



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: PECUARIA

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICA
VETERINARIA**

**MODALIDAD:
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:
DINÁMICA FOLICULAR EN RECEPTORAS DE EMBRIONES
BOVINOS SINCRONIZADAS CON UN J-SYNCH MODIFICADO Y
NORMAL SOBRE LOS NIVELES HORMONALES.**

**AUTORAS:
MARÍA VANESSA FIGUEROA PÁRRAGA
CAMILA NATHALY GUADALUPE VÉLIZ**

**TUTOR:
M.V. JOFRE ANDRÉS VERA CEDEÑO Mg. Sc.**

CALCETA, DICIEMBRE DE 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

MARÍA VANESSA FIGUEROA PÁRRAGA y CAMILA NATHALY GUADALUPE VÉLIZ, declaramos bajo juramento, que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

MARÍA V. FIGUEROA PÁRRAGA

CAMILA N. GUADALUPE VÉLIZ

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

M.V. JOFRE ANDRÉS VERA CEDEÑO, MG. SC, certifica haber tutelado el proyecto, **DINÁMICA FOLICULAR EN RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS SINCRONIZADAS CON UN J-SYNCH MODIFICADO Y NORMAL SOBRE LOS NIVELES HORMONALES**, que ha sido desarrollada por **MARÍA VANESSA FIGUEROA PÁRRAGA** y **CAMILA NATHALY GUADALUPE VÉLIZ**, previa la obtención del título de Médica Veterinaria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

M.V. ANDRÉS VERA CEDEÑO, Mg. Sc.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación, **DINÁMICA FOLICULAR EN RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS SINCRONIZADAS CON UN J-SYNCH MODIFICADO Y NORMAL SOBRE LOS NIVELES HORMONALES**, que ha sido propuesta, desarrollada por **MARÍA VANESSA FIGUEROA PÁRRAGA** y **CAMILA NATHALY GUADALUPE VÉLIZ**, previa la obtención del título de Médica Veterinaria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Feliz López.

DR. FREDDY A. ZAMBRANO

ZAMBRANO, Mg. Sc.

MIEMBRO

Q.F. JOHNNY D. BRAVO LOOR, MPA.

MIEMBRO

ING. JESÚS O. MUÑOZ CEDEÑO, Mg. Sc.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por darme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, y a todos los docentes de la carrera de Medicina Veterinaria por haberme brindado la oportunidad de una educación superior de calidad.

Gracias a mis padres Narcisa Véliz y Ángel Guadalupe por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos y por cada una de sus palabras que me guiaron durante mi vida estudiantil.

A mis hermanos, sobrinos y demás familiares, por cada consejo, cada apoyo en todos los aspectos, por la paciencia y afecto que me brindan siempre.

A mi tutor de tesis el M.V. Jofre Andrés Vera Cedeño por el empeño y asesoría en la realización de la tesis.

A mi amiga Lucía López por el cariño, por todos los consejos, por el apoyo económico y emocional que he recibido en los momentos difíciles de mi vida. A mis amigos y amigas por confiar y creer en mí y haber hecho de mi etapa universitaria un trayecto de vivencias que nunca olvidaré.

CAMILA N. GUADALUPE VÉLIZ

DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

A mis padres Narcisa Araceli Véliz Mendoza y Ángel Edelmer Guadalupe Jiménez, por ser los pilares más importantes en mi vida, por su comprensión, ayuda en los momentos malos y menos malos. Me han enseñado a enfrentar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

A mis hermanos Gary Guadalupe, Mónica Guadalupe y Ángel Guadalupe, por brindarme el apoyo emocional y económico incondicional a lo largo de mi trayectoria porque han sido un sustento para poder culminar mi carrera profesional, los amo mucho.

A mis sobrinos Ailyn Granja, Derek Granja, Daryl Guadalupe y Nicolás Guadalupe, a mis cuñados Darwin Granja y Gladys Gaona, a mi tía María Véliz y a mis abuelos Hugo Véliz y Elvia Mendoza, por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo a pesar de la distancia, infinitas gracias.

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A mis amigos y a todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

CAMILA N. GUADALUPE VÉLIZ

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme dado fuerza, valor y por haberme acompañado en lo largo de mi carrera.

Y gracias infinitas a mi Madre y a mi Padre que me brindaron su amor, confianza y apoyo, gracias por corregir mis faltas y celebrar mis triunfos, gracias, mamá y papá que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria y supieron darme el apoyo suficiente en momentos difíciles.

Gracias, hijo mío por ser la fuente de mi esfuerzo y todas las energías requerida en este proceso, gracias por ser el motor para mi vida y muchas gracias a mi esposo por su enorme capacidad de comprensión.

A mis hermanos por su apoyo y consejos diarios que me han ayudado afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

A mi amiga Camila Guadalupe que durante estos años de carrera ha sabido ayudarme entre risas, bromas, enojos y junto a sus ideas hemos podido culminar con éxito este gran proyecto.

Agradezco a mi tutor de tesis el M.V. Jofre Andrés Vera Cedeño quien con su experiencia, conocimiento, motivación y rectitud me orientó en la investigación.

Así mismo eterno agradecimiento a una amiga que la vida me presentó, Lucía López por haberme ayudado en el momento que más necesite.

Y gracias a todas las personas que confiaron en mí y me brindaron su ayuda en este proyecto.

MARÍA V. FIGUEROA PÁRRAGA

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada principalmente a:

Dios por haberme dado la vida y la fuerza para cumplir este sueño tan anhelado.

Con todo mi amor a mis padres María Párraga y Walter Figueroa por su apoyo constante, por llenar mi vida con sus valiosos consejos y por todo su amor y confianza depositado en mí.

A mi hijo Ramsés por ser ese pedacito de luz que llego a iluminar mi vida, hijo mío posiblemente en estos momentos no entiendes mis palabras, pero para cuando seas capaz de comprenderlas quiero que te des cuenta lo que significas para mí. Eres la razón de que me levante cada día esforzarme por el presente y el futuro eres mi principal motivación con amor mamá.

A mis hermanos Irvin, Isabel y Walter por el apoyo moral que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida.

A mi madrina Graciela Zambrano por estar conmigo y mis padres en todo momento en las buenas y en las malas por ser mi segunda mamá.

A mis primas Jennifer y Mónica Figueroa Nevárez y a mi tía política Nanci Nevárez por sus consejos diarios y por su incondicional amistad.

Pdta.: Se las dedico a todos que nadie se quede afuera!

MARÍA V. FIGUEROA PÁRRAGA

CONTENIDO GENERAL

	Pág.
CARÁTULA	i
DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
CONTENIDO GENERAL	ix
CONTENIDO DE CUADROS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
KEY WORD	xiv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	1
1.2. Justificación	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Hipótesis	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Sincronización de receptoras de embriones bovinos	5
2.2. Dinámica folicular durante el ciclo estral	5

2.3. Utilización de estradiol y progesterona	6
2.4. Protocolo j-synch	7
2.5. Protocolo convencional.....	8
2.6. Transferencia de embriones	8
2.6.1. Transferencia de embriones a tiempo fijo	9
2.6.2. Consideraciones para la respectiva transferencia de embrión.....	9
2.7. Ultrasonografía	10
CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO	11
3.1. Ubicación de la investigación.....	11
3.2. Características climáticas	11
3.3. Duración del trabajo.....	11
3.4. Métodos y técnicas	11
3.4.1. Método de análisis de estradiol (E2).....	11
3.4.2. Método de análisis de progesterona (4).....	12
3.4.3. Técnicas	12
3.5. Factores en estudio	12
3.6. Diseño experimental.....	12
3.7. Unidad experimental.....	13
3.8. Variables	13
3.8.1. Variables independientes	13
3.8.2. Variables dependientes	13
3.8.3. Covariables.....	14
3.9. Procedimiento.....	14
3.9.1. Animales e instalaciones	14

3.9.2. Selección de las hembras receptoras para el seguimiento folicular.....	14
3.9.3. Aplicación de protocolos.....	14
3.9.4. Tratamiento 1 (J-Synch 6 d).....	15
3.9.5. Tratamiento 2 (J-Synch 7 d).....	15
3.9.6. Tratamiento 3 (Convencional).....	16
3.9.7. Seguimiento de la dinámica folicular, crecimiento folicular y tasa de ovulación.....	17
3.9.8. Obtención de muestras de sangre.....	17
3.9.10. Ultrasonografía.....	18
3.10. Obtención de variables.....	18
3.10.1. Vacas transferidas.....	18
3.10.2. Tasa de ovulación.....	18
3.10.3. Tasa de celo.....	18
3.11. Análisis estadístico.....	19
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1. Dinámica folicular según grupos de tratamiento... ..	20
4.2. Desarrollo lúteo según grupos de tratamiento.....	21
4.3. Niveles circulantes en ng/ml de esteroides (estradiol y progesterona) según los grupos de tratamiento.....	22
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	24
5.1. Conclusiones.....	24
5.2. Recomendaciones.....	25
BIBLIOGRAFÍA.....	26
ANEXOS.....	31

CONTENIDO DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 3. 1. Características climáticas.....	11
Cuadro 4. 1. Dinámica folicular según grupos de tratamiento	20
Cuadro 4. 2. Desarrollo lúteo según grupos de tratamiento.....	21
Cuadro 4. 3. Niveles de progesterona según grupos de tratamiento.....	22
Cuadro 4. 4. Niveles de estradiol según grupos de tratamiento	23

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la dinámica folicular en receptoras de embriones bovinos sincronizadas con un J-Synch modificado y normal sobre los niveles de estradiol y progesterona. Se utilizó un procedimiento de modelos generales y mixtos con enlace logit para determinar la influencia de las distintas variables y sus interacciones con un alfa de $<0,05$ para determinar diferencias significativas y un valor de $<0,10$ para tendencias significativas. Todos los datos se analizaron con el paquete estadístico de InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2019). Como resultado existió diferencias significativas en el grupo Convencional transfiriendo más vacas 90,0% (18:20), así mismo estadísticamente ($P<0,05$) se evidencia el diámetro de los cuerpos lúteos del grupo de vacas J-Synch 7 días ($21,89\pm 0,81$ mm) fueron mayor al Convencional ($16,81\pm 0,95$ mm). Existió diferencias estadísticas ($P<0,05$) en el diámetro del folículo preovulatorio entre tratamientos, este fue mayor en el grupo de vacas J-Synch 7 días, ($16,4\pm 0,2$ mm). Además, entre los niveles de progesterona existió diferencias significativas para el nivel de progesterona a los 7 días post celo, fue mayor las vacas del grupo J-Synch 6 días ($5,03\pm 1,2$ ng), mientras que, para los niveles de estradiol, no existió diferencias significativas entre los grupos evaluados. Se concluye que con el tratamiento J-Synch 7 días, se obtuvo una mayor duración del proestro, un mayor diámetro de cuerpos lúteos y de folículos preovulatorios que con el tratamiento Convencional, lo cual podría ser una alternativa viable para conseguir altas tasas de preñez en receptoras de embriones.

