la gestación es una constante, entonces el aspecto determinante será los días abiertos que deben ser menores de 120. Este constituye tal vez el reto más importante y crítico en la ganadería, pues el período pos parto es crítico especialmente en la vaca lechera por todos los eventos fisiológicos, metabólicos, inmunológicos y de estrés al que está sujeto el animal a consecuencia de su máxima producción láctea.

En la actualidad debido al conocimiento científico y disponibilidad de hormonas, se han propuesto e implementado muchos protocolos o técnicas reproductivas para mejorar la fecundidad y fertilidad del hato.

Sin embargo, el alto costo de las pajuelas utilizadas hoy en día para la mejora genética, así como el uso del toro con monta directa, pueden ser limitantes para conseguir un adecuado índice reproductivo.

En esta investigación se pretende elaborar un diluyente estable y equilibrado como para obtener una fertilidad aceptable para el productor y un alto

porcentaje de viabilidad para los espermatozoides, tanto a nivel de la pajuela como a nivel del tracto reproductivo de la hembra, y a un costo relativamente más bajo que las pajuelas que usan hoy en día, con una calidad igual o mayor que las mismas.

## **OBJETIVOS:**

- **Objetivo general:**

- Análisis de fecundidad en hembras bovinas inseminadas a tiempo fijo con semen fresco.

- **Objetivos específicos:**

- Determinar el porcentaje de fecundidad al primer de las vacas sincronizadas e inseminadas a tiempo fijo con semen fresco.
- Establecer un protocolo adecuado para el procesamiento y evaluación del semen fresco a ser utilizado en el ensayo.
- Determinar los costos totales de las pajuelas y del proceso de sincronización.
- Hacer un análisis comparativo en los aspectos técnicos y económicos, sobre las metodologías utilizadas.

# CAPITULO I

## 1 MARCO TEÓRICO

### 1.1 BOVINOTECNIA

El Ecuador cuenta con una ganadería bovina distribuida por todo su territorio y además representa un potencial privilegiado para la alimentación humana.

El país está situado en la zona ecuatorial, con una topografía variada, posee todos los climas y un enorme cantidad de zonas agro ecológicas, con diversidad de grupos humanos y valores culturales, variadas técnicas de manejo, sistemas de comercialización, falta de cooperativismo, poco apoyo gubernamental tanto técnico como financiero, variabilidad en razas y cruzamientos indiscriminados. Todo esto revela la complejidad que existe en la ganadería bovina y su desarrollo.

En su origen, la ganadería bovina se caracterizó por animales doble propósito, los cuales llegaron al país sin selección, tuvieron que sufrir un largo proceso de adaptación, selección natural y, con el tiempo fueron mejorando hacia la producción de leche o carne mediante el cruzamiento con razas especializadas y posterior selección de animales promisorios.

En el presente siglo empiezan a llegar razas selectas de carne y leche, las cuales se cruzaron con las razas criollas y en la mayoría de los casos, las absorbieron llegando a perderse casi por completo hoy en día, especialmente en la región costa. En la sierra. Importaciones esporádicas desde 1906 especialmente de animales de raza Holstein empezó a predominar.

En 1942 se creó la Asociación Holstein del Ecuador y con ello el mejoramiento de la lechería, con importación de animales, tecnología y posteriormente la Inseminación Artificial. (Vela, D. 2009)

## **1.2 FISIOLÓGÍA DEL CICLO ESTRAL BOVINO**

### **1.2.1 El Hipotálamo, la Hipófisis y Hormonas de la Reproducción**

El hipotálamo se encuentra en la base del cerebro, está delimitado anteriormente por el quiasma óptico y posteriormente por los cuerpos mamilares; la glándula hipófisis se encuentra por debajo del hipotálamo en una depresión del hueso esfenoides denominada silla turca. En el embrión, la hipófisis se forma en el ectodermo visceral en la superficie superior de la boca y en el ectodermo neural del hipotálamo en desarrollo; este origen se mantiene hasta el adulto, debido a que las dos principales divisiones se mantienen como entidades independientes, hipófisis anterior o adenohipófisis y la hipófisis posterior o neurohipófisis. (Catalani, 2004)

Existe una conexión vascular única entre el hipotálamo y la hipófisis anterior. La sangre llega a esta por la arteria hipofisaria superior (AHS) y por la arteria hipofisaria inferior (AHI). La AHS forma vasos capilares en el hipotálamo. De estos capilares, la sangre fluye hacia los vasos portales hipotálamo-hipofisario, los cuales pasan al tallo hipofisario y terminan en capilares en la hipófisis anterior. El sistema porta hipotalámico-hipofisario es la vía vascular que transporta hormonas hipotalámicas a la hipófisis anterior. La AHI transporta sangre a la hipófisis anterior y posterior. No solo existe flujo del hipotálamo a la hipófisis; también parte del flujo venoso de la hipófisis anterior lleva un flujo retrógrado hacia el hipotálamo. La importancia fisiológica de estos datos se debe a que están asociadas a un mecanismo de regulación por retroalimentación negativa del hipotálamo por las hormonas hipofisarias. (Catalani. 2004)

### **1.2.2 Hormonas Hipotalámicas**

- a) Oxitocina: y la ADH son dos hormonas peptídicas que se sintetizan en el hipotálamo y se almacenan en la neurohipófisis, en los núcleos supra

óptico y paraventricular del hipotálamo y solo se liberan en la neurohipófisis. Se sintetizan junto con las proteínas transportadoras llamadas neurofisinas. El complejo de neurofisina y oxitocina es transportado en pequeñas vesículas envueltas en una membrana, estas fluyen hacia abajo, vía los axones nerviosos hipotálamo-hipofisiario, y se almacenan en las terminales nerviosas próximas a los lechos vasculares en la neurohipófisis hasta que se liberen a la circulación. (Catalani, P. 2004)

b) La vida media de la oxitocina es muy corta (menos de 5 minutos) ya que es degradada rápidamente por las endopeptidasas del hígado y riñón. Las funciones fisiológicas de la oxitocina son: contracción de la musculatura uterina y modificación de los umbrales e excitabilidad del miometrio en el útero. Durante el parto actúa en la expulsión del feto, la contracción de los vasos umbilicales y la contracción del útero después del parto para asegurar la hemostasia. También en la contracción del oviducto que ayuda al transporte de los gametos femeninos y masculinos. También se produce oxitocina en el cuerpo lúteo donde interviene en el proceso de luteólisis. (Catalani, P. 2004)

c) Hormonas liberadoras de las gonadotropinas (GnRH)

Son un decapeptido que induce la liberación tanto de hormona luteinizante (LH) como de la hormona folículo estimulante (FSH) a partir de la Hipófisis; durante el ciclo estral es secretada en pulsos. (Catalani, P. 2004)

### **1.2.3 Hormonas Hipofisiarias Gonadotróficas**

La adenohipófisis secreta tres tipos de hormonas Gonadotróficas: Folículo estimulante, luteinizante y prolactina. (Catalani, P. 2004)

### **a) Hormona Folículo estimulante (FSH)**

Es una glicoproteína formada por dos subunidades diferentes denominadas alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ), se requiere la combinación de las dos subunidades para brindar la adecuada estructura terciaria para el reconocimiento de la unión FSH- receptor en la gónada. La vida media de la FSH es de 2 a 5 horas. En la hembra la FSH estimula el crecimiento de los folículos en el ovario y participa junto con la LH estimulando la síntesis de estradiol en el folículo en desarrollo. Las células de la granulosa son las que poseen el receptores para la FSH y producen además de estradiol otra hormona llamada inhibina que actúan juntas suprimiendo la liberación de FSH por la hipófisis. (Catalani, P. 2004)

### **b) Hormona luteinizante (LH)**

Es una glicoproteína compuesta por una subunidad alfa ( $\alpha$ ) y otra beta ( $\beta$ ), tiene una vida media de 30 minutos. Los niveles basales de LH actúan con la FSH para inducir la secreción de estrógenos de los folículos ováricos. Las células de la teca interna contienen receptores de LH y mediante su estímulo producen andrógenos, estos pasan a través de la membrana basal a las células de la granulosa, donde mediante la acción de la FSH se induce la aromatización de estos andrógenos para transformarse en estrógenos que son liberados al antro folicular y de ahí a la circulación. El pico preovulatorio de LH induce una cadena de reacciones enzimáticas que terminara con la ruptura de la pared folicular y la ovulación, también inducirá la activación del ovocito para que continúe con la meiosis u estimulara la formación del CL. (Catalani, P. 2004)

### **c) Prolactina**

Es una proteína. La prolactina interviene en la lactación y aparentemente actúa a nivel del sistema nervioso central e induce el comportamiento materno. (Catalani, P. 2004)

### 1.2.4 Hormonas Gonadales

#### a) Relaxina

Es una hormona polipeptídica que consta de subunidades alfa y beta conectadas por dos enlaces disulfuro. Es secretada por el CL del ovario durante la preñez. La principal acción biológica de la relaxina es la dilatación del cérvix y la vagina antes del parto. También inhibe las contracciones uterinas y provoca un incremento en el crecimiento de la glándula amarilla si se le aplica junto con estradiol. (Catalani, P. 2004)

#### b) Inhibina

Es una hormona proteica producida por las células de Sertoli en el macho y las células de la granulosa en la hembra. Formada por dos cadenas una alfa y otra beta. A su vez la cadena beta tiene dos formas conocidas como beta-A y beta-B. La Inhibina A esta formada por la combinación de las cadenas alfa con la beta-A, mientras que la Inhibina B por la combinación de las cadenas alfa con la beta-B. Tanto la Inhibina A como la B inhiben la secreción de FSH de la hipófisis, sin alterar la liberación de LH. Por el contrario cuando se combinan dos cadenas beta forman una proteína llamada activina, que estimula la secreción de FSH. (Catalani, P. 2004)

### 1.2.5 Hormonas Esteroidales gonadales

No solamente se secretan por el ovario y los testículos, sino también por la placenta y la corteza suprarrenal. Los esteroides tienen un núcleo básico o común llamado ciclo pentano-perhidro-fenantreno. Se puede predecir la actividad biológica de un esteroide a partir del número de carbonos presentes. Un esteroide de 18 carbonos tendrá actividad estrógena; uno de 19 carbonos, andrógena, y uno de 21 carbonos tendrá propiedades de progestágeno. (Catalani, P. 2004)

### **a) Estrógenos**

El principal estrógeno que se secreta en el ovario es el estradiol-17 $\beta$ . La producción de estradiol por parte del folículo es un proceso en el que intervienen tanto las células de la teca y de la granulosa con el aporte de la LH y FSH en el mecanismo llamado de dos células, dos gonadotrofinas. Los estrógenos muestran las funciones fisiológicas más variadas: actúan en el sistema nervioso central para inducir en el comportamiento de estro en la hembra. La expresión del celo en la vaca es un fenómeno en el que interviene el incremento de los niveles circulantes de estradiol producido por el folículo preovulatorio como los niveles decrecientes de progesterona debido a la luteólisis. (Catalani, P. 2004)

Los estrógenos actúan en el útero haciendo que aumente la masa del endometrio y del miometrio. Tal aumento se debe a una hiperplasia celular y a una hipertrofia. Los estrógenos estimulan el desarrollo de las características sexuales de la hembra. (Catalani, P. 2004)

Los estrógenos ejercen efecto de retroalimentación negativa y positiva en el control de la liberación de LH y FSH, a partir del eje hipotalámico-hipofisiario. El efecto de retroalimentación positiva y negativa está íntimamente correlacionada con los niveles de progesterona circulante. Durante la fase luteal, es decir cuando tenemos un CI funcional y altos niveles de progesterona circulante, el efecto del estrógeno sobre las gonadotrofinas es negativo, en cambio, en la fase folicular (luego de la luteólisis y cuando nos aproximamos al celo), al no haber concentraciones altas de progesterona en sangre el estrógeno induce la liberación (pico preovulatorio) de LH y FSH. (Catalani, P. 2004)

### **b) Progestágenos**

La progesterona es el progestágeno que se presenta en mayor cantidad de forma natural, y es secretada por las células del CL, la placenta y las

glándulas adrenales. La progesterona es transportada en la sangre por una globulina (CBG). La regulación de la secreción de la progesterona en la vaca es estimulada principalmente por la LH, aunque se ha visto que también participa la FSH, factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I) y las prostaglandinas E2 e I2. (Catalani, P. 2004)

La función de la progesterona es la de preparar el útero para la implantación y el mantenimiento de la preñez mediante el aumento de las glándulas secretoras del endometrio y la inhibición de su motilidad. Actúa en forma sinérgica con los estrógenos para inducir el comportamiento del estro en la vaca. Hace que se forme el tejido secretor (alveolos) de la glándula mamaria. (Catalani, P. 2004)

### **1.2.6 Hormonas Uterinas**

#### **a) Prostaglandinas**

No se localizan en ningún tejido en particular. La mayor parte de ellas actúan localmente en el sitio en donde son producidas, por medio de una acción parácrina aunque también se pueden transportar en la sangre, para actuar en un tejido blanco. (Catalani, P. 2004)

En general las concentraciones sanguíneas de prostaglandinas son bajas, pero se elevan en ciertas condiciones como en el caso del parto. (Catalani, P. 2004)

Todas las prostaglandinas son ácidos grasos no saturados, de 20 carbonos. El ácido araquidónico es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular, la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) y la prostaglandina E2 (PGE2). (Catalani, P. 2004)

La PGF2 $\alpha$  tiene propiedades luteolíticas en animales domésticos. El mecanismo durante el cual la PGF2 $\alpha$  llega del endometrio del útero al

ovario en los rumiantes es único, ya que esta prostaglandina difunde de las paredes de la vena útero-ovárica a la arteria ovárica y de ahí directamente al CL. (Catalani, P. 2004)

Si el animal queda gestante, algunas señales (proteína trofoblástica bovina) son enviadas del embrión al útero para evitar la liberación de  $PGF2\alpha$  lo que permite que el CL del ciclo se convierta en el CL de la preñez. (Catalani, P. 2004)

La  $PGF2\alpha$  estimula las contracciones uterinas, desempeña una función en el transporte de los espermatozoides, tanto en la hembra como en el macho y provoca constricción de los vasos sanguíneos. (Catalani, P. 2004)

La  $PGE2$ , actúa durante el parto estimula la contracción del útero, dilata el cérvix y los vasos sanguíneos y no tiene acción luteolítica en realidad se cree que es luteotrófica. (Catalani, P. 2004)

### **1.3 CONTROL ENDOCRINO DEL CICLO ESTRAL**

El perfeccionamiento de técnicas utilizando radioinmunoensayos (RIA), para monitorear los cambios de concentraciones de las hormonas y sus receptores, así como la ultrasonografía, para la evaluación de los cambios morfológicos experimentado en los últimos 10 años, han permitido sin duda un mayor entendimiento de los procesos reproductivos en el bovino. La vaca es un animal poliéstrico anual (cicla todo el año) y cada ciclo dura entre 17 y 23 días. El celo dura entre 6 y 18 hs y la ovulación tiene lugar 24 a 30 hs de comenzado el celo. Después de la ovulación el CL se desarrolla y la concentración plasmática de progesterona aumenta entre el día 4 y 12 del ciclo para permanecer constante hasta la luteólisis, que ocurre entre los días 16 a 20. Todos estos cambios están regulados por una delicada interacción entre las hormonas secretadas principalmente en el hipotálamo, la hipófisis, las gónadas

(ovarios) y el útero, y constituyen lo que se conoce como **eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal-uterino**. (Catalani, P. 2004)

### **1.3.1 Control de la Secreción de Gonadotrofinas, Eje Hipotalámico Hipofisiario Gonadal Uterino**

La hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH) induce la liberación de LH y FSH tanto *in vivo* como *in vitro*. La GnRH es un decapeptido producido en los núcleos secretores de las neuronas en las porciones medio-basal y anterior del hipotálamo (núcleo arcuato) y es secretada en los vasos portales hipofisarios para alcanzar las células secretoras de gonadotrofinas de la adenohipófisis. (Catalani, P. 2004)

La actividad neural del SNC (hipotálamo) provoca pulsos de liberación de GnRH de neuronas neurosecretoras especializadas. Cada pulso de GnRH libera un pulso de LH/FSH, cada pulso de LH produce un pulso de secreción de estradiol folicular. Estos pequeños pulsos inducen una retroalimentación negativa al hipotálamo, especialmente ante la presencia de progesterona durante la fase luteal, inhibiendo la liberación de GnRH y por lo tanto, la liberación de LH/FSH, y regulando la secreción de estradiol. (Catalani, P. 2004)

Este mecanismo de retroalimentación negativa cambia substancialmente cuando las concentraciones de progesterona disminuyen durante la luteólisis. En este momento, la retroalimentación negativa de progesterona sobre la LH se retira y se eleva la concentración de LH en plasma o suero como resultado del aumento de la frecuencia de los pulsos. El aumento en la frecuencia de los pulsos de LH estimula la producción de estradiol por parte del folículo dominante preovulatorio en desarrollo, el cual alcanza un pico con niveles suficientes para accionar las descargas preovulatorias de LH y FSH a través de un mecanismo de retroalimentación positiva, actuando probablemente, sobre el hipotálamo y la pituitaria. (Catalani, P. 2004)

### **1.3.2 Fases del Ciclo Estral Bovino**

Para facilitar la comprensión de los mecanismos de control para hacer un análisis detallado de las interacciones endocrinas, es conveniente dividir al ciclo estral en 3 etapas:

- a) Fase folicular o de regresión luteal.
- b) Fase periovulatoria.
- c) Fase luteal.