PALABRAS CLAVES

Estradiol, Progesterona, Remoción del dispositivo, Folículos.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the follicular dynamics in recipients of bovine embryos synchronized with a modified and normal J-Synch on the levels of estradiol and progesterone. A procedure of general and mixed models with logit link was used to determine the influence of the different variables and their interactions with an alpha of <0.05 to determine significant differences and a value of <0.10 for significant trends. All data was analyzed with the InfoStat statistical package (Di Rienzo et al., 2019). As a result, there were significant differences in the Conventional group transferring more cows 90.0% (18:20), also statistically ($P < 0.05$), the diameter of the luteal bodies of the J-Synch group of 7 days (21.89 ± 0.81 mm) were greater than Conventional (16.81 ± 0.95 mm). There were statistical differences ($P < 0.05$) in the diameter of the follicle between treatments, this was greater in the group of J-Synch cows of 7 days (16.4 ± 0.2 mm). In addition, between the levels of progesterone there were significant differences for the level of progesterone at 7 days post heat, the cows of the J-Synch group were 6 days (5.03 ± 1.2 ng), while, for levels of estradiol, there were no significant differences between the groups evaluated. It is concluded that with the 7-day J-Synch treatment, a longer duration of the proestro was obtained, a greater diameter of luteal bodies and of follicles than with the Conventional treatment, which could be a viable alternative to achieve high pregnancy rates in embryo recipients.

KEY WORD

Estradiol, Progesterone, Device removal, Follicles.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los sistemas de producción ganaderos se basan en la producción eficiente de derivados de origen animal. Por esta razón, el desarrollo de las técnicas que mejoran la genética cumplen un rol fundamental en la producción ganadera. Para este propósito es muy importante la aplicación de nuevas tecnologías que ayuden a mejorar el control de la reproducción en las ganaderías para obtener una mayor rentabilidad (Duica, 2007).

En la actualidad la industria ganadera pretende que los animales ya sean para carne o leche, tengan un alto rendimiento productivo y que por año se logre obtener una cría por vaca. Sin embargo, muchas veces es difícil de alcanzar esta meta por circunstancias como: la deficiencia de manejo y mala selección de los reproductores (Saldarriaga, 2009). Es necesario que empleen técnicas reproductivas como la inseminación artificial a tiempo fijo para aumentar la performance reproductiva y la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF) para mejorar de forma significativa la genética animal; ambas biotecnologías permiten trabajar un número grande de animales en un tiempo determinado, evitando la detección de celo (Bó *et al.*, 2004).

La utilización de protocolos de sincronización modernos que permitan a la industria ganadera obtener un eficiente progreso genético significativo, es hoy por hoy sustancial en este proceso (Saldarriaga, 2009). Desde el año 2012, el grupo de investigación, De la Mata y Bó, (2012) han descrito nuevos tratamientos que prolongan el proestro y aumentan la fertilidad en el ganado bovino. Estos tratamientos han sido usados para generar una correcta sincronía entre el embrión y la receptora.

Varios estudios han mencionado que un buen tamaño del folículo dominante es sustancial y preciso en la formación de un buen cuerpo lúteo que segregue niveles significativos de progesterona (P4); lo cual determinará un buen ambiente uterino, propicio para el desarrollo del embrión (Gonella, 2010). Bajo este requerimiento se aplican las biotecnologías reproductivas como la transferencia de embriones (TE), se ha demostrado que el tamaño del folículo,

el volumen del cuerpo lúteo (CL) y la secreción de P4, son componentes relacionados al establecimiento y mantenimiento de la preñez (Vasconcelos *et al.*, 2001).

La implementación de la TETF es la técnica más utilizada que permite multiplicar rápidamente animales de alto valor genético, esta técnica permite acelerar el mejoramiento genético del ganado por el lado materno y es allí donde la biotecnología juega un rol muy importante. Y permite obtener gran número de crías de donadoras de gran valor fecundadas con semen de toros de buena calidad genética, lo que resulta una buena rentabilidad para la producción animales de carne y leche (Hasler, 2003).

Además de estas técnicas reproductivas, existen otras como la ultrasonografía que han ayudado a estudiar el efecto de los distintos tratamientos hormonales para la sincronización de la ovulación y del celo sobre la dinámica folicular en el bovino, llevando a cabo el desarrollo de protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación. Es así, que existen muchos protocolos de sincronización los cuales tienen sus ventajas y desventajas, por esta razón el veterinario debe de tener conocimiento de la fisiología reproductiva del bovino para determinar cuál es ambiente y método para trabajar (Bó, 2002).

Por lo anteriormente expuesto, se plantea la siguiente interrogante. ¿Los protocolos de prolongación de proestro (J-Synch y J-Synch modificado) permitirán al folículo dominante reclutado crecer más y ser ovulado con un mayor tamaño que en el protocolo convencional con cipionato de estradiol?

1.2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se han desarrollado diferentes protocolos para la sincronización de la ovulación y así evitar la necesidad de la detección de celo y puede ser eliminada o por lo menos minimizada sin comprometer las tasas de preñez (Colazo *et al.*, 2007). Se ha investigado en la actualidad la acción hormonal sobre la dinámica folicular, durante el proceso del ciclo estral de la vaca con el objetivo de perfeccionar la eficiencia reproductiva (Díaz, 2008).

Los parámetros reproductivos específicos en cada biotipo animal para realizar programas de reproducción con (TETF) han sido notable, a lo largo del tiempo se ha logrado demostrar que existen importantes diferencias en el ganado *Bos taurus* y el *Bos indicus*, por lo tanto, en el trópico como en climas templados, con tiempos distintos y comportamientos diferenciados, e inclusive con manifestaciones de celo un tanto variables (celo con mayor expresión nocturna en los *Bos indicus*). Sin lugar a duda uno de los mejores logros en la actualidad en la reproducción bovina, ha sido disponibilidad comercial de sincronizadores de celo muy útiles en la ganadería (Ramírez, 2006).

Numerosas investigaciones se han desarrollado para evaluar el uso de tratamientos cortos; entre ellos está el J-Synch (De la Mata *et al.*, 2012). Este tratamiento consiste en la inserción de un dispositivo con progesterona por un período de 6 días, junto con una dosis de benzoato de estradiol (BE) al inicio del tratamiento para sincronizar el inicio de una nueva onda folicular. En el momento de retirar el dispositivo se aplica un agente luteolítico, y 72 horas después junto con la aplicación de un análogo de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) todos los animales se evidencian en celo, para lo cual 7 días después de ese momento el útero de todas las hembras estará en condiciones de recibir un embrión producido *in vivo* o *in vitro* (Carrosco *et al.*, 2016).

Es importante la investigación sobre nuevos tratamientos de sincronización que permitan un aumento importante en los parámetros reproductivos de los bovinos, ya que la demanda creciente el uso de genética de elite es fundamental en este proceso (Baruselli *et al.*, 2015).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la dinámica folicular en receptoras de embriones bovinos sincronizadas con un J-Synch modificado y normal sobre los niveles de estradiol y progesterona.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los niveles de progesterona y estradiol al momento de la remoción del dispositivo y expresión del celo en todos los tratamientos (J-Synch normal, J-Synch 7 días y Convencional).

Establecer los niveles de progesterona y estradiol en relación a la respuesta fisiológica de la dinámica folicular de los tratamientos.

Estimar las tasas de crecimiento folicular, diámetro del folículo ovulatorio con los protocolos J-Synch normal, J-Synch 7 días y tratamiento Convencional (control).

1.4. HIPÓTESIS

Los folículos dominantes reclutados, folículos preovulatorios y cuerpos lúteos tendrán un mayor diámetro en el tratamiento J-Synch modificado que los del J-Synch normal y tratamiento Convencional con cipionato de estradiol.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS DE EMBRIONES BOVINOS

Por muchos años se ha impedido la utilización de técnica de transferencia de embriones (TE) debido a uno de los factores que es la detección de celos, principalmente en el ganado *Bos Indicus*. El desarrollo de protocolos efectivos de sincronización de la ovulación para evitar la detección de celos ha traído como consecuencia el desarrollo de métodos de sincronización de la ovulación ya que facilita la TE de forma sistemática o transferencia embrionaria a tiempo fijo (Bó *et al.*, 2002).

Se han desarrollado protocolos que sincronizan el ciclo estral de las receptoras, la baja eficiencia, además continúa siendo un factor limitante en el uso de la técnica para realizar una efectiva sincronización y detección de celos. Por lo tanto, la baja eficiencia influye en el costo la manutención de una receptora hasta que queda preñada y consecuentemente en el costo de la preñez alcanzada (Bó *et al.*, 2004).

2.2. DINÁMICA FOLICULAR DURANTE EL CICLO ESTRAL

A finales de los 80, trabajos de investigación que utilizaron la ultrasonografía de tiempo real documentaron que el crecimiento folicular bovino ocurre en ondas. En otros trabajos demostraron que el patrón de ondas se repite en otros periodos de la vida del animal, como en el periodo de postparto y en el periodo prepúber. Una onda de crecimiento folicular incluye al desarrollo de sincronización de un grupo de folículos identificables individualmente con diámetro de 4 mm que ocurre en los dos ovarios al mismo tiempo (Bó, 2002).

El crecimiento folicular en el bovino ocurre simulando ondas. Este patrón de ondas se repite en casi todos los estadios de la vida de la hembra bovina, incluyendo el período pre púber (Evans *et al.*, 1994).

La ciclicidad de la reproducción y las diferencias individuales presentes entre los animales ha sido una discusión y controversia durante muchos años hasta definir

cómo se desarrollan y atresia los folículos durante el ciclo estral del bovino (Bó, 2002).

La onda folicular se definió como la activación y el crecimiento simultaneo de un grupo de folículos terciarios que emergen, continuando uno de ellos su crecimiento y diferenciación folículos dominantes, mientras que los folículos subordinados se atresian (Gigli *et al.*, 2006).

La emergencia del grupo de pequeños folículos antrales se inicia antes del día de la ovulación y durante los próximos (Bó *et al.*, 1994). El folículo dominante secreta inhibina y estrógenos, las cuales son capaces de inhibir el desarrollo de una nueva onda folicular y el crecimiento de los folículos. Además, el folículo dominante sigue aumentando de tamaño, y el crecimiento de los folículos restantes cesan o se vuelven lentos y finalmente estos folículos subordinados sufren atresia (Fricke, 2001).

El folículo dominante de la primera onda será anovulatorio, porque se desarrolla durante la fase luteal, el folículo dominante tiene una fase de crecimiento, una estática y otra de regresión. Los folículos subordinados en cada onda incrementan su tamaño, pudiendo el mayor de ellos alcanzar un diámetro de 8 mm, tienen una pequeña fase estática y regresan (Ginther *et al.*, 1989).

2.3. UTILIZACIÓN DE ESTRADIOL Y PROGESTERONA

Para el desarrollo folicular existe un control efectivo de tratamientos hormonales que incluyen GnRH, o progesterona y estradiol. Actualmente. Los primeros tratamientos de 14 y 21 días evaluados fueron los que obtuvieron buena sincronía del estro para la baja fertilidad, debido a la formación de folículos persistentes. Se combinó a estos dispositivos con una capsula de 10 mg de benzoato de estradiol (BE) que se administraba en el momento de la inserción del dispositivo para inducir la regresión luteal. En otros trabajos indican la administración de PGF 2α en el momento de la remoción del dispositivo, por lo tanto, con la administración de una dosis baja de BE en el momento de la inserción del dispositivo acortar los tratamientos a 7 u 8 días (Bó *et al.*, 1994, 1995).

Los tratamientos a base de estradiol y dispositivos intravaginales con progesterona para sincronizar la emergencia de la onda folicular y la ovulación se utilizan más en América del Sur y México. En varios países como EE.UU, Canadá y Europa las formulaciones con estradiol no están disponibles en el mercado veterinario (Colazo, 2014).

Los protocolos que emplean estradiol 17β o benzoato de estradiol junto con progesterona comúnmente administrada vía dispositivos intravaginales, han sido empleados para manipular la atresia folicular y emergencia de onda foliculares y sincronización de la ovulación (Bó *et al.*, 2002).

La combinación de estas hormonas estradiol y progesterona suprime la FSH y la liberación de la LH y el crecimiento de folículos antrales. El estradiol solo en un momento de bajos niveles de progesterona circulante estimula la liberación de LH e induce la ovulación de los folículos ováricos. Luego de que el estradiol es metabolizado la FSH en circulación aumenta y emerge una nueva onda folicular cuatro días después del tratamiento (Bó *et al.*, 2000).

2.4. PROTOCOLO J-SYNCH

El protocolo J-Synch fué desarrollado en una primera investigación en receptoras de embriones por De la Mata y Bó, (2012). Este protocolo se basa en la aplicación de estrógenos y progestágenos, este es un nuevo método de sincronización de celo. Lo han utilizado en muchos trabajos de investigación en los cuales ha brindado muy buenos resultados, se ha desarrollado con la finalidad de mejorar el desarrollo del folículo dominante antes de la ovulación e incrementando la tasa de preñez después de inseminación artificial a tiempo fijo en vaconas.

Esto permitió disminuir el periodo de dominancia y prolongar el proestro, ya que se demostró que la calidad embrionaria puede verse afectada cuando la dominancia de un folículo ovulatorio aumenta más de 1.5 días (Cerri *et al.*, 2009) y la prolongación del proestro se correlacionó con mayores concentraciones séricas de estradiol, aumentando la fertilidad en la IATF (Bridges *et al.*, 2008).

Desde el año 2011 han realizado diversos experimentos con el objetivo de desarrollar nuevos tratamientos utilizando BE y progesterona y lograr sincronizar el inicio de una nueva onda folicular con un reducido periodo de inserción de dispositivos con progesterona por un periodo de 6 días en lugar de 7 u 8 días, aplicando GnRH como inductor de la ovulación a las 72 horas después de la remoción del dispositivo junto con la IATF tratando la obtención de un proestro prolongado. Este tratamiento ha demostrado alcanzar aceptables tasas de preñez, se le denomina J-Synch, ya que es eficiente para la sincronización la ovulación en vaquillonas de carne (De la Mata *et al.*, 2015).

2.5. PROTOCOLO CONVENCIONAL

Este protocolo se ubica internamente de los tratamientos con progestágenos impregnados en dispositivos intravaginales bovinos. En el día 0 se realiza la aplicación del dispositivo junto con la administración de BE, 8 días después se retira el dispositivo y se aplica una dosis de prostaglandina. El día 9 se realiza una segunda aplicación BE y por último el día 10 se realiza la respectiva inseminación considerando que deben transcurrir entre 52 a 56 horas del retiro del dispositivo intravaginal (Ruiz, 2017).

La función del BE es producir la atresia del folículo dominante. Como la atresia es seguida por el comienzo de una nueva onda folicular a los 4 días (Moreno *et al.*, 2001) se asegura de esta manera la presencia de un folículo nuevo y un ovocito viable en el momento de retirar el dispositivo (Bó *et al.*, 1995).

Al día 7/8 se retira el dispositivo intravaginal y se administra un agente luteolítico; a las 24 h posteriores se inyecta benzoato de estradiol para sincronizar las ovulaciones. La IATF se realiza 52-56 h post retiro del dispositivo. Esto se sustenta en que la ovulación ocurre en promedio a las 66 h (Cutaia *et al.*, 2001).

2.6. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

La transferencia de embrión (TE) es una técnica que consiste en la extracción de embriones no plantados del conducto reproductor de la hembra bovino donante (madre genética), por perfusión con un medio apropiado para luego ser depositado en el conducto de una hembra receptora (madre nutricia) y para así obtener la gestación a término. Así mismo Las ventajas de la TE son: aceleración

del progreso genético aprovechamiento del potencial de hembras de alta genética, control de enfermedades infectocontagiosas, obtención de crías con mayores posibilidades de supervivencias y adaptación (Mosquera, 1994).

La TE es una técnica que consiste en seleccionar una hembra donante, genéticamente superior, que se le sincroniza el estro por medio de tratamientos hormonales. Se induce una multiovulación con la ayuda de Gonadotropinas, la donante es capaz de producir varios folículos hasta el estado ovulatorio para obtener un mayor número de ovocitos viables. (Duica, 2010).

Además la TE tiene desventajas como cualquier proceso biotecnológico estas desventajas son: existencia de la multiplicación de características no deseadas de animales que no son aptos para ser introducidos en un programas de TE, poca disponibilidad de hembras receptoras ideales, incluso se presentan altos costos en hormonas para el control del ciclo estral y la superovulación, poco personal técnico altamente capacitado para evitar disminución en la efectividad de la técnica y muchas veces existe variabilidad en la calidad de los embriones (Bó *et al.*, 2003).

2.6.1. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES A TIEMPO FIJO

La transferencia de embriones en la cual se ha avanzado es la sincronización de celos de las receptoras. Hoy por hoy con el uso de dispositivos que contienen progesterona y otros tratamientos hormonales es muy fácil eliminar por completo la detección de celos en las receptoras (Bó *et al.*, 2002). Luego de 7 u 8 días después del celo, las receptoras que poseen un cuerpo lúteo, de entre 15 y 18 mm de diámetro, determinado por medio de la ecografía transrectal, son transferidas con un embrión.

2.6.2. CONSIDERACIONES PARA LA RESPECTIVA TRANSFERENCIA DE EMBRIÓN

Los tratamientos superestimulatorios por TE in vitro en vacas donantes tienen que estar como mínimo con 50 días posparto, deben estar ciclando normalmente, tener una adecuada nutrición, sin presentar deficiencias nutricionales. Se recomienda el uso de minerales traza como suplementos antes de la superovulación, además las donantes no deben tener historias o evidencia

de infertilidad. Además, las vacas o hijas de las vacas con historia de superestimulaciones exitosas o partos gemelares responden al tratamiento con mayor posibilidad. Las vaquillas necesitan de una dosis menor de FSH mientras que las vacas lactando necesitan dosis mayores de FSH. Y si la respuesta superovulatoria es pobre, es necesario aumentar la dosis de FSH en el siguiente programa. Si la calidad embrionaria llega a ser mala en la respuesta superovulatoria es decir pobre, es necesario aumentar la dosis de FSH en el siguiente programa (Colazo y Mapletoft, 2007).

2.7. ULTRASONOGRAFÍA

La ultrasonografía o ecografía permite la visualización de los órganos internos y su aplicación en bovinos a partir de la década de los 80 ha resultado importante ya que ayuda con el estudio y la comprensión de los eventos normales que ocurren durante el ciclo estral y la gestación de tal forma que es considerado como el avance más importante en la biología reproductiva (Bó y Caccia, 2000).