#### **a) Fase folicular o de regresión luteal**

Esta comienza con la luteólisis, en el cual las concentraciones de progesterona en sangre decaen abruptamente. La caída de las concentraciones de progesterona elimina la retroalimentación negativa sobre la secreción de gonadotrofinas. Consecuentemente, aumenta la frecuencia de los pulsos de LH y, en menor grado, la de FSH. En esta fase, la hipófisis secreta aproximadamente 1 pulso de LH cada 60 minutos. (Catalani, P. 2004)

El incremento en la frecuencia de pulsos de LH estimula el desarrollo del folículo dominante, que secreta cantidades crecientes de estradiol. En grado de desarrollo folicular al momento de la luteólisis determina el tiempo que transcurre hasta que un folículo completa su crecimiento y es capaz de producir cantidades suficientes de estradiol como para iniciar el celo y la descarga preovulatoria de LH. (Catalani, P. 2004)

#### **b) Fase periovulatoria**

Durante este periodo se producen importantes fenómenos: inicio del celo, onda preovulatoria de gonadotrofinas y ovulación. El intervalo entre el inicio de la luteólisis y el comienzo del celo es de 58-60 hs

aproximadamente. Los niveles de estradiol aumentan desde la regresión luteal hasta alcanzar niveles máximos el día previo al inicio del celo. Dicha elevación del estradiol provoca el comportamiento propio del celo e induce la descarga preovulatoria de LH. Esta, tiene una duración de 6-10 hs, se inicia junto con el celo y alcanza su pico 4-5 hs más tarde. Durante el pico preovulatorio, la descarga de LH sigue un patrón pulsátil. (Catalani, P. 2004)

Las funciones principales de la LH son, la estimulación de la maduración folicular, la activación del ovocito para que continúe con la meiosis (se encuentra en profase I, ovocito I) y el mantenimiento del CL. La descarga preovulatoria de LH ocurre al comienzo del estro, concurrentemente con el pico de la FSH. Generalmente la ovulación ocurre entre 24-30 hs después del comienzo de las descargas preovulatorias de LH y FSH. (Catalani, P. 2004)

El pico preovulatorio de LH produce a nivel ovárico un aumento del riego sanguíneo, se disocia el *cumulus oophorus* y en consecuencia se deja de inhibir la meiosis y se elimina el primer corpúsculo polar. Se produce un aumento y un cambio en la secreción de esteroides que se manifiesta por un aumento de la síntesis de progesterona. Este produce edema y además, estimula la colagenasa de la teca que comienza a degradar el tejido conectivo que separa el folículo de la superficie ovárica y se inicia la formación del estigma (área extremadamente delgada del ápice folicular). (Catalani, P. 2004)

Otro cambio que se produce es el aumento de los niveles de PGE2 y PGF2 $\alpha$ . La PGE2 estimula el activador del plasminógeno que transforma el plasminógeno en plasmina, que es una enzima proteolítica. Esta enzima sumada a las enzimas lisosomales, liberada por la ruptura de los lisosomas por acción de la PGF2 $\alpha$ , culminan con la formación del estigma. Posteriormente, las contracciones ováricas provocadas por la

PGF2 $\alpha$  producen la ruptura del folículo, el cual se contraerá por la misma PGF2 $\alpha$  y expulsará el ovocito. (Catalani, P. 2004)

Después de la descarga preovulatoria, no se detectan pulsos de LH durante 6-12 hs, lo que refleja el agotamiento del contenido hipofisiario de esta hormona. Sin embargo la secreción de FSH continúa y se produce un segundo pico de la misma que se debería a la remoción del efecto de retroalimentación negativa de la Inhibina al destruirse su fuente de producción (folículo) al producirse la ovulación. (Catalani, P. 2004)

### c) Fase Luteal

Después de la ovulación, las concentraciones de progesterona comienzan a elevarse en los días 3 ó 4, alcanzan un pico entre los días 8 y 12, y luego disminuyen hasta concentraciones basales antes del próximo estro, como respuesta a la secreción uterina de PGF2 $\alpha$  y en ausencia de un embrión viable en el útero. Durante este período hay determinados hechos que vale la pena mencionar y tienen que ver con la formación del CL y la dinámica folicular ovárica. (Catalani, P. 2004)

#### ➤ Formación del Cuerpo Lúteo

Después de la ovulación, la cavidad del folículo ovulatorio es invadida por células que proliferan de la capa de la granulosa y de la teca. Los capilares y las membranas basales se ven alteradas en la ovulación y permiten de esta manera que las células de los capilares y de la teca penetren en la cavidad del folículo. Las células de la teca y la granulosa se diferencian (luteinizan) en células luteales que forman el CL. Las células de la teca se convierten en células de menor diámetro, conocidas como **células luteales pequeñas**. Las células de la granulosa se convierten en células luteales de mayor tamaño llamadas **células luteales grandes**. Ambos tipos secretan

progesterona, pero las pequeñas células parecen poseer casi todos los receptores de LH. Las células grandes poseen casi todos los receptores para PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2</sub> $\alpha$ . (Catalani, P. 2004)

### ➤ **Dinámica folicular ovárica**

Durante el ciclo estral del bovino los folículos se desarrollan y regresan en procesos ordenados llamados **ondas foliculares**. Se han descrito animales con dos, tres o cuatro ondas de desarrollo folicular en el ciclo estral. Cada onda consiste en el desarrollo de un grupo de folículos de 4 a 5 mm seguidos por la selección de uno de ellos, llamado dominante, que induce la regresión de los otros folículos, llamados subordinados. Generalmente, la primera onda comienza en el día de la ovulación, mientras que la segunda, tercera y cuarta onda comienza en momentos muy variables. El folículo preovulatorio tiene aproximadamente 16 a 20 mm de diámetro y la ovulación generalmente ocurre entre 24 a 30 hs de comenzado el celo (24 a 30 hs del pico de LH). (Catalani, P. 2004)

La dinámica folicular ovárica está regulada principalmente por la glándula pituitaria anterior, que controla la función ovárica a través de la síntesis y secreción de LH y FSH. La función principal de la FSH es estimular el crecimiento de ondas de folículos antrales.

La concentración de FSH en suero o plasma aumenta hasta un pico 1 ó 2 días antes del comienzo de una onda. Hay un gran pico o descarga de FSH en el estro (junto con el pico de LH) y un pico más pequeño y secundario alrededor de 24 hs más tarde, que es la clave para iniciar la primera onda de crecimiento folicular. Se sabe que la secreción de FSH es modulada principalmente por el estradiol y la Inhibina producidos principalmente por el folículo dominante. (Catalani, P. 2004)

El principal estrógeno secretado en el ovario es el estradiol-17 $\beta$ . La producción de estradiol por parte del folículo es un proceso en el que intervienen tanto las células de la teca y de la granulosa con el aporte de la LH y FSH en un mecanismo llamado de dos células dos gonadotrofinas. (Catalani, P. 2004)

Cuando el folículo dominante cree la acción de la FSH, estradiol y otros factores de crecimiento inducirán además la síntesis de receptores para la LH en la célula de la granulosa, aumentando aun más la producción de andrógenos que luego son transformados en estrógenos por parte del folículo dominante y se cree que es uno de los puntos crítico en la selección del folículo dominante. Los niveles de estradiol circulante durante el ciclo estral están correlacionados con el diámetro del folículo dominante; se ha comprobado que el folículo dominante produce de 500 a 1000 veces más estrógeno que los subordinados. (Catalani, P. 2004)

#### ➤ **Secreción pulsátil de LH y FSH**

La LH es secretada en una serie de pulsos y que esa frecuencia de pulsos es programada por pulsos individuales de GnRH que secreta el hipotálamo en varios intervalos en los vasos portales hipofisarios. La frecuencia de pulsos cambia según el estadio del ciclo estral y está en relación a los cambios de las concentraciones de los esteroides ováricos. (Catalani, P. 2004)

Durante la fase luteal (domina la progesterona), los pulsos de LH son de baja frecuencia (1 cada cuatro horas o menos), mientras durante la fase folicular, antes del pico de LH, (ante la ausencia de progesterona) aumenta la frecuencia de pulsos de LH (hasta uno o más por hora) y tiende a ser de menor amplitud. (Catalani, P. 2004)

### ➤ Luteólisis

La secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por el útero causa la regresión del CL y consecuentemente finaliza la fase luteal. Después de aproximadamente 14 días bajo la influencia de la progesterona secretada por el CL, el endometrio secreta pulsos de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (cada uno dura aproximadamente seis hs.) por un total de aproximadamente 36 hs. En los rumiantes la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  llega al ovario a través de una difusión local arteria venosa también llamada mecanismo de contracorriente. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pasa de la vena útero-ovárica hacia la arteria ovárica con la cual se encuentra en íntima relación. (Catalani, P. 2004)

El estradiol proveniente del folículo dominante interactúa con los receptores endometriales e inducen la síntesis de receptores para la oxitocina. Luego la oxitocina circulante se une a sus receptores, activa la fosfolipasa A, libera ácido araquidónico e induce la cascada sintética de araquidónico que llevará a la producción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  uterina. Como dijimos anteriormente la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sale del útero por el sistema venoso y entra en el ovario por el sistema arterial, estimula a su vez la liberación de oxitocina por el CL y esta oxitocina luteal induce una mayor secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por el endometrio y establece un feed back positivo entre ambas hormonas que conduce al aumento de los niveles de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  con la consecuente destrucción del CL. Este mecanismo de retroalimentación positiva de la oxitocina del CL al útero y de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  del útero hacia el CL sirve probablemente como un mecanismo para asegurar que la luteólisis ocurra. (Catalani, P. 2004)

## **1.4 DINÁMICA FOLICULAR OVÁRICA EN EL GANADO BOVINO**

### **1.4.1 Dinámica Folicular durante el Ciclo Estral del Bovino Adulto**

Una onda de crecimiento folicular involucra el desarrollo sincrónico de un grupo de folículos individualmente identificables a partir de un diámetro de 4 mm, que ocurre al mismo tiempo en los dos ovarios. Durante aproximadamente 2 o 3 días todos los folículos crecen y uno de ellos es seleccionado, continúa creciendo y se convierte en folículo dominante, mientras que el resto de folículos, llamados subordinados, se vuelven atrésicos y regresan. El folículo dominante de la primera onda será anovulatorio, porque se desarrolla durante la fase luteal y tiene una fase de crecimiento (día 0 a 6), una fase aparentemente estática (día 6 a 12) y una fase de regresión (día 12 en adelante). (Catalani, P. 2004)

Independientemente del patrón de desarrollo folicular del ciclo, la primera onda de desarrollo folicular se detecta el día de la ovulación (día 0). La segunda onda comenzara el día 9 o 10 para los ciclos de 2 ondas y el día 8 o 9 en los ciclos de 3 ondas. En los ciclos de 3 ondas la tercera onda emerge en el día 15 o 16. (Catalani, P. 2004)

El CL comienza su regresión más temprano en los ciclos de 2 ondas (día 16) que en el de 3 ondas (día 19), afectando el intervalo interovulatorio. La duración del ciclo estral de la vaca depende principalmente de su patrón de desarrollo folicular para ser de 18 a 20 días (2 ondas) o de 21 a 23 días (3 ondas). En ambos casos, el folículo dominante en el momento que ocurre la luteólisis se forma en folículo ovulatorio. (Catalani, P. 2004)

### **1.4.2 Interrelación Endócrinas y Foliculares durante el Ciclo Estral Bovino**

El mecanismo que regula la dinámica folicular está basado en respuestas diferenciales de los folículos a la FSH y LH. Se ha demostrado que hay

incrementos de la concentración de FSH antes de la emergencia de cada onda. Esta descarga de FSH es aparentemente responsable del reclutamiento de los folículos de una onda folicular y comienza 2 días antes de la emergencia de una onda folicular, para llegar al pico máximo 1 día antes o el día de comienzo de la onda. También demostraron que alrededor del momento del celo hay dos picos de FSH que son muy difíciles de diferenciar porque están muy cercanos entre sí. El primer pico corresponde a la liberación de FSH que ocurre al mismo tiempo que el pico preovulatorio de LH y es inducido por la liberación de GnRH desde el hipotálamo. El segundo pico ocurre cerca del momento de la ovulación y es aparentemente el responsable del reclutamiento de los folículos de la primera onda folicular. (Catalani, P. 2004)

Al mismo tiempo que los perfiles de crecimiento del folículo dominante y el de los subordinados comienzan a diferenciarse (llamado momento de la desviación) la FSH declina rápidamente. Por lo tanto el término selección indica que un folículo de la onda será dominante y oportunamente ovulatorio y el término desviación es el cambio brusco en el rango de crecimiento de los folículos, el dominante comienza a crecer a un mayor rango y los subordinados cesan de crecer o lo hacen más lentamente. (Catalani, P. 2004)

Los niveles de FSH más bajos ocurren alrededor del momento de la desviación (día 2,5), cuando el folículo dominante alcanza 8,5 mm y el subordinado 7,2 mm. En este momento los niveles de FSH se encuentran por debajo de los niveles necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados que se atresian, mientras que el folículo dominante adquiere la habilidad de seguir creciendo con bajos niveles de FSH. Las hormonas producidas por los folículos en crecimiento, como el estradiol-17 $\beta$  y la Inhibina, actúan sistemáticamente para suprimir los niveles circulantes de FSH. La Inhibina es aparentemente secretada por todos los folículos en desarrollo mientras que el estradiol es producido principalmente por el folículo dominante. (Catalani, P. 2004)

La razón por la cual el folículo dominante puede crecer con bajos niveles de FSH mientras que los subordinados se atresian puede estar relacionado con la síntesis de receptores para la LH en las células de la granulosa del folículo dominante. Todos los folículos poseen receptores de LH en las células de la teca y de FSH en las células de la granulosa, pero solo el folículo dominante adquiere receptores de LH en las células de la granulosa. Los receptores de LH aumentan abruptamente a partir del día 4 de la onda, cuando el folículo dominante tiene más de 8 mm de diámetro. La LH se unirá a los receptores de las células de la granulosa estimulando una mayor producción de estradiol que le permitirá al folículo seguir creciendo aunque disminuya los niveles de FSH circulante. Por esta razón se dice que el folículo dominante mayor a 8 mm es LH dependiente. (Catalani, P. 2004)

Se conoce que la administración de altos niveles de progesterona altera el desarrollo del folículo dominante en el bovino. Estos altos niveles de progesterona no suprimen la liberación de FSH pero si afectan adversamente la frecuencia de los pulsos de LH. Por lo tanto, al aumentar los niveles de progesterona debido al crecimiento del CL durante la fase luteal, se altera la secreción pulsátil de LH y causa que el folículo dominante detenga sus funciones metabólicas y comience a regresar. Este cese de secreción de estradiol e Inhibina se produce antes de que se observe una disminución del diámetro del folículo dominante pero tiene como consecuencia el aumento de las concentraciones de FSH que va a reclutar los folículos de la siguiente onda folicular. Por el contrario, la disminución de los niveles circulantes de progesterona al ocurrir la luteólisis hacia el final del ciclo permite el incremento de la frecuencia de los pulsos de LH. Este aumento estimula un mayor crecimiento del folículo dominante y un aumento de las concentraciones de estradiol, que induce los signos de celo y el pico preovulatorio de LH. (Catalani, P. 2004)

## **1.5 BIOLOGÍA CELULAR DE LA FOLICULOGÉNESIS BOVINA**

La foliculogénesis es el proceso por el cual un rango de folículos, constante en la especie, y los ovocitos que estos contienen, maduran durante cada ciclo reproductivo.