Esta técnica posibilita un detallado examen del tracto genital sin generar efectos adversos sobre el potencial reproductivo de la vaca y tampoco afecta el embrión o feto, lo permite determinar el diagnóstico temprano de gestación, el sexaje fetal incluso identificar patologías como quistes ováricos y endometritis. La ultrasonografía transvaginal es de gran importancia ya que permite coleccionar ovocitos de manera no invasiva, repetible y sin comprometer en absoluto la fertilidad posterior del animal (Corredor *et al.*, 2012).

La ultrasonografía es una técnica que usa ondas de sonido de alta frecuencia la cual produce imágenes de los órganos internos. Actualmente en veterinaria se utilizan los ecógrafos de modo B y en tiempo real, el modo B se refiere la imagen bidimensional del órgano es representada por puntos brillantes con diferente intensidad, y tiempo real a causa de que los impulsos se transmiten constantemente, lo que hace posible observar movimientos de latidos cardiacos de un feto (Griiffin y Ginter, 1992; Bó y Caccia, 2000).

CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se realizó en la Hacienda “Mocoral” ubicada en el sitio Salima, Parroquia Salima, Cantón Muisne, Provincia de Esmeraldas - Ecuador, situado geográficamente entre las coordenadas 0°20´40.6” de Latitud Norte y a 79°58´34.6” de Longitud Oeste, a una altura de 184 m s n m.

3.2. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS

Las características climáticas en el sitio Salima, de la parroquia Salima ubicada en el cantón Muisne de la Provincia de Esmeraldas son:

Cuadro 3. 1. Características climáticas

Precipitación media anual	738 mm
Temperatura media anual	25,1 °C
Humedad relativa	86 %
Heliofanía anual	1347 (horas)
Viento	15,6 k/h
Evaporación anual	1035 mm

FUENTE: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología “INAMHI” (2017).

3.3. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación duró aproximadamente 3 meses a nivel de campo y 3 meses de laboratorio.

3.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS

3.4.1. MÉTODO DE ANÁLISIS DE ESTRADIOL (E2)

Las muestras de plasma/suero se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. Las concentraciones de Estradiol fueron determinadas por un radioinmunoensayo (RIA) en fase líquida utilizando kits de MP (MP BIOMEDICALS, INC. Solon, OH 44139 USA). La concentración mínima detectable del ensayo fue de 2,8 pg/mL. Los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (15 pg/mL) fue 16,6 %. El coeficiente de variación interensayo para el mismo control fue 19,1 %.

3.4.2. MÉTODO DE ANÁLISIS DE PROGESTERONA (P4)

Las muestras de plasma/suero se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. Las concentraciones de Progesterona fueron determinadas por un radioinmunoensayo (RIA) en fase sólida utilizando kits de MP (MP BIOMEDICALS, INC. Solon, OH 44139 USA). La concentración mínima detectable del ensayo fue de 0,020 ng/mL. Los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (0,21 ng/mL) y el control 2 (5,4 ng/mL) fueron 21,6 % y 11,7 % respectivamente.

3.4.3. TÉCNICAS

Para determinar los niveles hormonales se tomó aproximadamente muestras de 9 mL de sangre por punción yugular. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 RPM durante 7-10 minutos para separar el suero. Las agujas con la que se tomaron las muestras de sangre fueron usadas solo una vez; se colocaron las muestras de sangre en una caja de espumaflet a más o menos <15 °C y después centrifugar la sangre a medida que se completa los espacios de la centrifuga. Una vez finalizado la toma de muestra se almacenó en un congelador a una temperatura de 8 °C como máximo. Además, al inicio de cada experimento se realizó ultrasonografía transrectal de tiempo real con transductor lineal 7.5 MHz (Mindray® DP-50 Vet, Shenzhen, China), con la finalidad de determinar qué animales en ese momento se encontraban aptos para el inicio de las sincronizaciones, verificación de estructuras ováricas y descartar animales con problemas reproductivos (solo folículos <8 mm de diámetro, úteros caídos, cervicitis).

3.5. FACTORES EN ESTUDIO

Protocolos de prolongación de proestro para la sincronización de la ovulación y posterior transferencia de embrión a tiempo fijo.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó una investigación experimental con datos descriptivos y comparativos entre los tratamientos a utilizar. No se aplicó diseños experimentales tradicionales en esta tesis, pero se usó un procedimiento estadístico de modelos

lineales generalizados y mixtos con enlace logit para verificación del efecto de las variables sobre la variable respuesta.

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

El experimento se realizó con 60 vacas las cuales representan a las unidades observacionales antes mencionadas, las que además fueron divididas en tres grupos experimentales y en cada grupo se aplicó un tratamiento diferente (J-Synch normal: n= 20; J-Synch modificado: n=20 y tratamiento convencional o control: n=20).

3.8. VARIABLES

3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Lado de la transferencia embrionaria (cuerno izquierdo o cuerno derecho).

Calidad de la transferencia (alta o tercio anterior del cuerno; media o tercio posterior del cuerno uterino).

Tipo de raza del embrión o combinaciones genéticas y sus debidas interacciones (Girolando o Guzolando).

3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES

Grado del Cuerpo lúteo (mm).

Tasa de ovulación (% de vacas ovuladas sobre el total de vacas tratadas).

Tasa de crecimiento folicular (mm de aumento del folículo dominante desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación).

Tasa de expresión de celos (% de vacas observadas en celo por perdida de la pintura sobre el total de vacas iniciadas).

Tiempo de ovulación (horas desde la remoción del dispositivo hasta la desaparición del folículo dominante).

Niveles circulantes de esteroides (ng/mL de estradiol y progesterona) en el día de la remoción del dispositivo, en el día del celo, luego en el día de la TE o Día 7 posterior al celo.

3.8.3. COVARIABLES

Diámetro del folículo dominante reclutado (mm) en la remoción de los dispositivos de progesterona hasta la ovulación.

Diámetro de los cuerpos lúteos (mm) en el día de la TE.

3.9. PROCEDIMIENTO

Para la investigación se llevó a cabo las siguientes actividades:

3.9.1. ANIMALES E INSTALACIONES

Para el siguiente trabajo se utilizaron vacas y vaconas de razas para carne que fueron divididas por experimento. Para la selección de las vacas se utilizó los siguientes criterios de inclusión: condición corporal entre 2,5 y 3,5 [escala del 1 (flaca) al 5 (obesa)], peso corporal mayor a 300 Kg, con un útero apropiado sin presencia de anomalías ni enfermedades reproductivas. Estos animales son manejados en pastoreo, suplementándolas con balanceado cuando son encerradas en el corral, cuentan con agua limpia a toda hora del día, cuentan con un plan sanitario muy estricto, el manejo se lo realizó en instalaciones adecuadas (mangas, corrales y bretes), que facilitan el bienestar de cada uno de los animales manejados.

3.9.2. SELECCIÓN DE LAS HEMBRAS RECEPTORAS PARA EL SEGUIMIENTO FOLICULAR

Se seleccionaron 60 vacas para formar 20 por grupos, seleccionadas por peso, cumpliendo un mínimo de 300 Kg, con características genóticas adecuadas para subsistencia, con condiciones de aclimatación adecuadas, de pelaje corto, de buena adaptación al clima, con condiciones corporales de 2,5 y 3,5, funcionales en su aparato mamario y reproductivo, sin tener patología ovárica, con canal pélvico amplio para facilidad de parto.

3.9.3. APLICACIÓN DE PROTOCOLOS

Las 60 vacas fueron divididas en tres grupos distributivos para efectuarlas a cada uno de estos grupos un protocolo de sincronización que se enunciarán en los siguientes párrafos. El primer grupo de animales (n=20 receptoras) se le aplicó el protocolo J-Synch normal de 6 días de duración del dispositivo intravaginal. Al

segundo grupo de animales (n=20 receptoras) recibieron un protocolo J-Synch denominado modificado, donde el dispositivo intravaginal se mantuvo por 7 días. El último grupo de animales (n=20 receptoras) recibieron un tratamiento denominado Convencional o control, el cual se caracteriza por el uso de un inductor de ovulación (Cipionato de estradiol; 0,5 mg/vaca) y con dispositivos de progesterona por 8 días. Cada uno de los tratamientos se describen en los siguientes párrafos.

3.9.4. TRATAMIENTO 1 (J-Synch 6 d)

El primer tratamiento que se usó fue el de prolongación de proestro denominado J-Synch normal de dispositivos intravaginales de P4 desarrollado por de la Mata y Bó, (2016). Todas las vacas en el Día 0 recibieron un dispositivo intravaginal con 1 g de P4 (Sincrogest® 1g, Ourofino, Brasil), más una aplicación inyectable por vía intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, 2mL; Ourofino, Brasil) y 250 µg de D+Cloprostenol sódico (Sincrocio®, 1mL, Ourofino, Brasil). En el Día 6 todos los animales recibieron remoción del dispositivo de P4, una dosis de 0,5 mg de Cloprostenol sódico (2mL de Sincrocio®, PGF2α), una dosis de 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (SincroeCG® 6,000 UI; 2mL, Ourofino, Brasil), junto con la aplicación de pintura (CeloTest, Biotay S.A., Argentina) de color amarilla en la base de la cola o zona sacrocoxígea (20 cm de largo por 5 cm de ancho) como método de ayuda para la detección visual de celos. En el Día 9 se efectuó el diagnóstico de celo determinado por el porcentaje de pérdida de pintura (celo positivo \geq 50% de pérdida de pintura, celo negativo < 50% de pérdida de pintura). Todas las vacas que no mostraron celo en el día 9 o 72 horas posterior al retiro fueron tratadas con una dosis de 100 µg de acetato de Gonadorelina 2mL de GnRH (Gonasyn®; Gonadorelina, Zoetis). Todas las receptoras en el día 16 de tratamiento o 7 días después del celo recibieron por vía no quirúrgica (transcervical) un embrión bovino grado 1 producido *in vitro*.