### **1.5.1 Ovogénesis y Foliculogénesis en la Fase Prenatal**

El número de ovocitos presentes al nacimiento representa el total disponible durante la vida del animal. En el feto bovino, la ovogonia se desarrolla de las células primordiales germinales que han migrado hasta el ovario durante la embriogénesis temprana. La ovogonia prolifera alrededor del día 50 hasta el día 130 de la gestación en esta especie. Un proceso de degeneración ovogonial comienza alrededor del día 95 de la vida fetal y la mayoría de los ovocitos producidos durante este periodo (60 % o más) son eliminados del ovario antes del parto. (Catalani, P. 2004)

Un segundo evento de desarrollo comienza aproximadamente a los 80 días de la vida fetal cuando la ovogonia inicia la meiosis. Este proceso se detiene en todos los ovocitos en el estadio diploteno de la profase meiótica. Acompañado de estos cambios nucleares está la formación del folículo primordial, que consiste en el crecimiento del ovocito, la diferenciación de una capa de células aplanadas que lo envuelven conocidas como células de la granulosa, el establecimiento de la lamina basal rodeando la granulosa y la diferenciación de una capa de células de la teca exteriores a la lamina basal. (Catalani, P. 2004)

### **1.5.2 Proceso de la Foliculogénesis**

Los folículos primordiales inician su crecimiento y diferenciación en un proceso aparentemente continuo pero irreversible que es conocido como foliculogénesis.

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**. Su crecimiento al siguiente estadio, que es el **folículo secundario**, se completa por la proliferación de las células de la granulosa. Los folículos en estos dos estadios se describen como preantrales. (Catalani, P. 2004)

La formación de la cavidad del folículo, llamado antro, es su siguiente estadio de desarrollo. Los folículos antrales existen en el ovario bovino con un diámetro comprendido en el rango de 0,14 mm a 20 mm, la tasa de crecimiento folicular es muy lenta en los folículos antrales pequeños, requiriendo más de dos semanas para alcanzar el diámetro de 0,3 mm. El crecimiento de los folículos antrales grandes es rápido, su tasa más elevada parece ocurrir entre 1 y 2 mm de diámetro. (Catalani, P. 2004)

El crecimiento folicular después de la formación del antro es el resultado de dos procesos, ensanchamiento del antro y mitosis de la granulosa, con la gran mayoría e incremento de volumen debido al antro. Ireland y Roche, dividen el desarrollo postantral en tres fases, estas son, una fase de selección, durante la cual uno de los folículos en crecimiento “es seleccionado” para ser dominante; una fase de dominancia, en la cual el folículo dominante se desarrolla a expensas de los otros; y la fase ovulatoria o atresica, cuando el folículo dominante alcanza las dimensiones preovulatorias o sucumbe a la degeneración. (Catalani, P. 2004)

El periodo requerido desde la selección hasta la ovulación o atresia, varía dependiendo de la duración de la onda folicular. El desarrollo preovulatorio final, ocurre después del pico de secreción de LH y requiere unas 24 hs. El periodo total desde la formación del antro a la ovulación esta sobre el orden de los 60 días. Es importante recordar aquí que el ovocito del folículo preovulatorio se encuentra en el estadio de profase de la meiosis, también llamado periodo dictiático (profase I, ovocito I). El pico preovulatorio de LH

induce la continuación de la meiosis hasta la metafase II, ovocito II, estadio en el cual ovula y permanece así hasta que se contacta con el espermatozoide, en el momento de la fecundación y se transforma en ovocito maduro (comúnmente llamado óvulo). (Catalani, P. 2004)

## **1.6 ANATOMÍA FUNCIONAL DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MACHO**

Los testículos son órganos sexuales primarios, que tienen como funciones principales la producción de hormonas esteroides (función endocrina) y la producción de espermatozoides (función exocrina). Ambas funciones son reguladas por una interrelación entre hipotálamo, hipófisis y gónadas. (Vela, D. 2009)

La posición de los testículos en el escroto y la dirección en su eje longitudinal en relación con el cuerpo en los rumiantes son pendulosos con su eje longitudinal en posición vertical. El escroto a más de proteger al testículo, ayuda por medio de su túnica dartos, junto con el musculo cremaster y la disposición anatómica de la vena espermática (plexo pampiniforme) a mantener una temperatura adecuada para la espermatogénesis (termorregulación). (Vela, D. 2009)

Los órganos sexuales secundarios son los conductos excretores (epidídimo, conductos deferentes, ámpula y uretra), las glándulas accesorias, el pene y prepucio. El epidídimo tiene tres porciones, cabeza, cuerpo y cola, y se encarga del transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides. (Vela, D. 2009)

### **1.6.1 Vesícula Seminal**

Compuesta por lobulillos; la secreción de estas glándulas constituye cerca de la mitad del eyaculado y contiene todos los compuestos necesarios para la vida

de los nemaspermos, incluyendo la fructosa, ácido cítrico, proteínas, fosfolípidos, enzimas, sales, etc. Y tiene reacción ligeramente ácida. (Vela, D. 2009)

### **1.6.2 Próstata**

Tiene dos porciones el cuerpo y la porción diseminada. Durante la eyaculación, la próstata elimina un líquido opalescente que contiene ácido cítrico y algunas sales y, luego la espermina que le brinda al eyaculado el olor típico. (Vela, D. 2009)

### **1.6.3 Glándulas Bulbo Uretrales**

También llamadas glándulas de Cowper. Se localizan sobre la uretra cerca de la salida de la cavidad pélvica. La secreción de estas glándulas no forma parte del eyaculado ya que su función básicamente es la de limpiar y lubricar la uretra para el paso del eyaculado. (Vela, D. 2009)

### **1.6.4 Pene**

Es un órgano que tiene doble función: la expulsión de la orina y la del depósito del semen en el aparato genital de la hembra. El pene del rumiante es fibroelástico y los cuerpos cavernosos son menos desarrollados. Contienen una flexura característica (flexura sigmoidea ó "S" peneana), la cual se distienden por la relajación de los músculos retractores del pene durante la erección. (Vela, D. 2009)

### **1.6.5 Prepucio**

Es una estructura desarrollada a partir de la piel. Su función principal es la de producir el esmegma prepucial necesario para lubricar y proteger el pene. (Vela, D. 2009)

## **1.7 EXAMEN DE LAS CONDICIONES REPRODUCTIVAS DEL MACHO**

Esto se aplica al procedimiento usado para establecer la fertilidad potencial del macho.

La fertilidad de cualquier animal dado está sujeta a cambios por influencia ambientales, efectos estacionales, frecuencia de cópula u presencia de enfermedades. Las influencias ambientales más importantes son cambios repentinos en la provisión de alimentos y en las condiciones climáticas, la pérdida rápida de peso corporal, transporte de un lugar a otro y las enfermedades intercurrente. (Vela, D. 2009)

A continuación se indicara algunos puntos básicos para el examen del toro:

### **1.7.1 Examen Físico**

Debe hacerse antes de la recolección de semen. De esta manera los toros con características indeseables o anomalías pueden eliminarse. Inicialmente el animal debe observarse en estado de libertad en el campo o en el corral. Se nota su condición general, incluso el estado de nutrición, la condición de la capa, la masculinidad y la conformación. Se presta atención especial a la locomoción donde no debe haber principios de cojera. La conformación anormal de los miembros posteriores es especialmente perjudicial para un toro en monta natural. (Vela, D. 2009)

Se examina los genitales externos con cuidado y se palpa el pene a través de su vaina para exteriorizarlo manualmente. Se toma el glande con gasa de algodón. La protrusión del pene se facilita introduciendo la mano enguantada por el recto. En este momento se puede tomar muestras prepucales para diagnóstico de campylobacter y tricomonas. Se palpa el escroto y su contenido, notándose su posición y consistencia. El testículo normal es firme y elástico; las desviaciones fuera de la normalidad varían de una fibrosis externa

a una consistencia blanda y flácida. La consistencia y tamaño de los testículos son afectados por trastornos como la degeneración e hipoplasia testicular y la orquitis, que además provocan espermatogénesis anormal. (Vela, D. 2009)

### **1.7.2 Circunferencia Escrotal**

Esto se mide rodeando el cuello del escroto con la mano y usando los dedos para empujar los testículos en sentido ventral para eliminar los pliegues del escroto. Se coloca los testículos en posición ventral, uno ha lado del otro dentro del escroto, y se usan ambas manos para medir la circunferencia escrotal máxima. (Vela, D. 2009)

Los toros con testículos pequeños, tienden a producir una mayor proporción de espermatozoides anormales.

Los toretes de un año deben tener una circunferencia escrotal de no menos de 30 cm. (Vela, D. 2009)

### **1.7.3 Examen Rectal**

Se lo realiza durante el proceso de recolección de semen. Las anomalías de los órganos sexuales accesorios no son raras y frecuentemente se acompañan de semen de poca calidad. Si está presente un proceso inflamatorio activo, el eyaculado presenta leucocitos en número variable. (Vela, D. 2009)

### **1.7.4 Conducta Copulativa**

Se puede hacer observando al toro durante el servicio natural o durante la recolección del semen con vagina artificial. Se toma nota de la libido o sea el deseo de servir, de la protrusión y la rigidez del pene durante la búsqueda de la vulva, de los movimientos de búsqueda, el empuje eyaculatorio y la posición del cuerpo. Dicho examen determina la capacidad seminal del toro, es decir

que es capaz de servir normalmente y tiene deseos de hacerlo. Las anomalías que se observan son las desviaciones del pene, los defectos de la erección, trastornos de protrusión debido a adherencias, frenillo persistente, y defectos de la búsqueda y del empuje debido a anomalías del lomo, articulaciones o pezuñas. (Vela, D. 2009)

### **1.7.5 Valoración del Semen**

Debe comenzarse tan pronto sea posible luego de la recolección de la muestra. El laboratorio puede ser improvisado pero debe estar limpio y permitir controlar el ambiente para asegurar que la temperatura no afecte desfavorablemente al semen. Todas las superficies con las que el semen entren en contacto deben estar tibias (38°C) y libres de agua o sustancias tóxicas. (Vela, D. 2009)

Los principales aspectos que se va a valorar son: motilidad en masa, motilidad individual de cada célula espermática, concentración o densidad y morfología. (Vela, D. 2009)

## **1.8 ALTERACIONES DE LA OVULACIÓN MUERTE EMBRIONARIA**

### **1.8.1 Disfunciones Ováricas**

Los ovarios de los mamíferos desempeñan dos funciones primarias, la producción de óvulos y la secreción de hormonas ováricas. Estas funciones se relacionan íntimamente y están encaminadas hacia la reproducción exitosa. (Hafez, B. 2010)

### **1.8.2 Anestro**

El Anestro es un estado de completa inactividad sexual, sin manifestaciones de estrógeno. No es una enfermedad pero sí un signo de diversos trastornos, como por ejemplo: piometras, momificaciones las cuales mantienen el cuerpo lúteo lo que

no deja el retorno del ciclo estrual; lactación en el cual el estímulo de amamantamiento inhibe la secreción de gonadotropinas; ovarios quísticos lo que conlleva a una deficiencia de LH, GnRH o ambas; hipoplasia ovárica y freemartinismo lo que produce una incapacidad de producir estrógenos ováricos; deficiencias nutricionales y vitamínicas. Y otras causas también importantes como ninfomanía por quistes ováricos; subestro, estro silencioso (ovulación inadvertida) en vacas de alta producción. (Vela, D. 2009)

### **1.8.3 Anormalidades Ováricas**

Las anomalías ováricas que producen Anestro son de dos tipos:

- a) *Incapacidad de los ovarios para desarrollarse.* Los animales afectados tienen un aparato reproductor infantil y nunca presentan estro. La hipoplasia ovárica tiende a asociarse al color blanco del pelaje, el cual se hereda como un carácter autosómico recesivo. Las freemartins, son vaquillonas gemelas de machos, tienen ovarios poco desarrollados y no presentan estro. (Hafez, B. 2010)
  
- b) *Persistencia del CL relacionada con patología uterina.* Los trastornos incluyen piometras, mucómetra, momificación o maceración fetal en vacas. (Hafez, B. 2010)

### **1.8.4 Incapacidad Ovulatoria**

La incapacidad ovulatoria puede deberse a la incapacidad del folículo para ovular durante un ciclo normal, o a la presencia de quistes ováricos.

La enfermedad de los ovarios quísticos u “*ovarios quísticos*” es frecuente en vacas lecheras. La mayor parte de los quistes probablemente se desarrolla antes de la primera ovulación posparto, ya que se detecta más casos en vacas que se examinan a los 30 días posparto que después del apareamiento o del

comportamiento estrual anormal. Algunas vacas afectadas muestran intensa actividad de monta (ninfomanía), pero la mayor parte dejan de presentar estro. Uno o ambos ovarios contienen uno o más quistes grandes que exceden los 2,5 cm de diámetro. Estos pueden ser foliculares o del cuerpo lúteo. Los primeros experimentan cambios cíclicos, crecen e involucionan alternativamente, pero no ovulan. Los quistes lúteos contienen en un borde delgado de tejido luteínico, tampoco ovulan, y persisten por un periodo prolongado. (Hafez, B. 2010)

La causa puede ser una falla de secreción de LH. Esta falla no se debe a deficiencia o liberación de GnRH, sino más bien a insensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario a concentraciones elevadas de estradiol. (Hafez, B. 2010)

El desarrollo de quistes ováricos se ha relacionado con infecciones uterinas posparto. Las endotoxinas producidas por los microorganismos en el útero pueden activar la liberación de  $\text{PGF2}\alpha$ , que a su vez estimula la secreción de cortisol, cuyas concentraciones, al elevarse, suprimen la liberación preovulatoria de LH, e inducen el desarrollo de los quistes. (Hafez, B. 2010)

También se ha detectado este problema en vacas lecheras alimentadas con altos niveles de nutrientes.

## **1.9 TRASTORNOS DE LA FECUNDIDAD**

Entre los trastornos de la fecundidad se incluyen la incapacidad para la fertilización y la fecundidad atípica.

### **1.9.1 Incapacidad de Fertilización**

Esta puede deberse a muerte del ovulo antes de la entrada del espermatozoide, anomalía estructural y funcional de cualquiera de ambos

gametos, barrera física en el aparato genital femenino que impiden el transporte de los gametos al sitio de la fecundación o incapacidad ovulatoria. (Hafez, B. 2010)

**ÓVULOS ANORMALES.** Se ha observado varios tipos de anomalías morfológicas y funcionales en los óvulos no fecundados, por ejemplo, gigantismo, forma ovalada, forma lenticular y ruptura de la zona pelúcida. (Hafez, B. 2010)

**ESPERMATOZOIDES ANORMALES.** Algunas formas de infertilidad masculina se relacionan con el defecto estructural en el complejo DNA-proteína. El envejecimiento y el daño en los espermatozoides pueden causar:

- a) Las alteraciones en el casquete acrosómico pueden evitar que gametos masculinos (del macho) defectuosos fecunden el óvulo. (Hafez, B. 2010)
- b) Pérdida de constituyentes intracelulares vitales como cAMP o a la formación de peróxidos de lípidos a partir de plasmalógenos espermáticos cuando el espermatozoide se almacena en condiciones anaerobias. (Hafez, B. 2010)
- c) El envejecimiento en el aparato reproductor femenino (de la hembra) se acompaña de disminución gradual en la capacidad fecundante. (Hafez, B. 2010)

**BARRERAS ESTRUCTURALES PARA LA FECUNDACIÓN.** Los defectos congénitos o adquiridos del aparato reproductor femenino interfieren en el transporte del espermatozoide, el óvulo o ambos al sitio de la fecundación. (Hafez, B. 2010)

- a) Los defectos congénitos son el resultado de detención del desarrollo de los diferentes segmentos de los conductos de Müller (oviducto, útero y

cuello uterino) o de la función incompleta de estos conductos caudalmente. (Hafez, B. 2010)

b) Entre las anormalidades anatómicas comunes se incluyen las adhesiones del infundíbulo al ovario o a los cuernos uterinos; esto interfiere en la recepción del óvulo o causa obstrucción mecánica de una parte del sistema de conductos reproductivos. La ausencia bilateral o unilateral de segmentos del aparato reproductor también provoca esterilidad anatómica. (Hafez, B. 2010)

FITOESTROGENOS. Las vacas alimentadas con forrajes estrogénicos (trébol subterráneo y trébol rojo) en ocasiones padecen de su función ovárica, a menudo acompañado por reducción de la tasa de concepción y mayor pérdida embrionaria. (Hafez, B. 2010)

### **1.9.2 Fecundidad Atípica**

Esta puede ocurrir espontáneamente como resultado de envejecimiento de los gametos como se describe más adelante.