3.9.5. TRATAMIENTO 2 (J-Synch 7 d)

El segundo tratamiento de prolongación de proestro también denominado J-Synch 7 días, de dispositivos intravaginales de P4. En el Día 0, todas las vacas recibieron un dispositivo intravaginal con 1g de P4 (Sincrogest® 1g, Ourofino, Brasil), y una aplicación inyectable por vía intramuscular (IM) de 2 mg de

benzoato de estradiol (Sincrodiol[®], 2mL; Ourofino, Brasil). En el Día 7 todos los animales fueron reunidos para la remoción del dispositivo de progesterona, recibieron una dosis de 500 µg PGF2α (Sincrocio[®], 1mL, Ourofino, Brasil), una dosis de 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG), (SincroeCG[®] 6,000 UI; 2mL, Ourofino, Brasil), junto con la aplicación de pintura de color amarilla en la base de la cola o zona sacrocoxígea (20 cm de largo por 5cm de ancho) como método de ayuda para la detección visual de celos. En el día 9 se efectuó el diagnóstico de celo determinado por el porcentaje de pérdida de pintura (celo positivo ≥ 50% de pérdida de pintura, celo negativo < 50% de pérdida de pintura). Todas las vacas que no mostraron celo en el día 10 recibieron una dosis de 100 µg de acetato de Gonadorelina 2mL de GnRH (Gonasyn[®]; Gonadorelina, Zoetis). Todas las receptoras en el día 17 de tratamiento o 7 días después del celo recibieron por vía no quirúrgica (transcervical) un embrión bovino grado 1 producido *in vitro*.

3.9.6. TRATAMIENTO 3 (Convencional)

Para este tercer tratamiento denominado Convencional 8 días, en el Día 0, todas las vacas recibieron un dispositivo intravaginal con 1g de P4 (Sincrogest[®] 1g, Ourofino, Brasil), y una aplicación inyectable por vía intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol[®], 2mL; Ourofino, Brasil). En el Día 8 a todos los animales se los agrupó para la remoción del dispositivo de progesterona, recibieron una dosis de 500 µg PGF2α (Sincrocio[®], 1mL, Ourofino, Brasil), una dosis de 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG), (SincroeCG[®] 6,000 UI; 2mL, Ourofino, Brasil), más 1 mg de cipionato de estradiol por vía IM (SincroCP[®]; 1mL, Ourofino, Brasil) junto con la aplicación de pintura de color amarilla al igual que los tratamientos anteriores en la base de la cola o zona sacrocoxígea (20 cm de largo por 5cm de ancho) como método de ayuda para la detección visual de celos. En el día 10 se efectuó el diagnóstico de celo determinado por el porcentaje de pérdida de pintura (celo positivo ≥ 50% de pérdida de pintura, celo negativo < 50% de pérdida de pintura). Todas las receptoras en el día 17 de tratamiento o 7 días después del celo recibieron por vía no quirúrgica (transcervical) un embrión bovino grado 1 producido *in vitro*.

3.9.7. SEGUIMIENTO DE LA DINÁMICA FOLICULAR, CRECIMIENTO FOLICULAR Y TASA DE OVULACIÓN

El seguimiento de la dinámica folicular crecimiento folicular y tasa de ovulación se realizó mediante ultrasonografía transrectal de tiempo real con transductor lineal 7.5 MHz (Mindray® DP-50 Vet, Shenzhen, China), fue evaluado el tamaño del Folículo Preovulatorio (FPO) a las 12 h del inicio del celo detectado y confirmando la ovulación 24 h después mediante ecografía, considerándose que el animal había ovulado cuando desapareció la estructura folicular en el mismo ovario en la cual se encontraba. El tamaño del cuerpo lúteo (CL) se midió en los días 6 y 12 post-ovulación, de acuerdo con los criterios emitidos por Herzog *et al.*, (2010) que determinaron que esta estructura tiene tres fases: crecimiento hasta el día 4; estática (6 días) y regresión (17 días en adelante).

3.9.8. OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE

Para determinar los niveles hormonales se tomó aproximadamente muestras de 9 mL de sangre por punción yugular. Para estos se utilizaron agujas hipodérmicas como rosa de 40 x 1,2 (18G x 1 1/2"), tubos de marca Vacuette® para la preparación de los sueros. Las muestras fueron centrifugadas a 3000 RPM durante 7-10 minutos para separar el suero. En cuanto se realizó esto, se tomaron las muestras de suero para destinarlas a tubos ependors de 5 mL. No se debe tomar muestras del coagulo, solo del suero. Las agujas con la que se tomaron las muestras de sangre fueron usadas solo una vez; se colocaron las muestras de sangre en una caja de espumaflet a más o menos <15 °C y después centrifugar la sangre a medida que se completa los espacios de la centrifuga. Una vez finalizado la toma de muestra se almacenó en un congelador a una temperatura de 8 °C como máximo.

3.9.9. DETERMINACIONES HORMONALES DURANTE LA DINÁMICA FOLICULAR (ESTRADIOL Y PROGESTERONA)

Las muestras de plasma/suero se determinaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. Las concentraciones de Estradiol y Progesterona fueron determinadas por un radioinmunoensayo (RIA) en fase líquida (E2) y en fase sólida (P4) utilizando kits de MP (MP BIOMEDICALS, INC. Solon, OH 44139 USA). Para

(E2) la concentración mínima detectable del ensayo fue de 2,8 pg/mL, los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (15 pg/mL) fue 16,6 % y el coeficiente de variación interensayo para el mismo control fue 19,1 %. Y para (P4) la concentración mínima detectable del ensayo fue de 0,020 ng/mL, los coeficientes de variación intraensayo para el control 1 (0,21 ng/mL) y el control 2 (5,4 ng/mL) fueron 21,6 % y 11,7 % respectivamente.

3.9.10. ULTRASONOGRAFÍA

Al inicio de cada experimento se realizó ultrasonografía transrectal de tiempo real con transductor lineal 7.5 MHz (Mindray® DP-50 Vet, Shenzhen, China), con la finalidad de determinar qué animales en ese momento se encontraban aptos para el inicio de las sincronizaciones, verificación de estructuras ováricas y descartar animales con problemas reproductivos (solo folículos <8 mm de diámetro, úteros caídos, cervicitis). Por tal efecto, se utilizaron animales con presencia de CL o folículos grandes ≥8 mm de diámetro. Todas las receptoras con CL ≥14 mm de diámetro recibieron un embrión en el cuerno ipsilateral al mismo. Los CL serán clasificados de acuerdo a su diámetro en CL grado 1 ≥18 mm, grado 2 <18 y >16 mm y grado 3 ≥14 mm (Nasser *et al.*, 2011; Pelizzari *et al.*, 2015). La cantidad de receptoras que respondan al tratamiento de sincronización con un CL ≥14 mm fueron divididas por el total de receptoras sincronizadas y con eso se obtendrá la tasa de aprovechamiento (TA).

3.10. OBTENCIÓN DE VARIABLES

3.10.1. VACAS TRANSFERIDAS

$$\frac{\text{Cantidad de receptoras transferidas}}{\text{Cantidad de receptoras iniciadas}} * 100 \text{ [3.1]}$$

3.10.2. TASA DE OVULACIÓN

$$\frac{\text{Total de receptoras ovuladas}}{\text{Cantidad de receptoras ecografiadas}} * 100 \text{ [3.2]}$$

3.10.3. TASA DE CELO

$$\frac{\text{Cantidad de receptoras ovuladas}}{\text{Cantidad de receptoras iniciadas}} * 100 \text{ [3.3]}$$

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento de modelos lineales generalizados y mixtos (MLGM) para familia de datos normales cuando se midió el diámetro del folículo reclutado y el respectivo seguimiento hasta la ovulación. Cuando las variables eran de categoría binaria, se utilizó el mismo procedimiento de análisis estadístico (MLGM) con la diferencia en que la variable que se tubo a consideración fueron distintas (1 en el caso de las vacas ovuladas y 0 para las no ovuladas). Para todo esto se utilizó un enlace logit, con lo que se determinó la influencia de las distintas variables y sus interacciones sobre las variables que fueron medidas (tasa de crecimiento folicular, tasa de ovulación, tiempo de ovulación y niveles de esteroides). Se utilizó un alfa 0,05 para determinar diferencias significativas y un valor de menor a 0,10 para la determinación de tendencias significativas.

Todos los datos se analizaron con el paquete estadístico de InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2019) en versión profesional. Como covariable se consideró a la medida del folículo dominante en crecimiento y al diámetro de los CL en el día de la TE, por ende, fueron cargadas en el análisis estadístico como tal. Además, se tuvo en consideración como efectos aleatorios a las réplicas y a la identificación animal. Se consideró como variable dependiente a la tasa de crecimiento folicular, como efecto fijo se consideró a la expresión del celo de los animales, condición corporal, categoría del animal (edad exacta de los animales en estudio), estructura ovárica en el Día 0 (CL o Fol > 8 mm de diámetro) y sus debidas interacciones. Los datos fueron estandarizados y corregidos mediante las pruebas de Bonferroni y fueron presentados con la respectiva media (SEM) y sus errores estándares de las medias (\pm EE), y para facilitar la lectura de los resultados se mostrarán en tablas, y figuras de Microsoft Excel y Word (2013).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como respuesta a los tratamientos se transfirieron más vacas en el grupo convencional ($P=0,05$) 90,0% (18:20), que en los grupos J-Synch 7 días 85,0%, (17:20) y 6 días J-Synch 85,0%, (17:20). Los resultados sobre la dinámica folicular y el desarrollo lúteo se expresan en los cuadros 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4.