El envejecimiento del ovulo es gradual, y durante el se pierden sucesivamente diversas funciones. Un defecto temprano de dicho proceso es que el embrión resultante no es viable y se reabsorbe antes del nacimiento. Un mayor envejecimiento causa anormalidades en la fecundación, y afecta sobre todo al pronúcleo. Las reacciones biofísicas y bioquímicas asociadas a la entrada del espermatozoide en el ovulo se hacen más lentas, lo que incrementa la polispermia. (Hafez, B. 2010)

### **1.10 PERDIDA DE LA PREÑEZ**

La pérdida de la preñez es la responsable de la mayor parte de las fallas en la gestación de animales de granja. La pérdida de la preñez puede dividirse en mortalidad embrionaria y fetal. (Hafez, B. 2010)

La pérdida de la preñez puede ocurrir en distintas etapas:

- a) Antes del reconocimiento materno de la preñez, en cuyo caso no se afecta la duración del ciclo (mortalidad embrionaria temprana). (Hafez, B. 2010)
- b) Después del reconocimiento materno de la preñez, y está relacionado con una alteración en la longitud del ciclo (mortalidad embrionaria tardía). (Hafez, B. 2010)
- c) Durante la etapa fetal (mortalidad fetal). (Hafez, B. 2010)

### **1.10.1 Mortalidad Embrionaria**

El término mortalidad embrionaria se refiere a la muerte de óvulos fecundados y de embriones hasta el final de la implantación. La mortalidad es más común durante el periodo embrionario temprano que en el tardío. (Hafez, B. 2010)

La mortalidad embrionaria después de apareamiento natural o inseminación artificial, representa la mayor parte de los fracasos reproductivos en bovinos, con una tasa de mortalidad de hasta 40% del total de óvulos fecundados. (Vela, D. 2009)

En bovinos casi todas las muertes embrionarias ocurren entre los días 8 y 16 durante la liberación y la implantación del blastocito sin afectar la duración del ciclo. (Hafez, B. 2010)

*Causas:*

**FACTORES ENDOCRINOSE.** El transporte acelerado o lento del óvulo como resultado de desequilibrio entre estrógeno y progesterona causa la muerte embrionaria antes de su implantación. Un producto embrionario anormalmente

pequeño puede no ser capaz de contrarrestar el efecto luteolítico uterino, con la consecuente regresión del cuerpo lúteo y la terminación de la preñez. (Hafez, B. 2010)

**LACTACIÓN.** Durante la lactación en la vaca se observa mortalidad embrionaria que se caracteriza por ciclos estruales prolongados después del apareamiento. (Hafez, B. 2010)

**NUTRICIÓN DE LA HEMBRA.** El consumo calórico y deficiencias nutricionales específicas afectan las tasas de ovulación y de fecundación además de causar muerte prenatal. Asimismo los extremos tanto en el nivel de alimentación como en el suministro de nutrientes específicos en la dieta perjudican la sobrevivencia del embrión. (Hafez, B. 2010)

En vacas lecheras el consumo alto de proteína degradable en el rumen conduce a mortalidad embrionaria. Este efecto puede deberse a la reducción del pH del ambiente uterino durante la fase lútea del ciclo en que el embrión debe crecer.

**HACINAMIENTO EN EL UTERO.** El aumento en el número de implantaciones reduce el riego sanguíneo para cada sitio y restringe el desarrollo placentario. Esto da por resultado elevada mortalidad embrionaria y fetal, y probablemente explica la mayor incidencia de muerte embrionaria en vacas después de ovulaciones gemelares que en sencillas. (Hafez, B. 2010)

**ESTRÉS TÉRMICO.** Los efectos térmicos sobre el embrión joven no son aparentes sino hasta las fases finales de su desarrollo. Cuando se someten a altas temperaturas *in vitro* o *in vivo*, los óvulos fecundados de vacas son dañados pero continúan desarrollándose, solo para morir durante las etapas críticas de la implantación. La menor fertilidad de las vacas lecheras estresadas por el calor puede deberse a disminución de la viabilidad y la

capacidad de desarrollo de los embriones de seis a ocho días. (Hafez, B. 2010)

## **1.11 PRINCIPALES ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS**

### **1.11.1 Campylobacteriosis Genital Bovina**

La campylobacteriosis Genital Bovina (CGB) es una enfermedad asociada a infertilidad, repetición de celos y ocasionales abortos. Es de transmisión y afecta al ganado lechero y de carne.

El agente etiológico es el campylobacter fetus con dos subespecies: venerealis y fetus.

El toro es el portador asintomático de la enfermedad, no afectándose su capacidad reproductiva. Campylobacter fetus habita en las criptas prepuciales del toro. El toro juega un papel importante en la transmisión de la enfermedad asociado al factor etéreo.

En la hembra se manifiesta por ciclos estrales largos, repeticiones de celo, disminución del porcentaje de preñez, debida a mortalidad embrionaria y abortos que no suelen superar el 10%.

Campylobacter fetus habita en la hembra en las mucosas del útero, cérvix y vagina. La infertilidad de la hembra está relacionada con la restricción de O<sub>2</sub> que provoca el ingreso de C. fetus en el útero, la acción de la mucinasa que despolimeriza el mucus vaginal y por la endometritis mucopurulenta subaguda.

### **1.11.2 Leptospirosis Bovina**

Se denomina Leptospirosis a infecciones causadas por leptospira sp. Son susceptibles a ella diferentes especies de animales domésticos y silvestres, así como también el hombre.

Por lo general los síntomas aparecen después de los 7 días de la infección. En la enfermedad aguda, es frecuente la muerte ya que el cuadro difícilmente revierte y si lo hace, quedan con insuficiencia renal crónica. En el caso de los bovinos quedan como portadores. La leptospira serovar hardjo es la de mayor presencia en esta especie y se mantiene en el aparato genital de hembras y machos y en el tracto urinario. (Hafez, B. 2010)

El principal problema que trae son los abortos en el último tercio de la gestación.

### **1.11.3 Brucelosis Bovina**

El agente causal de la enfermedad es la Brucella abortus, de la cual se conoce 8 biotipos diferentes en todo el mundo.

El signo predominante en hembras preñadas es el aborto en los tres últimos meses de gestación o el nacimiento prematuro o a término de terneros débiles o muertos. Se presenta además retención de placenta, metritis e infertilidad en vacas, dejando como secuela un aumento del intervalo interparto.

Las hembras no preñadas no muestran signos clínicos y cuando se infectan antes del servicio muchas veces no abortan. En el toro las brucellas pueden localizarse en los testículos o glándulas anexas. (INIA-DILAVE, 2001)

#### **1.11.4 Diarrea Viral Bovina (DVB)**

La diarrea viral bovina/enfermedad de las mucosas (DVB) es una enfermedad viral que afecta a los bovinos siendo reconocida en el mundo como una de las causas más importantes de trastornos reproductivos. Su agente pertenece a la familia Flaviviridae. (INIA-DILAVE, 2001)

La DVB tiene la particularidad de causar diferentes manifestaciones clínicas que van desde una infección leve, hasta infecciones más graves que pueden llevar a la muerte del animal. (INIA-DILAVE, 2001)

La DVB tiene mayor importancia a nivel reproductivo, donde ocasiona reabsorción embrionaria, momificación fetal, abortos, defectos congénitos como hipoplasia cerebelar con síntomas nerviosos, ceguera, lesiones oculares, además del nacimiento de de animales portadores. (INIA-DILAVE, 2001)

#### **1.11.5 Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR)**

La Rinotraqueitis infecciosa bovina o IBR, es una enfermedad infecciosa, de etiología viral, que se presenta en el ganado bovino, afectando los sistemas respiratorios, genitales y nerviosos. El agente causal pertenece a la familia Herpesviridae, clasificado como herpesvirus bovino-1. (INIA-DILAVE, 2001)

Las infecciones genitales son caracterizadas por lesiones necróticas leves a severas de la mucosa vaginal o prepucial con formaciones de pústulas redondeadas que evolucionan favorablemente en la mayoría de los casos, en 10 a 15 días. Es importante destacar que, debido al establecimiento de una etapa virémica en la forma respiratoria, el virus puede ser transportado en la sangre e infectar el feto causándole la muerte y aborto a los 2 a 5 días. (INIA-DILAVE, 2001)

En el caso de las infecciones genitales (VPI), la misma es localizada a nivel de mucosas, no produciendo la diseminación del virus a los tejidos fetales. Los casos de aborto por IBR son, por lo tanto, secuelas de la forma respiratoria y generalmente se presentan luego de una primo infección con o sin sintomatología aparente. Los mismos pueden producirse en los tres trimestres de la gestación, pero son más comunes desde la mitad al término. (INIA-DILAVE, 2001)

## **1.12 REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

Es una herramienta por medio de la cual el hombre ha logrado implementar técnicas de sincronización y metodología para mejorar la eficiencia reproductiva. Una de estas técnicas se describe a continuación. (Vela, D. 2009)

### **1.12.1 Sexado de Semen**

Esta técnica se utiliza principalmente donde la aplicación práctica de esta sería:

- a) Producir más progenie femenina a partir de hembras superiores para reposición de hatos y manadas e incrementar la producción de leche. (Vela, D. 2009)
- b) Obtener más machos para la producción de carne.
- c) Asegurar la progenie masculina que se convertirán en sementales para cruzas óptimas. (Vela, D. 2009)
- d) Asegurar la descendencia adecuada cuando se realicen pruebas de progenie en toros jóvenes. (Vela, D. 2009)

Solo dos métodos de laboratorio para separar espermatozoides X y Y parece ser válido, reproductiva y clínicamente aplicable: la separación con albumina, en la cual se obtiene 75 a 80% de espermatozoides Y, y la filtración de sefadex, que rinde 70 a 75% de espermatozoides X. (Vela, D. 2009)

En el proceso de citometría, el semen tiene que ser teñido con un colorante fluorescente, el cual se unirá a cada espermatozoide individualmente según su contenido de ADN. Se hacen pasar luego los espermatozoides a la manera de una corriente de flujo muy delgado a través de la maquina separadora, misma que utiliza un rayo láser, que lo que esencialmente hace es iluminar el colorante. Ahora bien, como el espermatozoide X contiene 3,8% más ADN, éste atrapa más colorante, y hace que resplandezca más brillantemente. (Vela, D. 2009)

Posteriormente una computadora clasifica los espermatozoides en tres grupos: 1) los que llevan el cromosoma X; 2) los que portan él Y; 3) una población mixta de portadores de X y de Y que no pudieron ser clasificados con absoluta claridad. Aquel flujo fino de espermatozoides se fracciona entonces en gotitas pequeñísimas conteniendo un espermatozoide cada una de ellas, pasando las mismas por un dispositivo que les asigna una carga eléctrica positiva o negativa, según la clasificación previa efectuada por la computadora. Se les hace pasar luego por un campo magnético donde aquellas con carga positiva son atraídas hacia el lado negativo y las que poseen carga negativa lo son hacia el lado positivo. Una vez que el semen a sido apartado de tal forma, el semen fresco debe ser utilizado dentro de las siguientes 24 horas. Es posible su congelación para ser utilizado en posterioridad. (Vela, D. 2009)

### **1.12.2 Inseminación Artificial**

La inseminación artificial (IA) es la técnica individual más importante creada para el mejoramiento genético de animales. Esto es posible debido a que unos pocos machos altamente seleccionados producen suficientes espermatozoides para inseminar miles de hembras al año.

Desde su adopción, como práctica rutinaria en el manejo reproductivo del ganado bovino, la técnica de IA ha representado la mejor opción para lograr la mejora genética y a erradicación de enfermedades reproductivas de los rebaños bovinos. (Vela, D. 2009)

La IA en animales domésticos ofrece varias ventajas en cuanto a la mejora genética, control de enfermedades y aspectos económicos:

- a) Permite el uso generalizado de machos sobresalientes y la diseminación de material genético valioso incluso en granjas pequeñas. (Vela, D. 2009)
- b) Facilita las pruebas de progenie en diversas condiciones ambientales y de manejo, mejorando la eficiencia de la selección genética. (Vela, D. 2009)
- c) Mejora el rendimiento y el potencial del ganado de un país y permite la coordinación de una política de cría a nivel nacional. (Vela, D. 2009)
- d) Permite realizar cruzas para modificar el tipo de producción, ej., de carne a leche. (Vela, D. 2009)
- e) Acelera la introducción de nuevo material genético a través de la exportación de semen y reduce los costos de transporte internacionales. (Vela, D. 2009)
- f) Hace posible el uso de semen congelado después de que haya muerto el donador, con lo que contribuye a la preservación de líneas seleccionadas. (Vela, D. 2009)
- g) Permite el uso de semen de machos incapacitados u oligospermicos. (Vela, D. 2009)

- h) Reduce el riesgo de dispersión de enfermedades transmitidas sexualmente. (Vela, D. 2009)
- i) Suele ser esencial después de la sincronización del estro en grandes grupos de hembras. (Vela, D. 2009)
- j) Contribuye una herramienta de investigación necesaria para evaluar muchos aspectos de la fisiología reproductiva masculina y femenina. (Vela, D. 2009)
- k) Evitamos los costos de mantenimiento de machos y el peligro que algunos machos pueden representar para el hombre. (Vela, D. 2009)
- l) Ya que la IA requiere de registros y manejo en general adecuados, esta técnica obliga a un mejoramiento completo de la finca. (Vela, D. 2009)

### **1.12.3 Transferencia de Embriones**

Transferencia de embriones es el proceso por el que un embrión es extraído de una hembra donante y transferido al útero de otra hembra receptora para completar el periodo gestacional. (Vela, D. 2009)

Ampliando el concepto, diríamos que la transferencia de embriones es una técnica para el mejoramiento genético del ganado, consiste en provocar que una vaca o vacona “donadora”, mediante un tratamiento hormonal e inseminación con un toro probado de alto valor genético, produzca varios embriones que 7 días después le son extraídos para ser transferidos a otra hembra “receptora”, que previamente fueron sincronizadas con el celo de la donadora. La receptora no trasmite ninguna característica genética a la cría y solo sirve para mantenerla hasta el parto y si se desea la lactación. (Vela, D. 2009)

#### **1.12.4 Clonación**

Significa la obtención de uno o varios individuos, bien sea a partir de una célula (diferenciada o indiferenciada), o simplemente, a partir de un núcleo. Los individuos así clonados son idénticos o casi idénticos al original. En un sentido más estricto, dentro del concepto de la ingeniería genética, la clonación consiste en aislar y amplificar o multiplicar un gen determinado o de un segmento de ADN, procedimiento que se lleva a cabo dentro de un tubo de ensayo. (Vela, D. 2009)

#### **1.13 SINCRONIZACIÓN DE CELO**

Para entender mejor celo, estro o calor es el periodo de receptividad sexual, o momento en que la hembra es receptiva al macho para la cópula. La duración de estro es muy variable según la especie y depende también de otros factores como raza, clima, etc. (Vela, D. 2009)

##### **1.13.1 Utilización de Hormonas**

El empleo de las hormonas ha venido incrementándose últimamente, debido en parte, a su fácil consecución y a un mejor conocimiento de ellas por parte de los profesionales.

Lagunas de las consideraciones para el uso de hormonas son:

- El tratamiento hormonal debe ir acompañado de un tratamiento etiológico, cuando se trata de casos de infertilidad por deficiencia nutricional o manejo.
- Diagnostico exacto, por medio de palpación y/o examen de laboratorio.
- Dosis recomendada, ya que son biológicamente muy activas.

- No en anomalías genéticas.
- Muchas precauciones en animales o leche para consumo humano.
- La terapia hormonal encarece los costos por eso debe considerarse estado sanitario, nutrición y manejo adecuado para que haya efecto.

## **1.14 TÉCNICAS HORMONALES DE SINCRONIZACIÓN**

### **1.14.1 Prostaglandinas**

La prostaglandina es una hormona producida por el útero, cuya función es la destrucción del CL del ovario (luteólisis) en caso de no existir embrión, esto ocurre naturalmente en la vaca entre el día 17 o 18 del ciclo estral. Por otro lado, a partir del día 5 o 6 del ciclo, hasta el día 17 o 18, existen altos niveles de progesterona, producida por el CL, lo que se considera la fase de diestro. Por lo anterior si se aplica una dosis de prostaglandina a una vaca o vaca en la fase de diestro, lo que provocaremos es la luteólisis, que a su vez originara una caída brusca de los niveles de progesterona y por lo tanto, nueva descarga de gonadotropinas (FSH) y el celo se presentara entre 2 y 4 días después de la inyección. (Vela, D. 2009)

Existe dos opciones de sincronización con prostaglandina; puede realizarse la inyección de una dosis a un grupo de hembras, lo que producirá celo 2 y 4 días después en un 70 % de hembras, las que no presentan celo (no están en diestro), se les repite otra dosis 11 días después de la primera, y se espera celo a los siguientes días para inseminar. (Vela, D. 2009)

La otra opción es aplicar la prostaglandina en dos dosis con intervalos e los 11 días a todas las hembras, aún a las que presentan celo con la primera dosis, con esto se consigue inseminar a todas las hembras en los mismos días, pero se incrementa el costo de la hormona. (Vela, D. 2009)

#### **1.14.2 Sistema Celo-Synch**

Consiste en una inyección de GnRH, seguida por una dosis de prostaglandina una semana después. Todos los animales son observados para signos de celo en los próximos 5 días y la inseminación se realiza normalmente 12 horas después de iniciado el celo. (Vela, D. 2009)

#### **1.14.3 Sistema Ov-Synch**

Consiste en una inyección de GnRH seguida por una de prostaglandina una semana después, y una segunda inyección de GnRH aplicada 48 horas después. La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se realiza 16 horas después de la segunda dosis de GnRH. Si alguna hembra muestra celo antes de la segunda dosis de GnRH debe ser inseminada. (Vela, D. 2009)

#### **1.14.4 Sistema Co-Synch**

Consiste en una inyección de GnRH, una semana después de inyectada la prostaglandina y una segunda dosis de GnRH, y se IATF 48 horas después. Con estos dos últimos métodos, se evita la necesidad de detectar celo. (Vela, D. 2009)

#### **1.14.5 Progesterona**

La hormona progesterona, producida por el CL del ovario, es considerada la responsable de mantener la preñez. Además, los altos niveles de progesterona ya sea por diestro o por preñez, producen un bloqueo del eje hipotálamo-hipofisiario, lo que impide que se desencadene toda secuencia de eventos de un ciclo estral. Este es el principio fisiológico de la utilización de progestágenos como mecanismo de regulación del ciclo estral y por ende del celo. (Vela, D. 2009)

Algunos protocolos de sincronización con esta hormona son los siguientes:

- **Dispositivo vaginal CUE-MATE**

Al ser introducido en la vagina, libera progesterona que pasa al torrente sanguíneo e inhibe la liberación de GnRH a nivel de hipotálamo, bloqueando el inicio de un nuevo ciclo. Al retirar el dispositivo de la vagina, desciende bruscamente el nivel de progesterona, desencadenándose un nuevo ciclo sexual al mismo tiempo en todos los animales tratados. (Vela, D. 2009)

- **SMB (Syncro-mate-B)**

Consiste en un implante de hidrón impregnado con 6 mg de norgestomet que es aplicado en forma subcutánea (base de la oreja) durante 9 días. En el momento de su aplicación, son inyectados 5 mg de benzoato de estradiol y 3 mg de norgestomet. Al ser retirado, se recomienda la aplicación de 400 a 600 UI de PMSG por vía intramuscular o la realización de un destete de 48 horas (vaca de carne). Este producto fue retirado del mercado americano durante el año 2000. (Vela, D. 2009)

- **CRESTAR**

Consiste en un implante impregnado con 3 mg de norgestomet que es aplicado en forma subcutánea en la base de la oreja, donde permanece de 9 a 10 días. En el momento de su aplicación son inyectados 3 mg de valerato de estradiol y 3 mg de norgestomet. Al ser retirado se recomienda la aplicación de 400 a 600 UI de eCG inyectada de forma muscular o la realización de un destete de 48 horas. (Vela, D. 2009)

- **CIDR (controlled internal drug release)**

Se trata de un dispositivo intravaginal de silastic con forma de Y e impregnado con 1,9 gr de progesterona que puede ser liberada durante varias semanas. El dispositivo es dejado en la vagina no más de 7 días y en el momento de su retiro se aconseja la aplicación de 0,5 a 0,7 mg de benzoato de estradiol. Esto último según algunos autores se produce mejores resultados si se aplica 24 horas después del retiro del dispositivo. (Vela, D. 2009)

- **PRID (progesterone release intravaginal device)**

Se trata de un dispositivo en forma de espiral con un alma de acero cubierta de un elastómero de silicona de alta calidad, la cual está impregnada con 1,55 mg de progesterona. En el espiral se encuentra insertada una capsula de gelatina con 5 mg de benzoato de estradiol que interactúa con la progesterona para el control de la onda folicular y produce hiperemia que facilita una rápida absorción de la progesterona. (Vela, D. 2009)

- **Esponjas intravaginales**

Se trata de dispositivos de poliuretano cilíndricos impregnados con acetato de medroxiprogesterona (MAP), que se ubican en el fondo de la vagina por 7 a 9 días. Al aplicar la esponja se inyecta benzoato de estradiol y MAP y al retirarla, se inyecta nuevamente BE. Este tratamiento todavía está en etapa de evaluación pero resultados obtenidos en el año 2000 muestran una respuesta biológica similar a los demás tratamientos. (Vela, D. 2009)

En síntesis, los tratamientos descritos anteriormente permiten obtener una buena inducción de la ovulación y el celo de los animales en anestro

postparto. La fertilidad post tratamiento ya sea por IATF o por servicio sobre celo detectado durante 4 a 5 días posteriores, permite obtener tasas de preñez entre 40 y 55% al primer servicio, con una apreciable variabilidad entre fincas, edades, razas, estado de ovarios etc. (Vela, D. 2009)

### **1.15 TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

La técnica rectovaginal de inseminación artificial es uno de los métodos que más se utiliza en el ganado. Y el procedimiento se lo realiza de la siguiente manera.

Se introduce la mano por vía rectal con la mano y brazo cubierta con un guante protector de IA. Se elimina el exceso de materia fecal mediante una serie de movimientos suaves de rastrillo. Una vez que se ha eliminado el exceso de materia fecal, la vulva se limpia y seca con una toalla de papel absorbente para prevenir la contaminación. Se asienta la palma de la mano contra la pelvis y se busca el cuello uterino. La pistola de inseminación debe mantenerse en un ángulo de 30°, y el extremo que contiene el semen se eleva en la mayor medida posible al ingresar en el conducto reproductor. Esto se hace para evitar que el instrumento de inseminación ingrese al divertículo suburetral o la uretra, que se encuentra en el piso de la vagina, a poca distancia al interior de la abertura de la vulva. (Vela, D. 2009)

La pistola se adelanta a lo largo del techo de la vagina, mientras que el cuello uterino se desplaza hacia adelante para enderezar cualquier pliegue vaginal que pueda de alguna manera encontrarse con la punta de la pistola. La abertura cervical por lo general se localiza en el centro del cuello uterino, pero es posible que sea necesario explorarlo con suavidad con el extremo de la pistola hasta encontrar dicha abertura. (Vela, D. 2009)

Para manipular el cuello uterino hacia la pistola se mantiene los dos primeros dedos y el pulgar de la mano enguantada, justamente por detrás de la punta de

la pistola, para manipular el cuello uterino. Una vez que se atraviesa los anillos cervicales, la pistola se desliza hacia delante con poca resistencia. Cuando esto sucede, el extremo de la pistola se encontrara en el cuerpo uterino, o en ocasiones se desliza incluso más adentro, hacia el cuerno uterino, cuya punta se palapa, ya que la pared uterina es muy delgada. A continuación se hace girar la mano enguantada en torno al cuello uterino hasta que la mano quede por encima. Es posible utilizar el dedo índice para indicar el sitio en que se localiza la punta de la pistola. Se tira de la pistola con lentitud hacia atrás hasta que se encuentre en línea recta con respecto a la abertura cervical. Se mantiene la pistola estable con la mano externa, y se eleva el índice de la mano enguantada para alejarlo del extremo de la pistola. Debe asegurarse de empujar con el pulgar y sacar la pistola del cuello uterino con los dedos. El semen se deposita lentamente; tomo al menos 5 s empujar el embolo. (Vela, D. 2009)

## **1.16 MANEJO DE LOS MACHOS**

### **1.16.1 Colección de Semen**

Cuando los machos jóvenes se alimentan y manejan adecuadamente, es posible coleccionar semen de calidad en los toros a los 12 meses de edad.

Se prefiere coleccionar semen dos veces al día dos veces a la semana, a fin de obtener más semen que procesar a la vez. La eyaculación puede inducirse diariamente sin reducir la fecundidad, pero con ello se reduce el número de espermatozoides por eyaculado y a menudo se requiere más estímulo para la preparación sexual adecuada. (Vela, D. 2009)

La colección de semen puede realizarse mediante:

- Electroeyaculación.

- Vagina artificial: es el más práctico y que da mejores resultados. Consiste en un tubo rígido con una manga de goma y entre las dos partes se llena de agua tibia a fin de simular la temperatura corporal. Es la mejor técnica utilizada hoy en día en bovinos. (Vela, D. 2009)

El semen colectado es sometido a un complejo examen de viabilidad. La inseminación se puede realizar con semen fresco, utilizando inmediatamente después de la colección, o congelado, lo cual permite usarlo mucho tiempo después. (Vela, D. 2009)

### **1.16.2 Evaluación del Semen**

Aunque ninguna prueba por si sola puede predecir con exactitud la fertilidad de una muestra de espermatozoides, el examen de diversas características físicas del semen puede determinar mayor potencial de fertilidad. En general, los estándares mínimos para la clasificación de una muestra de semen de toro son como sigue: (Hafez, B. 2010)

- Más de 500 millones de espermatozoides por mililitro.
- Más de 50 % de espermatozoides con movimiento progresivo hacia el frente.
- Más de 80 % de células espermáticas con morfología normal.

ASPECTO Y VOLUMEN: el semen debe tener aspecto opaco y relativamente uniforme, indicativo de alta concentración de células espermáticas. Las muestras translucidas contienen pocos espermatozoides. La muestra debe estar libre de pelo, suciedad y otros contaminantes. Debe desecharse el semen con aspecto lechoso o con fragmentos de material, pues ellos indican infección. Los toros pueden producir semen de color amarillo debido a la

presencia inocua de riboflavina. Esto no debe confundirse con orina, la cual tiene su olor característico. (Hafez, B. 2010)

**CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA:** la terminología para semen se presenta en la siguiente tabla:

**TABLA 1. Parámetros, criterios de evaluación y nomenclatura que se utiliza para la valoración espermática**

Parámetro	Criterio de evaluación	Nomenclatura
Volumen	Nulo Reducido Aumentado	Aspermia Hipospermia Hiperespermia
Concentración espermática	Cero Reducido Normal	Azoospermia Oligozoospermia Normozoospermia
Motilidad espermática	Reducida	Atenozoospermia
Viabilidad espermática	Todos muertos	Necrozoospermia
Espermatozoides anormales	Alto porcentaje	Teratozoospermia

**Elaborado por:** Hafez, B. 2010

La determinación del número de espermatozoides y el volumen del eyaculado define el número de hembras que pueden ser inseminadas. La concentración se mide usando un hematocitómetro, un colorímetro o un espectrofotómetro. El hematocitómetro es un portaobjetos de microscopio que cuenta con cámaras numeradas con precisión. la cantidad de espermatozoides por cámara se cuenta manualmente, lo cual pese a tomar mucho tiempo, es muy exacto. No obstante, este método puede remplazarse por un espectrofotómetro o colorímetro calibrado con respecto al hematocitómetro, instrumentos que tiene la ventaja de ser precisos y rápidos. (Hafez, B. 2010)

La concentración de espermatozoides en el toro es de 200'000.000 espermatozoides/ml en toros jóvenes, a 1.800'000.000 espermatozoides/ml en los maduros. (Hafez, B. 2010)

MOTILIDAD ESPERMÁTICA: La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides y la calidad de la motilidad. La evaluación de la motilidad de los espermatozoides se realiza con semen puro y diluido. (Hafez, B. 2010)

La valoración del semen puro indica el comportamiento de los espermatozoides en su propio líquido de las glándulas accesorias. La dilución que se utiliza para su mejor evaluación es una concentración de 25'000.000 espermatozoides/ml en un diluyente de buena calidad. (Hafez, B. 2010)

Los porcentajes de motilidad incluyen: (Hafez, B. 2010)

- Porcentaje de espermatozoides en movimiento (lo normal es que 70 a 90 % muestren motilidad).
- Porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva.
- Velocidad espermática (con base a una escala arbitraria de 0 [estacionaria] a 4 [rápida]).
- Longevidad de la motilidad espermática en semen puro (a temperatura ambiente de 20 a 25 °C), y en semen diluido (a temperatura ambiente, o temperatura refrigerada de 4 a 6 °C).

El grado del vigor del movimiento ondulado de los espermatozoides se califica como en el siguiente tabla:

TABLA 2. Puntuación del movimiento ondulatorio espermático

Puntuación	Aspectos del movimiento ondulado
0	Inmovilidad total
1	Movimiento individual
2	Movimiento muy lento
3	Movimiento ondulado general, amplitud lenta de las ondas
4	Movimiento ondulado rápido sin remolinos
5	Movimiento ondulado rápido con remolinos

Elaborado por: HAFEZ B, 2010,

Varios factores influyen en la motilidad espermática y estos pueden ser:

- **Factores endógenos:** *EDAD* en reservas epididimarias del donador, tiempo entre eyaculaciones y después de ellas. *MADURACION ESPERMATICA* morfológica, fisiológica, bioquímica. *RESERVAS DE ENERGIA (ATP)* transporte de membranas, transporte iónico, movimiento flagelar, proteínas contráctiles. *AGENTES ACTIVOS SUPERFICIE-SUPERFICIE* factores de aglutinación, anticuerpos, detergentes, integridad de la membrana, receptores. (Hafez, B. 2010)
- **Factores exógenos:** *FACTORES BIOFISICOS Y FISIOLÓGICOS* hidrodinámica, viscosidad, osmolalidad, pH, temperatura, composición iónica. *LIQUIDOS DE LA SUSPENSIÓN* liquido epididimario, plasma seminal, depósito vagina, moco cervical, liquido uterino, liquido oviductal, espacio perivitelino. *ESTIMULACION-INHIBICION* iones inorgánicos (Cu, Zn, Mn, Cd, Hg), productos de excreción, agentes neurofarmacológicos, hormonas, nucleótidos clínicos, cininas, prostaglandinas, contaminantes ambientales, factores inmunoquímicos. (Hafez, B. 2010)

MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA. Cada muestra de semen contiene algunas células espermáticas anormales. Las anomalías morfológicas de los espermatozoides tienen la mayor relación con la fertilidad en el ganado. El estrés por calor daña grandes cantidades de espermatozoides, y los periodos

de temperatura ambiental elevada, combinado con índices altos de humedad, pueden hacer al macho estéril hasta por seis semanas. (Hafez, B. 2010)

Cuando las células espermáticas anormales exceden el 20%, es característico que la fertilidad disminuya. Las anomalías morfológicas se clasifican en primarias, secundarias o terciarias. Las primarias se relacionan con las cabezas espermáticas y el acrosoma; las secundarias con la presencia de una gota en la porción media de la cola, y las terciarias con otros defectos de la cola. (Hafez, B. 2010)

### **1.17 DIAGNOSTICO DE PREÑEZ EN BOVINOS**

Saber si una hembra bovina está o no preñada reviste considerable valor económico, y también es una herramienta muy importante en el manejo reproductivo. En general se requiere un diagnostico temprano de preñez:

- Para identificar hembras no preñadas al poco tiempo del apareamiento o la inseminación y así reducir la pérdida de tiempo en producción debido a infertilidad, mediante el tratamiento apropiado o desecho. (Vela, D. 2009)
- Para certificar animales con fines de venta o aseguramiento.
- Para reducir el desperdicio en programas de reproducción con técnicas hormonales costosas. (Vela, D. 2009)
- Para asistir en el manejo económico de la producción animal. (Vela, D. 2009)

#### **1.17.1 No Retorno al Estro**

Durante la preñez, el feto inhibe la regresión del cuerpo lúteo (CL) e impide que la madre vuelva al estro. Por tanto se supone que una hembra que no reinicia el estro está preñada.