4.1. DINÁMICA FOLICULAR SEGÚN GRUPOS DE TRATAMIENTO

En el cuadro 4.1 se evidencia el diámetro de los cuerpos lúteos, se puede observar que los cuerpos lúteos del grupo de vacas J-Synch 7 días ($21,89 \pm 0,81$ mm) fueron mayor a los del grupo J-Synch 6 días ($18,66 \pm 0,78$ mm) y Convencional ($16,81 \pm 0,95$ mm) (Anexo 16). Además, se evidenció que los niveles de progesterona en el retiro del dispositivo, no se encontraron diferencias significativas (Anexo 17), lo cual esta atribuido a que todas las vacas recibieron la remoción del dispositivo y los niveles de progesterona deben estar por debajo de 1,5 ng de progesterona en sangre.

Cuadro 4. 1. Dinámica folicular según grupos de tratamiento.

Grupo	Vacas transferidas	Diámetro de CL	P ₄ (ng/mL)
J-Synch 7 d	85,0% (17:20) ^b	$21,89 \pm 0,81$ mm ^a	$1,63 \pm 0,3$
J- Synch 6 d	85,0% (17:20) ^b	$18,66 \pm 0,78$ mm ^b	$1,67 \pm 0,3$
Convencional	90,0% (18:20) ^a	$16,81 \pm 0,95$ mm ^b	$1,64 \pm 0,3$

^{ab} Los porcentajes difieren significativamente ($P < 0,05$).

Estos resultados son similares a los reportado por De la Mata (2016) ya que la tasa de crecimiento folicular tendió a ser mayor ($P < 0,1$) y el tamaño del cuerpo lúteo ($P < 0,05$) en las que recibieron el tratamiento J-Synch. Como reportaron Pitalugo *et al.* (2013), mayor proporción de vacas en estro, una mejor respuesta ovulatoria y una tendencia a mejorar el diámetro de CL durante la fase luteal temprana en vacas en las cuales se manipuló el período de proestro con gonadotrofinas (eCG) y estradiol (CPE).

Además, estos resultados son similares a los obtenidos por Ayala *et al.*, (2017) a que reportó que la concentración sanguínea media de P₄, en el día 6 (68

ng/mL), y superiores a los obtenidos por Arteaga y Brochado (2016) reportan que las concentraciones séricas de progesterona y el volumen luteal fueron superiores en los animales del grupo con tratamiento J-Synch; el promedio del volumen luteal en el grupo J-Synch fue superior en comparación con el grupo Convencional.

4.2. DESARROLLO LÚTEO SEGÚN GRUPOS DE TRATAMIENTO

En el cuadro 4.2 se detalla el diámetro del folículo en la remoción de los dispositivos de P4, se puede evidenciar que los diámetros de los folículos fueron similares de los tres grupos, sin presentar diferencias significativas (Anexo 18), aunque numéricamente en el grupo convencional hay un diámetro menor ($7,82 \pm 0,59$ mm), además, se puede observar el diámetro del folículo preovulatorio, este fue mayor en el grupo de vacas J-Synch 7 días, ($16,4 \pm 0,2$ mm), en comparación a J- Synch 6 ($15,5 \pm 0,3$ mm) y Convencional ($13,8 \pm 0,2$ mm) (Anexo 19).

Así mismo las vacas fueron ecografiadas desde la remoción del dispositivo hasta corroborar la ovulación, el intervalo desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación fue mayor las vacas del grupo J-Synch 7 días ($86,0 \pm 3,0$ h) y J- Synch 6 días ($83,0 \pm 4,0$ h) no encontrando diferencias entre estos dos grupos. pero comparado con el convencional fueron mejores (Anexo 20).

Cuadro 4. 2. Desarrollo lúteo según grupos de tratamiento.

Grupo	Folículo a la remoción del dispositivo de P4	Folículo preovulatorio	Intervalo desde la extracción del dispositivo P4 hasta la ovulación
J-Synch 7 d	$9,94 \pm 0,60$ mm	$16,4 \pm 0,2$ mm ^a	$86,0 \pm 3,0$ h ^a
J- Synch 6 d	$9,28 \pm 0,71$ mm	$15,5 \pm 0,3$ mm ^b	$83,0 \pm 4,0$ h ^a
Convencional	$7,82 \pm 0,59$ mm	$13,8 \pm 0,2$ mm ^c	$64,0 \pm 3,0$ h ^b

^{ab} Las medias difieren significativamente ($P < 0,05$), Los porcentajes de ^{cd} tienden a diferir ($P = 0,06$).

Las diferencias encontradas en los folículos preovulatorio pueden ser atribuidos a lo reportado por Perry *et al.* (2005) y Chacón *et al.*, (2005) determinaron que el tipo de manejo, las características raciales y, probablemente, otros factores como la alimentación, condiciones ambientales, entre otros, influyen en el

tamaño de los folículos preovulatorios. Los valores obtenidos en el presente trabajo coinciden con la reportada por Ireland *et al.*, (2000) en su revisión de conceptos, describen que el tamaño folículos preovulatorio es de 13 mm.

Estos resultados son inferiores a los reportados por De la Mata (2016) las receptoras pertenecientes al grupo J-Synch tuvieron un horario medio de ovulación ($93,7 \pm 12,94$) que fue mayor al del grupo Convencional ($65,0 \pm 13,67$). Además, inferiores con datos reportados por De la Mata y Bó (2012) en donde la duración del proestro fue de ($97,1 \pm 17,4$ h) y De Ré, *et al.*, (2014) que reportaron una duración de proestro de ($103,8 \pm 3,3$ h).

4.3. NIVELES CIRCULANTES EN ng/mL DE ESTEROIDES (ESTRADIOL Y PROGESTERONA) SEGÚN LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO

En el cuadro 4.3 se evidencia los niveles de progesterona, se puede observar que existe diferencias significativas ($P=0,04$) para el nivel de P4 a los 7 días post celo, fue mayor las vacas del grupo J-Synch 6 días ($5,03 \pm 1,2$) seguido de J-Synch de 7 días ($4,7 \pm 1,1$), mientras que para el método convencional ($4,11 \pm 1,4$) (Anexo 21).

Cuadro 4. 3. Niveles de progesterona según grupos de tratamiento.

Grupo	P4 a la remoción del dispositivo	P4 en el día del Celo	P4 día 7 días post Celo
J-Synch 7 d	$0,23 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,001$	$4,7 \pm 1,1^a$
J- Synch 6 d	$0,30 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,002$	$5,03 \pm 1,2^a$
Convencional	$0,78 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,001$	$4,11 \pm 1,4^b$

Superíndices distintos indican diferencias significativamente ($P=0,04$).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Arteaga y Brochado (2016) quienes reportaron un nivel de P4 superior al utilizar J-Synch ($4,69 \pm 0,2$) con respecto al método convencional ($3,90 \pm 0,1$), además a los datos reportados por de la Mata (2006), encontrando concentración sérica de P4 ($4,7 \pm 0,2$) al utilizar J-Synch, superior al convencional ($3,9 \pm 0,1$). Además, el diámetro del cuerpo lúteo fue mayor en las receptoras del grupo J-Synch, varios trabajos demuestran que a mayor tamaño de CL se incrementa la producción de progesterona (Vasconcelos *et al.*, 2001; Busch *et al.*, 2008).

En el cuadro 4.4 se evidencia los niveles de estradiol, se puede observar que no existe diferencias significativas ($P>0,05$) para los grupos evaluadas, aunque numéricamente, el nivel de estradiol a la remoción del dispositivo de P4 fue mayor las vacas del grupo J-Synch 6 días ($15,59 \pm 1,63$), mientras que para el día de la TE fue mayor el grupo de J-Synch 7 días ($14,28 \pm 1,73$).

Cuadro 4. 4. Niveles de estradiol según grupos de tratamiento.

Grupo	E2 a la remoción del dispositivo de P4	E2 en el día del celo	E2 en el día de la TE
J-Synch 7 d	$14,26 \pm 1,68$	$16,36 \pm 1,36$	$14,28 \pm 1,73$
J- Synch 6 d	$15,59 \pm 1,63$	$16,56 \pm 1,65$	$13,74 \pm 1,88$
Convencional	$14,21 \pm 1,79$	$18,02 \pm 1,56$	$14,19 \pm 1,46$

Los resultados no difieren significativamente ($P>0,05$).

Resultados similares a De la Mata (2016) reportando que las concentraciones séricas de estradiol preovulatorio no variaron en el experimento entre tratamientos ($P> 0,1$). Aunque se puede pensar que las vaquillonas del grupo J-Synch tuvieron mayores concentraciones séricas de estradiol si no se hubiera inyectado CPE en las del tratamiento Convencional.

Como manifiestan Bridges, Day *et al.*, (2013). La prolongación del proestro genera mayores concentraciones séricas circulantes de estradiol producido por el folículo dominante, favoreciendo la madurez folicular y mejorando la fertilidad. Mientras que el efecto beneficioso de alargar el proestro está asociado con mayores concentraciones circulantes de estradiol antes de la ovulación y altas concentraciones de progesterona en fase luteal (Bó y col., 2016).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El tratamiento J-Synch de 7 días reportó una mayor concentración sérica de progesterona a los 7 días posterior al celo, lo que permitiría altas tasas de preñez en vacas sincronizadas con este protocolo.

Las vacas con el tratamiento J-Synch 6 días tuvieron una mayor respuesta fisiológica con respecto a la concentración sérica de progesterona 7 días posterior al celo, asociado positivamente a un incremento hormonal del grupo.

Con el tratamiento J-Synch 7 días se obtuvo una mayor duración del proestro frente al tratamiento Convencional, además el diámetro del cuerpo lúteo y del folículo preovulatorio resultaron con mayores tamaños que el tratamiento Convencional.

5.2. RECOMENDACIONES

Utilizar el método J-Synch (7 días) como alternativa para sincronizar el estro y la ovulación en receptoras de embriones en *Bos indicus*.