Casi todos los centros de inseminación artificial en el mundo usan informes mensuales computarizados del porcentaje de no retorno (NR) entre los 60 y 90 días a partir de los registros de las inseminaciones. Dos meses después de cada mes en el que se realizan las inseminaciones (alrededor de 90 días después del inicio de ese mes), los registros de todas las vacas que fueron inseminadas son revisados para determinar el porcentaje de ellas que volvió a presentar estro y fueron reinseminadas. En general, un NR de 60 a 90 días del 70% en su primera inseminación correspondería a alrededor de 60 a 65% de preñez. (Vela, D. 2009)

## **1.18 MÉTODOS CLÍNICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE PREÑEZ**

Los métodos clínicos dependen de la detección del producto: feto, membranas y líquidos fetales. Estos procedimientos incluyen:

### **1.18.1 Exploración Rectal**

En este procedimiento se palpa el útero a través de la pared rectal para detectar el agrandamiento uterino que ocurre durante la gestación, así como el feto o las membranas fetales. (Vela, D. 2009)

### **1.18.2 Ultrasonografía**

En medicina veterinaria se utiliza dos tipos de ultrasonido:

- **Fenómeno doppler:** las ondas sonoras que inciden en el objeto en movimiento se reflejan hacia la fuente trasmisora a una frecuencia ligeramente distinta. Cuando el transductor (sonda) se inserta en el recto, emite un estrecho haz de ondas de alta frecuencia (ultrasónicas). Los movimientos del corazón del feto o el flujo sanguíneo en la circulación fetal (cordón umbilical) o materna (arteria uterina) modifican la frecuencia de estas ondas, que se reflejan de regreso a la sonda, donde son

convertidas en sonidos audibles y amplificadas (en audífonos o bocinas) o en luz (en un osciloscopio). (Hafez, B. 2010)

- **Ecografía de pulso ultrasónico:** al hacer contacto con tejido de impedencia variable, los pulsos de ultrasonido generados por cristales piezoeléctricos en un transductor son reflejados (convertidos en eco) hacia éste, transformados en energía eléctrica y mostrados en un osciloscopio de rayos catódicos de diversas maneras. Los modos A y B son las formas más básicas de uso actual. El modo A (de amplitud) es una representación unidimensional de amplitud de eco en función de la distancia, mientras que el modo B (de brillantez) produce una imagen bidimensional exacta de cortes transversales de los tejidos blandos. La brillantez de los puntos se representa en el osciloscopio como diversos tonos de gris, comparable a una sucesión en blanco y negro; revelan cualquier movimiento en el tejido que se visualiza. Esta es la base de la visualización “en tiempo real” modo B. (Hafez, B. 2010)
- **Inmunodiagnóstico:** Esta técnica se basa en la detección o la medición de las concentraciones de sustancias que se originan en el producto, el útero o los ovarios y que llegan a la sangre, la orina o la leche maternas. Las pruebas inmunológicas miden dos tipos de sustancias. Específicas de la preñez, que aparecen en la sangre materna (gonadotropina coriónica equina, [eCG], factor de preñez temprana [EPF]). No específicas de la preñez, pero su concentración en sangre, orina o leche maternas cambia durante la gestación, por ejemplo, progesterona, sulfato de estrona. (Hafez, B. 2010)

### 1.19 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA)

La inseminación artificial es la técnica individual más importante creada para el mejoramiento genético de animales, debido a que unos pocos machos seleccionados producen suficientes espermatozoides para inseminar miles de

hembras al año. La primera aplicación cuidadosamente documentada de la IA se hizo en 1780, cuando Lázaro Spallanzani, fisiólogo italiano, obtuvo cachorros de perros sabuesos pequeños. La IA se facilita con programas de sincronización del estro, y se ha propuesto como un medio para controlar el sexo de la progenie mediante la separación de espermatozoides con cromosomas X y Y. (Hafez, B. 2010)

Las ventajas de la IA son: (Hafez, B. 2010)

- Permitir el uso generalizado de machos sobresalientes con genética valiosa en cualquier operación de ganado.
- Facilitar las pruebas de la progenie en diversas condiciones ambientales y de manejo, mejorando de este modo aún más la exactitud de la selección.
- Mejora el rendimiento y el potencial del hato nacional.
- Permite realizar cruzas para modificar una característica productiva.
- Acelerar la introducción de nuevo material genético.
- Hace posible utilizar semen de toros seleccionados que han muerto.
- Permite el uso de semen de animales incapacitados u oligospermicos.
- Reduce el riesgo de dispersión de enfermedades transmitidas sexualmente.
- Suele ser esencial después de la sincronización del estro en grupos grandes de hembras.
- Permite el uso de machos con marcadores genéticos deseables en apareamientos genéticos específicos.

- Constituye una herramienta de investigación útil para evaluar muchos aspectos de la fisiología reproductiva del macho y de la hembra.

El toro en el mejoramiento genético es de suma importancia ya que el aporta la mitad de los genes en la progenie. Es deseable la obtención de semen a la edad más temprana posible de los machos con potencial genético valioso, para acelerar la identificación de los ejemplares superiores. A fin de cuentas, el impacto genético de un macho superior está limitado por la cantidad de espermatozoides producidos, lo cual es una función directa del tamaño testicular. (Hafez, B. 2010)

Los machos jóvenes deben seleccionarse cuidadosamente tan pronto como sea posible después de la pubertad, para la evaluación de su material espermático y ver si es idóneo y que sea posible colectar semen de calidad. (Hafez, B. 2010)

También es posible lograr un mejoramiento genético considerable para rasgos altamente heredables, empleando toros con comportamiento probado sin inseminación artificial. (Hafez, B. 2010)

## **1.20 SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF)**

La asincronía de los eventos reproductivos entre los animales de una misma ganadería impide la realización de trabajos agrupados, en particular cuando estas tareas están destinadas a la reproducción de dichos animales. Por otra parte, los periodos de reposos sexual común a los mamíferos (anestro postparto, anestro lactación), se traducen en periodos improductivos que un sistema de producción eficiente tiene que disminuir. Esto ha motivado, entre otros hechos que, durante los últimos 40 años, se llevasen a cabo investigaciones tendientes a controlar los eventos reproductivos de los animales domésticos, con lo que se ha logrado tener un mejor control sobre el ciclo estral.

Se entiende por sincronización de celos las técnicas aplicadas para conseguir que un grupo de animales salgan en celo en un determinado período de tiempo. La sincronización se puede llevar a cabo por medio de métodos naturales u hormonales.

Las principales ventajas de la sincronización e IATF son: (Vela, D. 2009)

- Acorta el periodo de servicios, adaptándolo a la mejor época del año de acuerdo al estado de los potreros y al calendario comercial.
- En vacas postparto anticipar la salida del anestro, acortando el parto primer servicio y aumentar el índice de preñez.
- Concentración del trabajo y mejor aprovechamiento del personal.
- Concentración de los nacimientos, uniformidad del hato, control de partos.
- Rápido progreso genético ya que se puede inseminar un grupo grande de animales a la vez.
- Ayuda a corregir detección de celos así como vacas anéstricas.

### **1.21 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO (IATF)**

La eficacia de los tratamientos con progestágenos y prostaglandinas para controlar el estro, se debe considerar dividida en dos componentes. El primero es la respuesta del estro, definida como la proporción de animales tratados que presentan estro dentro del tiempo especificado, una vez concluido el tratamiento. El segundo es la capacidad reproductiva definida en términos del índice de concepción al estro controlado. La distribución del estro y el grado de sincronía, definidos como la proporción de animales que presentan calores, durante el período máximo de 24 horas, son también importantes para valorar

el potencial de las medidas de controlar la inseminación artificial a un tiempo determinado. Una excelente respuesta estral sería que el 90 % de las hembras tratadas presenten estro, inmediatamente después del tratamiento (Durán F. 2010).

El acontecimiento clave que decide si una vaca está gestante o no, después de la inseminación natural o artificial, es la ovulación más que los síntomas de celo. Los trabajos de investigación y desarrollo llevados a cabo sobre el control del estro, en ganado vacuno, se han hecho con la idea de proporcionar al ganadero un método para que insemine a sus vacas en un tiempo predeterminado. De esta forma, al menos en teoría, se ahorraría mucho tiempo y dinero al no tener que detectar el estro. Sin embargo, los hechos demuestran que a pesar de los avances realizados en el desarrollo de tratamientos con progestágenos de corta acción y de los tratamientos combinados con progestágenos, estrógenos, prostaglandinas y GnRH aun existen cosas por hacer antes de satisfacer las necesidades del ganadero que precisa un índice de preñez óptimo, después de una única inseminación a tiempo fijo (Durán F. 2010).

La administración de estradiol, a vacas tratadas con progestágenos, produce una supresión del folículo dominante y surge una nueva onda folicular 4 días más tarde. La incorporación de tratamientos que controlen la emergencia de ondas foliculares sincronizadas, en los programas de control del estro, aseguraría la presencia de folículos dominantes en crecimiento, en el momento de concluir el tratamiento con progestágeno y/o prostaglandina (Durán F. 2010).

El tratamiento para vacas anovulatorias más utilizado en los Estados Unidos es el protocolo Ovsynch. Este protocolo utiliza una aplicación de GnRH, seguida a los 7 días por PGF2 $\alpha$ , y a las 48-56 horas más tarde una segunda GnRH. La inseminación a tiempo fijo (IATF) se realiza a las 14-18 horas de la segunda GnRH. Este protocolo induce aparentemente la ovulación en un alto porcentaje

de vacas de leche anovulatorias, pero algunas de estas vacas tienen una fase luteal posterior más reducida (Gumen et al., 2003). En casi todos los estudios hubo tasas de concepción significativamente menores en vacas no cíclicas que en vacas cíclicas tratadas con Ovsynch. De esta manera, si bien Ovsynch puede inducir la ovulación en vacas no cíclicas, podría haber una reducción en las tasas de concepción en estas vacas. El tratamiento con progesterona se ha utilizado eficazmente durante varios años para inducir la ciclicidad en vacas anovulatorias. Hace algunos años, algunos grupos han combinado el uso de un dispositivo de liberación de P4 (CIDR, implante de liberación controlada, Pfizer Animal Health) con el Ovsynch en un protocolo denominado CIDR-Synch. En este protocolo, el dispositivo intravaginal se coloca en mismo el momento en que se aplica la primera inyección de GnRH y luego se retira cuando se coloca la PGF2 $\alpha$ . Recientemente, se ha revisado el uso del protocolo CIDR-Synch en comparación con el protocolo Ovsynch (Stevenson et al., 2006). Sorprendentemente, los resultados varían y en este momento no se puede determinar científicamente si existe una ventaja evidente (Wiltbank, M. 2007).

Existen actualmente en el mercado dispositivos eficientes que liberan P4 y que son mantenidos en la vagina (DIB, Syntex) por un período de 7 u 8 días. El tratamiento más utilizado consiste en administrar 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Syntex) por vía intramuscular (im) junto con la inserción del dispositivo en lo que se denomina el Día 0 del tratamiento; en el Día 7 u 8, se extrae el implante se aplica PGF2 $\alpha$  (Ciclase, Syntex) im y 24 h después se administra 1 mg de EB im. Se realiza IATF entre las 52 y 56 h de la remoción del dispositivo. La función fundamental de la aplicación de estrógenos en el inicio del tratamiento es provocar la atresia de los folículos existentes e impedir de esta manera la formación de folículos persistentes que interfieren negativamente en la fertilidad. Como la atresia es seguida por el comienzo de una nueva onda folicular a los 4 días se asegura de esta manera la presencia de un folículo nuevo y un ovocito viable en el momento de retirar el dispositivo. Por último, la segunda administración de benzoato de estradiol es fundamental

para sincronizar la ovulación y obtener buenos índices de preñez a la IATF (Cutaia, L. 2005).

Un estudio realizado por Bello et al. (2006), utilizó un protocolo de pre sincronización con PGF2 $\alpha$  y GnRH. Este protocolo consistió en el tratamiento con PGF2 $\alpha$ , seguido 2 días después por GnRH y 6 días después por la primera GnRH del protocolo Ovsynch. Aparentemente, este tratamiento produce una excelente pre sincronización de las vacas cíclicas y puede ayudar, en teoría, a las vacas no cíclicas, aunque aún no se ha probado en un estudio de fertilidad más amplio. De esta manera, los tratamientos de pre sincronización que permitirían la iniciación del protocolo Ovsynch en los días correctos del ciclo estral y la inducción de la ciclicidad en vacas anovulatorias son claramente posibles. Se necesitarán estudios posteriores para optimizar estos protocolos de pre sincronización y así poder lograr mejoras en el desempeño reproductivo (Wiltbank, M. 2007).

El efecto beneficioso de la implementación de un sistema de sincronización depende en gran medida de un buen manejo nutricional y sanitario del rodeo. La CC es tal vez el factor más determinante de la tasa de preñez por IATF y debe ser buena (>2,5 en la escala del 1 al 5) al momento de iniciar un tratamiento de sincronización de celos para obtener resultados aceptables. La utilización de gonadotropina equina (eCG), va a mejorar las tasas de preñez en vacas con cría con una CC de 2 a 2,5 pero solo en el caso que los animales se encuentren en un plano de aumento de peso (Bó G. et al 2009).

La necesidad de reducir las deficiencias en la detección de celo ha llevado a diseñar protocolos de inseminación a tiempo fijo y aún, cuando puede existir variabilidad de resultados, es claro que se puede contar con una alternativa para contribuir a disminuir las deficiencias reproductivas. Los costos de administración de protocolos de IATF pueden parecer elevados, las deficiencias en la detección de celos son un problema importante y que puede afectar la productividad de un establecimiento (Huanca, W. 2001).

Sin embargo, hay que señalar que una de las grandes deficiencias de los programas de sincronización es la inadecuada atención al manejo de los animales. Los protocolos de sincronización son complementarios a un buen manejo pero no lo reemplazan, por lo que debe considerarse el estado nutricional de los animales al momento del servicio y un periodo de descanso postparto mayor a los 50 días (Huanca, W. 2001).

Sea cualquiera el método que se utilice para controlar el estro en el ganado bovino, se sabe que los índices de concepción pueden estar marcadamente afectados por otros factores como el estado nutricional del animal y por su condición corporal general. En hatos donde el nivel de alimentación no cubre los requerimientos de mantenimiento y producción se observa una notable disminución de la presentación de celos por inhibición de la actividad ovárica, asociada en casos extremos con pérdida de peso y deterioro general. En hatos de cría sometidos a bajos niveles de alimentación, tanto la aparición del celo como el porcentaje de fertilidad están más afectados en las vacas que en las novillas, posiblemente debido al esfuerzo de la lactancia que soportan las vacas en producción. El bajo nivel nutricional también acorta la duración del celo (Durán F. 2010).

### **1.21.1 Algunos Resultados con IATF**

Un experimento realizado por Bó G. (2009), con 394 vacas Holstein con promedio de 61 días pos parto, una CC entre 2,5 a 3 e inseminadas a tiempo fijo con un protocolo utilizando dispositivos intravaginal bovino (CIDR) + PG, con y sin gonadotropina coriónica equina (eCG) en diferentes tratamientos, encontraron que entre los 10 días previos a la sincronización, el 93 % de vacas tenían una concentración sanguínea de progesterona mayor a 1 mg/ml. Además, el porcentaje de preñez fue afectado por la condición corporal de los animales. La preñez al primer servicio con eCG fue entre 30,6 y 44,9 %, mientras que sin eCG fue entre 30 y 38,8 %

Otro experimento con 200 vacas Holstein en lactancia sincronizadas con CIDR, benzoato de estradiol y GnRH, registró un porcentaje de preñez al primer servicio entre el 41 y 52% (Bó G. 2009).

El mismo autor Bó G. en el (2009) reporta un experimento utilizando 500 vacas Holstein entre 30 y 51 días pos parto y una CC entre 2,5 y 3,5 que fueron sincronizadas e inseminadas a tiempo fijo con protocolo de CIDR + BE y eCG en el cual obtuvieron una preñez al primer servicio entre 30 y 49 %, siendo los mejores resultados en el tratamiento que adicionada la eCG.

Un estudio efectuado en Brasil con vacas lecheras con promedio de 151 días de pos parto, que fueron inseminadas a tiempo fijo utilizando CIDR + cipronato de estradiol alcanzaron una preñez al primer servicio entre 29 y 44,4 % (Bó G. en el 2009).

Cesaroni G. et.al. (2007), analizan resultados de la preñez al primer servicio de varios experimentos en vacas lactantes, las que fueron inseminadas a tiempo fijo luego de un protocolo con dispositivo intrauterino de progestágeno y la adición de dos ésteres de estradiol, benzoato de estradiol (BE) y cipronato de estradiol (ECP). En conclusión, en sólo uno de los experimentos se observó una diferencia en las tasas de preñez debida al tipo de sal de estradiol aplicada al finalizar un tratamiento para inducción de la ovulación con un dispositivo intravaginal con progesterona

**TABLA 3. Tasa de preñez (N° de vacas preñadas / N° de vacas inseminadas) obtenida por medio de una IATF según la sal de estradiol utilizada al finalizar un tratamiento con progesterona intravaginal**

Experimento	Porcentaje de Preñez BE	Porcentaje de Preñez ECP	P
1	57,0 (24/42)	69,3 (30/43)	0,22
2	45,0 (18/40)	56,4 (22/39)	0,31
3	56,7 (21/37)	69,2 (27/39)	0,26
4	38,8 (14/36)	51,0 (19/37)	0,28
5	37,8 (14/37)	69,5 (16/23)	0,017
6	59,0 (25/42)	69,0 (29/42)	0,36

**Elaborado por:** Cesaroni, G., Butler, H. M. y Durand, M. J. 2007.

## CAPITULO II

### 2 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 MATERIALES

- 30 vacas de raza Holstein con C.C. entre 2,5 a 3
- 2 Toros para la extracción de semen.
- Equipo y material de inseminación artificial.
- Vagina artificial bovina.
- Microscopio.
- Cristalería de laboratorio.
- Cocineta.
- Material veterinario de campo.
- CIDR (dispositivo intravaginal bovino).
- Materiales de oficina

#### 2.2 REACTIVOS

- Leche descremada en polvo
- Penicilina Estreptomicina
- Glucosa
- Bicarbonato de Sodio.
- Diluyente Triladyl
- Agua destilada
- Yema de huevo
- Prostaglandina.
- Benzoato de estradiol
- Eosina-nigrosina.
- Formol.
- Gel lubricante.

## 2.3 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo se realizó en dos haciendas colindantes, la una es Pacahuan, y la otra Chañag con las siguientes características agroclimáticas.

### 2.3.1 Ubicación Geográfica

Provincia:	Chimborazo
Cantón:	Riobamba
Parroquia:	Quimiag
Coordenadas:	1°40'6.94"S 78°39'2,50"O, a 3150

### 2.3.2 Condiciones Climáticas

Temperatura promedio:	12°C
Humedad relativa:	75%
Precipitación anual:	1300 mm
Altitud:	3150 msnm

## 2.4 METODOLOGÍA

### Unidad experimental

La unidad experimental consistió en una hembra bovina de raza Holstein mestizas, la cual cumplió con las siguientes características:

- Condición corporal entre 2,5 y 3.
- Estado sanitario adecuado.
- Estado nutricional optimo.
- Mínimo 60 días postparto.
- Condición reproductiva normales

Estos animales se encontraron en un sistema alimenticio de pastoreo en base de raygrass, pasto azul y sales minerales, con dos ordeños diarios. Los animales se designaron de forma aleatoria a cada tratamiento.

### **Tratamientos.**

El factor a medir fue el diluyente del semen, para lo cual se utilizó 30 hembras bovinas Holstein mestizas, las cuales se dividieron en dos grupos iguales, de 15 individuos cada uno, con lo que se obtuvo los siguientes tratamientos:

**T1:** tratamiento testigo, diluyente TRILADYL.

**T2:** tratamiento experimental, diluyente a base leche descremada.

### **Análisis estadístico.**

Con los resultados se realizó el análisis estadístico estableciendo una regresión logística, para determinar la influencia significativa entre variables, y las pruebas de  $\chi^2$  (chi cuadrado) y test exacto de Fisher, para determinar diferencia significativa entre los dos diluyentes, tomando en cuenta varios parámetros como fueron, diluyente, finca y condición corporal. Estos parámetros se los analizaron aleatoriamente en diferentes regresiones, para determinar influencia y diferencia estadística.

### **Métodos de manejo del experimento**

#### **Fase de Adiestramiento:**

Esta fase consistió en el adiestramiento de de campo en las siguientes actividades:

- *Extracción de semen:* Esto se realizó por varias ocasiones, mediante la utilización de la vagina artificial, que consiste en recolectar el eyaculado

de un toro previamente estimulado sexualmente, y luego de un lavado prepuccial con solución fisiológica. El toro es llevado a una vaca en celo y el momento del salto se introduce manualmente el pene en la vagina artificial la que debe estar lubricada con gel y a una temperatura de 40-42 °C.

El semen recolectado en un tubo graduado y protegido de la luz solar es llevado directamente al laboratorio para su examen inmediato.

- *Evaluación seminal:* el semen debe mantenerse en baño-María a una temperatura de 30-35 °C las pruebas básicas que se realizaron fueron:

Volumen, color y densidad del semen las cuales se miden a simple vista. La motilidad y morfología espermática se realizaron mediante observación microscópica, previo a una fijación con eosina en un porta objetos. La concentración espermática se la determinó en la cama de Neubauer con una dilución de 1:200.

- *Dilución de semen:* se realizaron pruebas de dilución de semen, con diluyente comercial (Triladyl), y diluyente experimental en base de leche descremada. Luego de seguir los protocolos predeterminados para cada diluyente se midió la motilidad espermática a 1, 3, 5, 24 y 48 horas posterior a la dilución y mantenido en refrigeración.

Todas estas prácticas realizadas en la fase de adiestramiento permitieron alcanzar la destreza necesaria para poder implementar todos estos protocolos a nivel de campo durante la fase experimental en las dos haciendas motivo de investigación.

**Fase experimental.**

El trabajo de campo, y se lo realizó en el siguiente orden:

- a) Cheque ginecológico, para establecer la condición reproductiva de cada animal, previo a la sincronización del celo.
- b) Sincronización de celo a los animales de los dos tratamientos, de acuerdo al siguiente protocolo:
  - Día 0: introducción el dispositivo vaginal + 2mg de BE vía IM.
  - Día 7: retiro del dispositivo + 2ml de prostaglandina vía IM.
  - Día 8: 1 mg de BE vía IM.
  - Día 9: IATF entre 52 a 56 horas después de retirado el dispositivo.
- a) En los bovinos la inseminación se la realizó con la técnica más difundida y eficaz que es el método rectovaginal.
- b) En cada tratamiento, el semen obtenido de los toros utilizados en cada una de las haciendas fue evaluado y procesado de acuerdo a lo descrito en la fase de adiestramiento, y se preparo las dosis de inseminación de acuerdo a los siguientes parámetros

**Macroscópico:**

- *Tipo de semen:* acuoso, lechoso, cremoso, etc.
- *Volumen en cc.*
- *Color:* blanco, blanco cremoso, amarillento, grisáceo, rosado, etc

**Microscópico:**

- *Motilidad masa:* una gota pura de eyaculado en un porta objetos y observación directa con los lentes de 10 y 50x. Puede ser excelente, muy bueno, bueno, regular, malo.
- *Determinación de vivos y muertos:* dos gotas de eyaculado más una gota de eosina-nigrosina (los muertos se tiñen de color negro).
- *Morfología:* una gota de eyaculado más dos gotas de eosina y observación con el lente de inmersión con aceite de cedro. Para obtener las diferentes anormalidades de cabeza, pieza media o cola.
- *Concentración:* esto se lo realizo en la cámara de NEUBAUER, se toma 0,1 ml de eyaculado y se lo disuelve en 20 ml de solución salina formolada (1:200), se hace el conteo de espermatozoides en las esquinas y centro del cuadrante medio de cada retículo, se suma los dos conteos y se saca la media, después de esto se aplica la siguiente fórmula:  $(\text{media} * 10000) * 1000 = \text{concentración/cc}$ .

El procedimiento para la dilución del semen, con el diluyente experimental fue el siguiente:

- 100 cc agua destilada
- 14 gr leche descremada en polvo.
- 2 5 mg de glucosa.
- 30 mg de bicarbonato de sodio.
- 0,3 gr penicilina en polvo.

- A este diluyente se le mezcla con la cantidad de eyaculado necesaria o de acuerdo a la concentración de espermatozoides que se quiera tener en la dosis para cada hembra bovina que en este caso fue de 100 millones de espermatozoides por dosis.

La mezcla de semen y diluyente es gradual y en la misma cantidad, dejando 10 minutos de espera antes de agregar la siguiente cantidad de diluyente hasta obtener el volumen deciado.

El procedimiento para la dilución de semen testigo se lo realizo de la siguiente manera:

- 12,5 cc de Triladyl.
- 37,5 cc de agua pura estéril.
- 12,5 cc de yema de huevo fresco.
- A todo esto se lo va mezclando gradualmente, primero el Triladyl con el agua pura estéril, la cual quedaría de solución madre, luego se separa bien la yema de huevo si es posible previo a esto esterilizar la cáscara del huevo y separar cuidadosamente la clara y las membranas de la misma, una vez separado se le agrega suavemente la solución madre.
- Una vez efectuados los análisis mencionados anteriormente, se procedió a diluir el semen de tal manera que la dosis fue de 1cc con una concentración de 100 millones de espermatozoides.
- La dilución se la hizo paulatinamente, mezclando la cantidad de semen obtenida con la misma cantidad de diluyente, para dejarlo reposar 10 min, y proceder a una segunda o tercera dilución hasta conseguir el volumen y la concentración total requerida.

- De esto se tomo una gota y se la observo en el microscopio, para determinar la motilidad espermática.
- El procedimiento de inseminación se lo llevo a cabo con la técnica tradicional, utilizando un catéter rígido de lavado uterino y una jeringa desechable con embolo plástico.

## **2.5 VARIABLES ANALIZADAS**

### **2.5.1 Evaluación del Semen**

Para determinar la calidad del semen de los toros utilizados en cada una de las haciendas, se realizaron las pruebas macroscópicas y microscópicas, descritas en el capítulo anterior.

### **2.5.2 Condición Corporal (CC)**

La condición corporal fue evaluada durante el chequeo ginecológico, donde se utilizo una escala entre 1 y 5, para utilizar animales que estuviesen dentro de parámetro óptimos para ser utilizados en la investigación.

### **2.5.3 % de Fecundidad al 1º Servicio**

Se determinó la fecundidad a los 40 días pos inseminación mediante ecografía transrectal, con transductor lineal de 5,5 Mhz:

$$\% \text{ Pr} = \frac{\text{\# de hembras preñadas}}{\text{\# de hembras inseminadas}} \times 100$$

#### **2.5.4 Análisis de Costos**

Se determinaron los costos totales de cada tratamiento, así como el costo por vaca preñada en cada tratamiento y se analizó la viabilidad de su implementación al comparar con la fecundidad lograda al primer servicio en cada tratamiento considerando la proyección de la producción de leche estimada por año.

## CAPITULO III

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 EVALUACIÓN DEL SEMEN

Los resultados de la evaluación del semen fueron los siguientes:

##### 3.1.1 Hacienda Pacahuan

- Toro Holstein de 3,5 años de edad
- Motilidad en masa: muy buena.
- Motilidad individual: excelente.
- Tipo de semen: cremoso.
- Volumen total por eyaculado: 9 cc.
- % de espermatozoides anormales: 10%.
- Concentración espermática por cc: 1134'000.000
- Concentración espermática por eyaculado: 10.206'000.000 espermatozoides.

##### 3.1.2 Hacienda Chañag

- Toro Holstein de 3 años de edad.
- Motilidad en masa: excelente.
- Motilidad individual: excelente.
- Tipo de semen: cremoso-lechoso.
- Volumen total por eyaculado: 13 cc
- % de espermatozoides anormales: 10%.
- Concentración espermática por cc: 875'000.000
- Concentración espermática: 11.375'000.000 espermatozoides

De acuerdo a las características tomadas por el autor Hafez (2010), los cuales son con una concentración mínima por cc de 800.000.000 espermatozoides, con el 50% de motilidad progresiva hacia el frente, más del 80 % de células espermáticas con morfología normal y un aspecto opaco indicativo de alta concentración espermática; el semen obtenido en los toros de las dos haciendas fue de muy buena calidad.

### **3.2 CONDICIÓN CORPORAL**

La condición corporal promedio en las haciendas fue la siguiente: Hacienda Pacahuan con una media de 2,59 y en la hacienda Chañag fue de 2,58. Por lo que fue muy similar y no afecta en los resultados, ya que no hay diferencia significativa.

### **3.3 FECUNDIDAD AL PRIMER SERVICIO (%)**

La fecundidad al primer servicio determinada mediante ecografía transrectal a los 40 días pos inseminación fueron los siguientes:

#### **3.3.1 Hacienda Pacahuan**

Con el chequeo de preñez ecográfica a los 40 días pos inseminación, se determinó un porcentaje de preñez al primer servicio de 38% (3/8) con el diluyente T1 (Triladyl), y del 25% (2/8) con el diluyente T2 (Experimental). Pese a que con T1 se registró un mayor porcentaje de fecundidad, no se encontró diferencia estadística con el T2. (Tabla 4)

**TABLA 4. Resultados del porcentaje de preñez al primer servicio en la hacienda Pacahuan**

<b>PACAHUAN</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b># ANIMAL</b>	<b>C.C.</b>	<b>DIAGNOSTICO</b>	<b>% PR</b>
<b>EXPERIMENTAL</b>	3	2,75	0	25%
	23	2,5	1	
	51	2,5	0	
	63	2,75	0	
	66	2,5	1	
	285	2,75	0	
	405	2,75	0	
	431	2,75	0	
<b>TRILADYL</b>	19	2,5	0	38%
	28	2,5	0	
	65	2,5	0	
	81	2,5	1	
	236	2,75	0	
	286	2,5	1	
	424	2,5	1	
	443	2,5	0	

Elaborado por: El Autor

### 3.3.2 Hacienda Chañag

El porcentaje de preñez al primer servicio con el T1 (diluyente comercial Triladyl) fue de 57% (4/7) mientras que en el T2 (diluyente experimental), fue de 43% (3/7), los cuales no difieren estadísticamente. (Tabla 5)

**TABLA 5. Resultados del porcentaje de preñez al primer servicio en la hacienda Chañag.**

CHAÑAG				
TRATAMIENTO	# ANIMAL	C.C.	DIAGNOSTICO	% PR
EXPERIMENTAL	46	2,5	0	43%
	57	2,5	1	
	148	2,75	0	
	175	2,5	1	
	202	2,75	0	
	278	2,75	0	
	355	2,5	1	
TRILADYL	54	2,5	1	57%
	70	2,75	0	
	120	2,5	1	
	231	2,5	1	
	289	2,75	0	
	344	2,5	0	
	362	2,5	1	

Elaborado por: El Autor

**TABLA 6. Resultados del porcentaje de preñez al primer servicio unificado de las dos haciendas**

<b>RESULTADOS TOTALES</b>				
<b>PACAHUAN Y CHAÑAG</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>#ANIMAL</b>	<b>C.C.</b>	<b>DIAGNOSTICO</b>	<b>% PR</b>
<b>EXPERIMENTAL</b>	3	2,75	0	33%
	23	2,5	1	
	51	2,5	0	
	63	2,75	0	
	66	2,5	1	
	285	2,75	0	
	405	2,75	0	
	431	2,75	0	
	46	2,5	0	
	57	2,5	1	
	148	2,75	0	
	175	2,5	1	
	202	2,75	0	
	278	2,75	0	
	355	2,5	1	
<b>TRILADYL</b>	19	2,5	0	47%
	28	2,5	0	
	65	2,5	0	
	81	2,5	1	
	236	2,75	0	
	286	2,5	1	
	424	2,5	1	
	443	2,5	0	
	54	2,5	1	
	70	2,75	0	
	120	2,5	1	
	231	2,5	1	
	289	2,75	0	
	344	2,5	0	
	362	2,5	1	

Elaborado por: El Autor

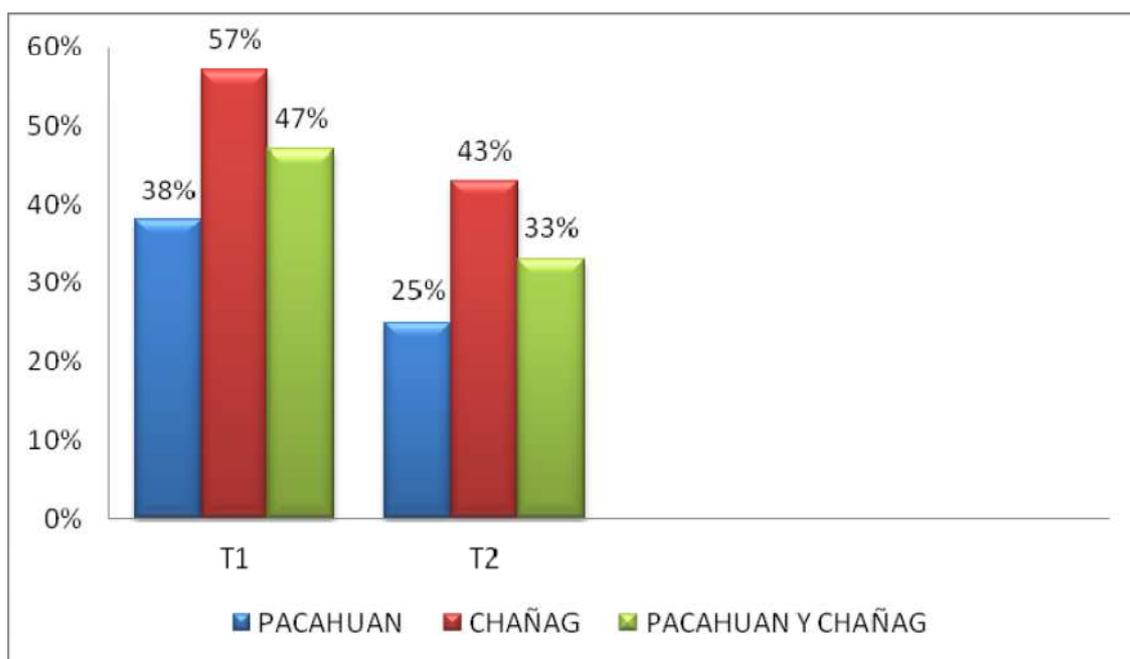
Unificando las dos haciendas los resultados para el porcentaje de preñez al primer servicio fueron los siguientes: Con el T1 fue de 47% (7/15), y en el T2 fue de 33% (5/15), los mismos que no presentan diferencia estadística. (Tabla 6).