Extender el período de inserción del dispositivo P4 un día más en el protocolo J-Synch como alternativa para sincronizar el estro y la ovulación en receptores de embriones en *Bos indicus*.

Repetir la investigación con un mayor de números de unidades experimentales, con razas de bovinos para leche y con un clima tropical lluvioso para verificar el efecto del estrés calórico y las respuestas de los tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

- Arteaga, R; Brochado, C. 2016. Tratamiento corto de 6 días (j-synch) para iatf en vaquillonas de carne: efecto sobre el folículo ovulatorio y el cuerpo lúteo. (tesis de pregrado). Universidad de la República.
- Ayala, L; Pesántez, L; Rodas, E. 2017. Tamaño del folículo ovulatorio, cuerpo lúteo y progesterona sanguínea en vaquillas receptoras de embriones de tres razas en pastoreo en Ecuador. *Rev. prod. anim.*, 29 (2), 65-72.
- Baruselli, P.S.; Marques, M.O.; Vieira, L.M.; Konrad, J.L.; Crudeli, G.A. 2015. Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Rev. vet.* vol.26. no.2.
- Bergfeld, E; Kojima, F; Cupp, A; Wehrman, M; Peters, K; Mariscal, V; Sanchez, T; Kinder, J. 1996. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 β -estradiol in bovine females. *Biol Reprod.* 54: 546-553.
- Bó, G; Caccia, M. 2000. Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino Obtenido de Sitio Argentino de Producción Animal. Formato PDF Disponible en <https://bit.ly/2NKj4jL>.
- Bó, G; Moreno, D; Cuaita, L; Caccia, M. 2003. Factores que afectan los porcentajes de preñez en los programas de transferencia de embriones. IV seminario Internacional de Reproduccion de Grandes Animales. CGR. Bogota, Colombia s.p. (En Línea) Consultado en el Dic, 2011. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2RWOZCJ>.
- Bó, G; de la Mata, J; Baruselli, P; Menchaca, A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 86(1): 388-396.
- Bó, G; Adams, G; Pierson, R; Mapletoft, R. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*; 43:31-40. (En Línea) Consultado en el 2016. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2FK9I62ATF>.
- Bó, G; 2002. Dinámica folicular y tratamiento hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. (En línea). Consultado el 26 de Octubre 2002. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2Qp39II>.
- Bó, G; Cutaia, L; Tribulo, R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminacion artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. *Taurus* 15: 17-32.
- Bo, G; Caccia, M. 2000. "Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino". *Rev. Taurus* 2(5): 23-39. *Ciencia Veterinaria* Vol. 9,Nº1, 34-35. Disponible en <https://bit.ly/2Ub2HiX>.

- Bó, G; Adams, G; Pierson, R; Mapletoft, R. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43, 31-40.
- Bó, G; Baruselli, P; Moreno, D; Cutaia, L; Caccia, M; Tríbulo, R; Tríbulo, H; Mapletoft, R. 2002. The Control Of Follicular Wave Development For Self-Appointed Embryo Transfer Programs In Cattle. *Theriogenology*, 57, .53-72. (En línea). Consultado. Formato PDF. <https://bit.ly/2TnLFOo>.
- Bó, G; Hockley D; Nasser, L; Mapletoft, R. 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of a porcine pituitary extract in beef cattle. *Theriogenology*, 42: 963-975 (En Línea) Consultado en La Habana.2016https. Formato Tesis. Disponible en://bit.ly/2MFiEv4.
- Bó, G; Moreno, D; Lucas. E; Cutaia, M; Caccia, R; Tríbulo, J; Humberto, E. 2004. Transferencia de embriones a tiempo fijo: Tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. (En línea). Consultado, Abril 2019. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2RJ1huO>.
- Bridges, G; Day, M; Geary, T; Cruppe, L. 2013. Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *Journal of Animal Science* 91: 3002-3013.
- Busch, D; Atkins, J; Bader, J; Schafer, D; Patterson, D; Geary, T; Smith, M. 2008. Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. *Journal of Animal Science* 86: 553-563.
- Carroasco, M; Aguirregabiria, L; Cabodevila, J; Callejas, S. 2016. Porcentaje de preñez en vaquillonas tratadas con el protocolo J-Synch y eCG. (En línea). Consultado Diciembre 2018. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2SQUUa4>.
- Cerri, R; Rutigliano, H; Chebel, R; Santos, J. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction* 137: 813-823.
- Chacón, L; Vargas, M; Otero, R. Villamil, A. 2005. Seguimiento de la dinámica del ovario por ultrasonografía en novillas de la raza Gir. *U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 8 (2), 103-110.
- Colazo M; R. M. 2007. Estado actual y aplicaciones de la transferencia de embriones en bovinos. *Ciencia Veterinaria* Vol. 9,Nº1, 34-35.
- Colazo M. 2014. Protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en *Bos Taurus*. Conferencia: nuevas biotecnologías reproductivas utilizadas en la producción del ganado bovino, At Santo Domingo, Ecuador. (En Línea) Consultado Sept 26. 2018. Formato Tesis. Disponible en: <https://bit.ly/2RzF4Uh>.
- Cutaia, L; Moreno, D; Villata, L; Bo, G. 2001. Synchrony of ovulation in beefcows treated with progesterone vaginal devices and estradiol

benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology* 55, 408 abstr.

De la Mata, J; Menchaca, A; Bó, G. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, Argentina, pp. 143-157.

De la Mata, J; Bó, G. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55:17-23. (En línea). Consultado Abr. 2016. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2L2KpA2>.

De la Mata, D; Bó, G. 2012. Prolongación del proestro y reducción del período de inserción del dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne inseminadas a tiempo fijo. (En línea). Consultado en Córdoba, abril 2016. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2PIHMFc>.

De la Mata, J. 2016. Prolongación del proestro y reducción del período de inserción del dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne inseminadas a tiempo fijo. (Tesis de posgrado). Universidad Nacional de Córdoba. Recuperado de <https://bit.ly/2zynMuL>.

Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, C. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Díaz, T. 2008. Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En *Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito* (Vol. 44, págs. 547-553). Venezuela. (En línea). Consultado en 2015. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2DoGAAX>.

Duica, A. 2007. Factores que afectan la eficiencia reproductiva de la hembra receptora en un programa de transplante de embriones bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria* N° 14, 109.

Evans, A; Adams, G; Rawlings. 1994. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *J Reprod Fert.* 100: 187 – 194.

Fricke, P. 2001. Manipulación de la Función ovárica. Novedades lácteas, reproducción y selección genética. Wisconsin, USA. (En Línea) Consultado en La Habana 2016. Formato Tesis. Disponible en: <https://bit.ly/2MFiEv4>.

Gigli, I; Russo, A; Agüero, A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. In. *Vet*, 8(1): 183-204. *InVet*. Disponible en: <https://bit.ly/2UIINmq>.

- Ginther O; Kanopf, L; Kastelic, J.1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil.* 87: 223- 230.
- Gonella, A. 2010. Ambiente receptivo uterino: control materno, control embrionario, muerte embrionaria. *Rev. MVZ Córdoba*, 15 (1), 1976-1984.
- Griffin, P; Ginter, O. 1992. Research aplicaciones of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim.SCI.*70:953-972 (En Línea) Consultado en el Nov 30. 2017. Formato Ciencia Veterinaria Vol. 9. N°1, 34-35. Disponible en <https://bit.ly/2Ub2HiX>.
- Hasler, J. 2003. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 79:245-264. (En línea). Consultado, Octubre 2014. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2KttNy7>.
- Ireland, J; Mihm, M; Austin, E; Diskin, M. Roche, J. 2000. Historical Perspective of Turnover of Dominant Follicles during the Bovine Estrous Cycle: Key Concepts, Studies, Advancements and Terms. *Journal Dairy Science*, 83 (7), 1648-1658.
- Moreno, D; Cutaia, L; Villata, M; Ortisi, F; Bo, G. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 55, 408 abstract.
- Mosquera, J. 1994. Transferencia de embriones para la optimización reproductiva de la cría lechera. Trabajos seleccionados sobre producción lechera en la sierra Ecuatoriana; 17 Proyecto Andino de sanidad agropecuaria. Oficina del IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura) Ecuador. s.p. (En Línea) Consultado en el Dic, 2011. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2RWOZCJ>.
- Nasser, L; Penteado, L; Rezende, C; Sá Filho, M; Baruselli, P. 2011. Fixed time Artificial Insemination and Embryo Transfer Programs in Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae* 39, 15-22. (En línea). Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2Nyl1Ow>.
- Pelizzari M; Tríbulo, A; Garzon, J; Bernal, B; Tríbulo, R; Tríbulo, H; Bó, G. 2015. Factors affecting pregnancy rates in recipients receiving in vitro produced embryos by fixed time embryo transfer." *Reprod. Fert. and Dev.* 28, 184-184 (En Línea) Consultado en Córdoba, Agosto. 2018. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2Nyl1Ow>.
- Perry, G; Smith, M; Lucy, M; Green, J; Parks, T; Macneil, M; Geary. 2005. Relationship Between Follicle Size at Insemination and Pregnancy Success. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (14), 5268-5273.
- Pitaluga, P; Sá Filho, M; Sales, J; Baruselli, P; Vicenti, L. 2013. Manipulation of the proestrous by exogenous gonadotropin and estradiol during a timed

- artificial insemination protocol in suckled *Bos indicus* beef cows. *Livestock Science* 154: 229-234.
- Ramírez, C. 2006. Inducción y sincronización del celo con implante intravaginal (CIDR) más estrógeno y prostaglandina F2 α en vacas Holstein mestizas. (En línea). Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2yT8AsG>.
- Ré, M; de la Mata, J; Bó, G. 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reprod. Fert. and Develop.* 26:118 (abstract).
- Ruiz, E. 2017. Efecto de la suplementación de minerales orgánico como complemento a la aplicación de dos protocolos para IATF sobre la tasa de concepción en vacas lecheras: Protocolo convencional (En Línea) Consultado en el Nov 30. 2018. Formato Tesis. Disponible en <https://bit.ly/2FDF7YD>.
- Saldarriaga, E. 2009. Análisis comparativo entre inseminación artificial a tiempo fijo e inseminación artificial a celo detectado, con sus variables económicas y reproductivas. (En línea). Consultado, en el 2018. Formato PDF. Disponible en <https://bit.ly/2Dpfr13>.
- Vasconcelos, J; Sartori, R; Oliveira, H; Guenther, J; Wiltbank, M. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56, 307-314.