Estos resultados de 33 y 47% con el tratamiento experimental y testigo respectivamente, son bajos si comparamos con la media ideal de preñez al

primer servicio, que debería ser cercano al 50%, tal como lo encontrado por Cesaroni G. (2007), que el % de preñez al primer servicio varía entre el 38 y 69%. Sin embargo estos datos son similares a los encontrados por Bó G. (2009), quien utilizando IATF y la hormona eCG registró porcentajes de preñez a primer servicio entre 30 y 44%.

Es probable que los resultados de esta investigación este influenciados por un inadecuado nivel nutricional de los animales, lo que influye directamente en la eficiencia reproductiva, tal como analiza Huanca, W. (2001), quien manifiesta que el manejo y la nutrición de los animales es más determinante en el porcentaje de preñez que el mismo protocolo de sincronización que se utilice.

**GRÁFICO 1 Representación grafica de los resultados obtenidos individualmente por hacienda y unificados**



Elaborado por: El Autor

Con los resultados se realizó el análisis estadístico estableciendo una regresión logística, para determinar la influencia significativa entre variables, y las pruebas de  $\chi^2$  (chi cuadrado) y test exacto de Fisher, para determinar diferencia significativa entre los dos diluyentes, tomando en cuenta varios parámetros como fueron, diluyente, finca y condición corporal. Estos

parámetros se los analizaron aleatoriamente en diferentes regresiones, donde no se encontró influencia significativa y tampoco diferencia significativa con ninguno de ellos ya que nuestro P fue siempre mayor a 0,05 como muestran las tablas de análisis a continuación detalladas:

### 3.4 ANÁLISIS DE INFLUENCIA SIGNIFICATIVA CON REGRESIÓN LOGÍSTICA

El análisis está basado en que si  $P > 0,05$  no hay influencia significativa entre las variables analizadas.

- Preñez en función de: diluyente, finca, Condición corporal
- Fórmula = diagnostico ~ diluyente + finca + CC, family = binomial.

**TABLA 7. Análisis de preñez en función del diluyente, finca y condición corporal**

COEFICIENTES	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	205.498	31372.189	0.007	0.995
Diluyente	-0.433	1.065	-0.407	0.684
Finca	-1.202	1.030	-1.168	0.243
CC	-81.597	12548.875	-0.007	0.995

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: diluyente, Condición corporal
- glm (fórmula = diagnostico ~ diluyente + CC, family = binomial)

**TABLA 8. Análisis de preñez en función del diluyente, condición corporal.**

COEFICIENTES	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	204.3314	32214.1972	0.006	0.995
Diluyente	-0.5798	1.0212	-0.568	0.570
CC	-81.3660	12885.6788	-0.006	0.995

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: diluyente
- glm (fórmula = diagnostico ~ diluyente, family = binomial)

**TABLA 9. Análisis de preñez en función del diluyente**

COEFICIENTES	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	-0.6931	0.5477	-1.266	0.206
Diluyente	0.5596	0.7536	0.743	0.458

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: finca
- glm(fórmula = diagnostico ~ finca, family = binomial)

**TABLA 10. Análisis de preñez en función de la finca**

COEFICIENTES	Estimate std	Error z	Value	Pr(> 0,05)
(intercept)	1.390e-16	5.345e-01	0.000	1.000
Finca	7.885e-01	7.594e-01	-1.038	0.299

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: Condición corporal
- glm (fórmula = diagnostico ~ CC, family = binomial)

**TABLA 11. Análisis de preñez en función de la condición corporal**

COEFICIENTES	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	201.59	32424.57	0.006	0.995
CC	-80.42	12969.83	-0.006	0.995

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: diluyente, finca, condición corporal (correlaciones)
- glm (fórmula = diagnostico ~ diluyente \* finca \* CC, family = binomial).

**TABLA 12. Análisis de preñez en función del diluyente, finca, condición corporal (correlaciones)**

COEFICIENTE	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	207.745	62088.324	0.003	0.997
Diluyente	3.164	98170.259	0.000	1.000
Finca	-4.460	78536.209	0.000	1.000
CC	-82.659	24835.329	0.997	1.000
Diluyente: finca	-13.954	153346.846	0.000	1.000
Diluyente: CC	-1.151	39268.103	0.000	1.000
Finca:CC	1.622	31414.483	0.000	1.000
Diluyente: Finca: CC	5.074	61338.738	0.000	1.000

Elaborado por: Dr. Ron J.

- Preñez en función de: condición corporal (a modo de factor)
- glm (fórmula = diagnostico ~ CC1, family = binomial)

**TABLA 13. Análisis de preñez en función de la condición corporal a modo de factor**

COEFICIENTE	Estimate std	Error z	Value	P(> 0,05)
(intercept)	0.5390	0.4756	1.133	0.257
CC12.75	-20.1051	3242.4569	-0.006	0.995

Elaborado por: Dr. Ron J.

### 3.5 TEST EXACTO DE FISHER Y $\chi^2$ (CHI CUADRADO)

El análisis se basa en que si  $P > 0,05$  no hay diferencia significativa.

**TABLA 14. Comparación: diluyente, preñez**

		Diluyente	
Preñez		Experimental	Triladyl
NO		10	8
SI		5	7

Elaborado por: Dr. Ron J.

Chisq.test(table(diagnostico,diluyente))

Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction data: table  
(diagnostico, diluyente)

X-squared = 0.1389, df = 1, **P-VALUE = 0.7094**

fisher.test(table(diagnostico,diluyente))

Fisher's Exact Test for Count Data: table(diagnostico, diluyente)

**P-VALUE = 0.7104**

**TABLA 15. Comparación: finca, preñez**

Finca		
Preñez	Chañag	Pacahuan
NO	7	11
SI	7	5

Elaborado por: Dr. Ron J.

chisq.test(table(diagnostico,finca))

Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction data:  
table(diagnostico, finca)

X-squared = 0.452, df = 1, **P-VALUE = 0.5014**

fisher.test(table(diagnostico,finca))

Fisher's Exact Test for Count Data: table(diagnostico, finca)

**P-VALUE = 0.457**

**TABLA 16. Comparación: finca, CC**

Finca		
Condición Corporal	Chañag	Pacahuan
2.5	9	10
2.75	5	6

Elaborado por: Dr. Ron J.

chisq.test(table(CC,finca))

Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction data: table(CC, finca)

X-squared = 0.0775, df = 1, **P-VALUE = 0.7807**

fisher.test(table(CC,finca))

Fisher's Exact Test for Count Data: table(CC, finca)

**P-VALUE = 1**

### 3.6 ANÁLISIS DE COSTOS

En la tabla 17 se puede apreciar los costos totales de la investigación.

**TABLA 17. Análisis de costos de la investigación**

CONCEPTO	CANT. USADA	UNIDAD	\$ UNITARIO	\$ TOTAL	POR TRATAMIENTO	
					T1	T2
CIDR	30	unid.	12,28	368,4	184,2	184,2
GRAFOLEON	18	cc	0,32	5,76	2,88	2,88
ESTRUMATE	60	cc	0,7	42	21	21
TRILADYL	12,5	cc	0,83	10,375	10,375	
AGUA DESTILADA	137,5	cc	0,02	2,75	1,375	1,375
YEMA DE HUEVO	12,5	cc	0,02	0,25	0,25	
LECHE DESC.	14	gr	0,24	3,36		3,36
PENICILINA	300	mg	0,03	9		9
GLUCOSA	30	mg	0,036	1,08		1,08
BICARBONATO	25	mg	0,048	1,2		1,2
MAT. VET. P/CAMPO				22,79	11,395	11,395
MAT. DE LABORAT.				13,05	6,525	6,525
<b>TOTAL</b>					<b>238</b>	<b>242,015</b>

Elaborado por: El autor.

En la tabla 18 se puede apreciar el análisis de los costos por cada una de las vacas del tratamiento, así como el costo por cada una de las vacas que quedaron preñadas en cada tratamiento.

**TABLA 18. Costos en dólares por vaca y por vaca preñada en los dos tratamientos**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>COSTO VACA (\$)</b>	<b>COSTO VACA PR (\$)</b>
<b>T1</b>	15,87	34,00
<b>T2</b>	16,13	48,40

**Elaborado por:** El autor.

Analizados estas tablas se puede observar que los costos por vaca en los dos tratamientos T1 y T2 son muy similares. Sin embargo, si consideramos solamente las vacas preñadas, tenemos un mayor costo con el tratamiento T2 (diluyente experimental).

## CAPITULO IV

### 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

- En la fase de adiestramiento se logró obtener la destreza necesaria para la extracción, evaluación y dilución del semen bovino, en vista de que se alcanzó una viabilidad del semen necesaria para conseguir la fecundación en las vacas del ensayo.
- Los diluyentes utilizados en esta investigación, tanto el comercial (Triladyl), como el experimental (leche descremada), alcanzaron porcentajes de fecundidad a primer servicio muy similar, que no difieren estadísticamente, por lo que cualquiera de los dos puede ser utilizado indistintamente.
- La inseminación con semen fresco puede ser una alternativa a utilizar con pequeños y medianos productores, con la cual se puede optimizar el potencial genético de un toro valioso que acompañado a un programa de IATF puede inseminarse en un mismo día un gran número de hembras bovinas.
- El porcentaje de fecundidad a primer servicio no estuvo influenciado por el tipo de diluyente utilizado en cada una de las haciendas, sin embargo estos porcentajes de preñez no fueron los esperados, por lo que se asume que otras serian las causas predisponentes.
- El semen de los toros utilizados en las dos haciendas fue de muy buena calidad, determinado esto por las diferentes pruebas de evaluación realizadas.

- Los costos por vaca obtenidos en los dos tratamientos fueron muy similares, pero al analizar los costos por vaca preñada se obtiene un valor 42% más alto con T2 respecto a T1.

## 4.2 RECOMENDACIONES

- Utilizar semen diluido en base a leche descremada, ya que la efectividad fue muy similar a la encontrada con el diluyente comercial, tanto en la viabilidad pos dilución, así como en el porcentaje de preñez a primer servicio.
- Promover la inseminación de vacas con semen fresco de toros locales de alta calidad, especialmente para pequeños o medianos productores, que no disponen de toros valiosos que cumplan con el propósito del mejoramiento genético.
- Se recomienda que previo a un programa de sincronización e inseminación artificial en bovinos, se analice la condición corporal y básicamente el plano nutricional para seleccionar de mejor manera las vacas que entran al programa, y así alcanzar mejor eficiencia en la preñes.
- Para la extracción y procesamiento del semen, es importante que se tomen en cuenta las medidas higiénicas, sanitarias, y los protocolos respectivos de tal manera que el material seminal obtenido sea viable y minimizar riesgos de transmisión de enfermedades, tal como se realizó en esta investigación.

## REFERENCIAS

### Libros:

- Catalani P. Cátedra de fisiología de la Universidad Católica de Córdoba, 2004. Pag. 1-33.
- CUNNINGHAM, James, Fisiología Veterinaria, tercera edición, 2003. Pag. 382.
- Durán F. Inseminación y transferencia de embriones en animales de granja Grupo Latino Editores S.A.S. Primera edición. Colombia 2010
- HAFEZ E.S.E, HAFEZ B, Reproducción e Inseminación Artificial en animales, séptima edición, 2010. Pag. 163-164, 269-277, 390.
- Vela Diego, Cátedra de reproducción animal de la Universidad de las Américas, 2009. Pag. 1-2, 73-84.

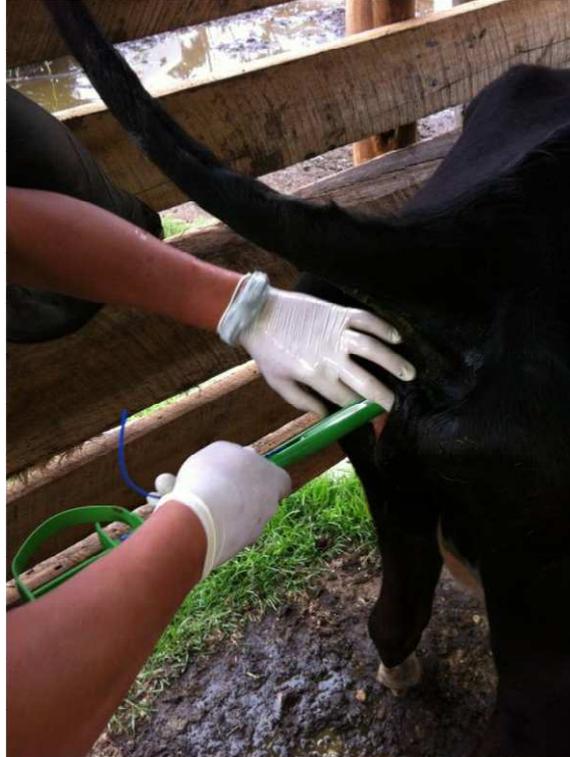
### Documentos de Internet:

- Bó G. 2009. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría. Instituto de Reproducción Animal Córdoba. Universidad Católica de Córdoba-Argentina, 2009. [www.Produccion-animal.com.ar](http://www.Produccion-animal.com.ar)
- Cesaroni, G. Evaluación del uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. Sincrovac. Argentina, 2007, 12-08-2011 [info@sincrovac.com.ar](mailto:info@sincrovac.com.ar)
- Cutaia L. Programas de IATF. Asesor Técnico Syntex S.A., Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Universidad Católica de Córdoba. 2005, 12-08-2011. <http://www.syntexar.com>  
[www.lcutaia@iracbiogen.com.ar](mailto:www.lcutaia@iracbiogen.com.ar)
- Huanca W. 2001. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. Rev Inv Vet Perú 2001; 12(2): 161-163. [www.scielo.org.pe](http://www.scielo.org.pe)
- INIA - DILAVE. Uruguay, 2001. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar),

# ANEXOS

Foto N° 1 y 2 Colocación del CIDR e inyección de BE.

N° 1



N° 2



Foto N° 3, 4 y 5. Preparación de los diluyentes para el semen.

N°3



N° 4



N°5



Foto N° 6. Preparación de la vagina artificial para la extracción del semen.

N° 6



Foto N° 7, 8, 9 y 10. Preparación del toro y extracción del semen al toro.

N° 7



N° 8



N° 9



N° 10



Foto N° 11, 12 y 13. Evaluación seminal.

N° 11



N° 12



N° 13



Foto N° 14 y 15. Preparación del diluyente + semen para la inseminación.

N° 14



**N° 15**

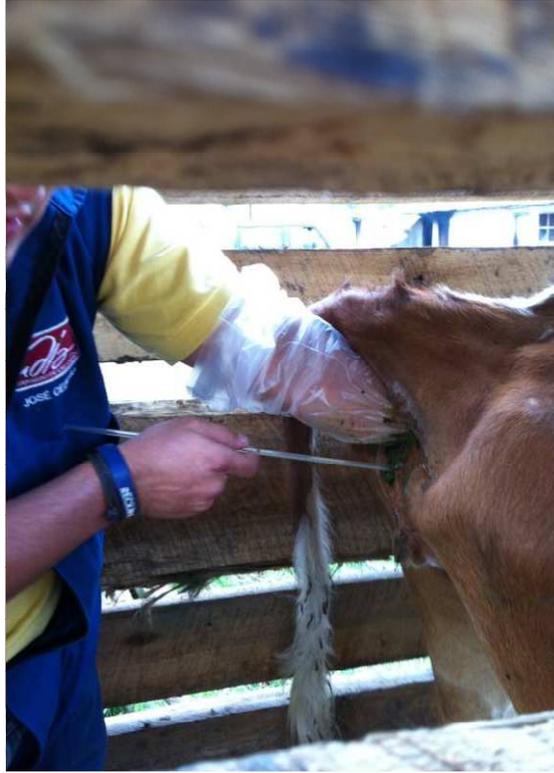


**Foto N° 16, 17 y 18. IATF de las vacas sincronizadas para la investigación.**

**N° 16**



N° 17



N° 18