ANEXOS

Anexo Nº 1. Selección de los animales.



Anexo Nº 2. Tomas de muestras de sangre.



Anexo Nº 3. Hormonas utilizadas en la investigación.



Anexo Nº 4. Hormona utilizada en la investigación.



Anexo Nº 5. Dispositivos intravaginales.



Anexo Nº 6. Aplicador de dispositivo intravaginal.



Anexo Nº 7. Aplicación de CeloTest.



Anexo Nº 8. Aplicación del dispositivo intravaginal.



Anexo N° 9. Retiro de los dispositivos (DIV).



Anexo N° 10. Observación de presencia del celo.



Anexo N° 11. Ecografía del diámetro del folículo dominante post-retiro del dispositivo (diámetro bajo).



Anexo N° 12. Ecografía del diámetro del folículo dominante post-retiro del dispositivo (diámetro medio).



Anexo N° 13. Ecografía del diámetro del folículo dominante post-retiro del dispositivo (diámetro alto).



Anexo N° 14. Transferencia de Embriones.



Anexo 15. Tabla de datos para el análisis estadístico.

Caso	Or	Número de Vaca	Tratamiento	Celo	CC	EO	Retiro	Diámetro F. Preovulatorio	Diámetro Cuerpo Lúteo (mm)	Estructura al Día 0	Padre x Madre	Raza	DX	Apro	
1	1	Chita	Convencional	Sí	4,00	CL	5.00	10.70		15 mm	Cicla * estrecho	181 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
2	2	Gira I	Convencional	Sí	3,50	CL	6.00	10.50			Cicla				0
3	3	Adelita I	Convencional	Sí	4,5,	CL	5.00	11.30			Cicla		Guz x Hols	1	1
4	4	Je IV	Convencional	Sí	3	CL	6.00	9.20		20 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
5	5	Estrella I	Convencional	Sí	3,75	CL	6.00	12.00		24 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
6	6	Rea I	Convencional	Sí	3,5	CL	6.00	10.00		20 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
7	7	Kalinca	Convencional	Sí	3,5	CL	6.00	13.00		24 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
8	8	Cereza	Convencional	Sí	3,5	CL	7.00	10.50			Cicla				0
9	9	Herencia I	Convencional	Sí	3,5	CL	6.00	11.10		18 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
10	10	Mica I	Convencional	Sí	3,5	CL	5.00	12.60							0
11	11	Corazón III	Convencional	Sí	3,5	CL	6.00	14.00		20 mm	Cicla * estrecho	913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
12	12	Rabina	Convencional	Sí	3,75	CL	5.00	11.60		24 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
13	13	Teresa I	Convencional	Sí	3,5	CL	6.00	13.50		16 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
14	14	Tina I	Convencional	Sí	3	CL	5.00	10.30		25 mm	Cicla	498-40 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
15	15	Victoria I	Convencional	Sí	3,25	CL	6.00	11.30		16 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
16	16	Dulce I	Convencional	Sí	4	CL	5.00	9.20		20 mm	Cicla	498-40 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
17	17	Mariposa	Convencional	Sí	4	CL	5.00	12.00		16 mm	Cicla	498-40 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
18	18	Ingrí 311	Convencional	Sí	4	CL	6.00	10.00		16 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
19	19	Anaranjada III	Convencional	Sí	4,25	CL	8.00	13.00		20 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
20	20	Cerela II	Convencional	Sí	3	CL	8.00	10.50			Cicla				0
21	21	Mae I	J-Synch 7	Sí	3,75	CL	6.70	11.10		18 mm	Cicla	459-40 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
22	22	Lotti I	J-Synch 7	Sí	3,75	CL	6.20	12.60		16 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
23	23	Ahijada I	J-Synch 7	Sí	3,75	CL	6.20	14.00		20 mm	Cicla	913-0 x Edelweiss			0
24	24	Cuatro cejas	J-Synch 7	Sí	3,5	CL	6.70	11.60		28 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
25	25	Gea I	J-Synch 7	Sí	3	CL	7.00	9.00		24 mm	Cicla	181 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
26	26	436	J-Synch 6	Sí	2,5	CL	7.20	12.00		19 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
27	27	488	J-Synch 6	Sí	2	CL	7.70	14.00		24 mm		402-13 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
28	28	470	J-Synch 6	Sí	3,5	CL	7.10	10.70		25 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
29	29	472	J-Synch 6	Sí	4	CL	6.50	10.50		23 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
30	30	489	J-Synch 6	Sí	3,5	CL	5.40	11.30		17 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
31	31	476	J-Synch 6	No	3,5	CL	6.70	9.20		16 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
32	32	485	J-Synch 6	Sí	3	CL	7.10	12.00		25 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
33	33	492	J-Synch 6	No	3	CL	6.80	10.00		16 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
34	34	455	J-Synch 6	Sí	3	CL	6.90	13.00		25 mm		1562 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
35	35	473	J-Synch 6	Sí	3,25	CL	6.70	10.50		18 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
36	36	448	J-Synch 6	Sí	3	CL	6.50	11.10		19 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	1	1
37	37	395	J-Synch 6	Sí	2,25	CL	6.40	12.60		15 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
38	38	433	J-Synch 6	Sí	2,5	CL	6.90	14.00		18 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
39	39	430	J-Synch 6	No	2,5	CL	7.00	11.60							0
40	40	440	J-Synch 6	Sí	2,75	CL	7.10	13.50							0
41	41	514	J-Synch 6	No	2,25	CL	5.60	10.30		16 mm		500-46 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
42	42	273	J-Synch 6	No	2,5	CL	7.60	9.80							0
43	43	449	J-Synch 6	No	2,75	CL	6.70	11.80		22 mm		913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
44	44	487	J-Synch 6	No	3	CL	7.00	13.00		20 mm		804-6 x Edelweiss	Gyr x Hols	0	1
45	45	322	J-Synch 7	Sí	3,5	FG	6.00	10.70			No cicla				0
46	46	330	J-Synch 7	Sí	3,5	FG	6.50	10.50		18 mm	No cicla XX	913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
47	47	323	J-Synch 7	Sí	4	FG	6.20	11.30			No cicla				0
48	48	327	J-Synch 7	Sí	4	FG	6.10	9.20		18 mm	No cicla XX	1035-17 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
49	49	317	J-Synch 7	Sí	3,25	CL	6.00	12.00			Cicla				0
50	50	310	J-Synch 7	Sí	4	FG	6.00	12.00		24 mm	No cicla	402-13 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
51	51	12	J-Synch 7	Sí	4	CL	6.00	13.00		25 mm	Cicla	402-13 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
52	52	06	J-Synch 7	Sí	4	CL	5.00	12.00		15 mm	Cicla	1035-17 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
53	53	04	J-Synch 7	Sí	3,5	FG	5.80	12.00		20 mm	No cicla	913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
54	54	13	J-Synch 7	Sí	3,5	CL	6.90	12.60		22 mm	Cicla	402-13 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
55	55	23	J-Synch 7	Sí	3,25	CL	7.00	14.00		16 mm	Cicla	1035-17 x Edelweiss	Guz x Hols	1	1
56	56	14	J-Synch 7	Sí	3,5	CL	7.60	12.00			Cicla X				0
57	57	328	J-Synch 7	Sí	4	CL	7.60	14.00			Cicla				0
58	58	21	J-Synch 7	Sí	4	CL	7.60	11.00		20 mm	Cicla	913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
59	59	316	J-Synch 7	Sí	4	FG	7.80	10.00			No cicla XX				0
60	60	303	J-Synch 7	Sí	3,5	CL	7.90	11.80		25 mm	Cicla	913-0 x Edelweiss	Guz x Hols	0	1
61	61	318	J-Synch 7	Sí	4	FG	7.00	14.00			No cicla XX				0

Categoría Registros: 61*15

R.Port = disabled LF

Anexo 16. Análisis estadístico de vacas transferidas o también llamado tasas de aprovechamiento.

Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Vacas transferidas	16	30	2,9E-06	< 0,05

DX - Medias ajustadas y errores estándares para Vacas transferidas

Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: Bonferroni

Dinámica folicular según grupos de tratamiento.

Grupo	Vacas transferidas
J-Synch 7 d	85,0 % (17:20) ^b
J- Synch 6 d	85,0 % (17:20) ^b
Convencional	90,0 % (18:20) ^a

Anexo 17. Análisis estadístico de diámetro de cuerpo lúteo.

Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Diámetro de CL	16	30	2,9E-06	< 0,05

DX - Medias ajustadas y errores estándares para Diámetro de CL

Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: Bonferroni

Dinámica folicular según grupos de tratamiento.

Grupo	Diámetro de CL
J-Synch 7 d	21,89 ± 0,81 mm ^a
J- Synch 6 d	18,66 ± 0,78 mm ^b
Convencional	16,81 ± 0,95 mm ^b

Anexo 18. Análisis estadístico de folículo preovulatorio.

Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Folículo preovulatorio	16	30	2,9E-06	< 0,05

DX - Medias ajustadas y errores estándares para Folículo preovulatorio

Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: Bonferroni

Desarrollo lúteo según grupos de tratamiento.

Grupo	Folículo preovulatorio
J-Synch 7 d	16,4 ± 0,2 mm ^a
J- Synch 6 d	15,5 ± 0,3 mm ^b
Convencional	13,8 ± 0,2 mm ^c

Anexo 19. Análisis estadístico de Intervalo desde la extracción del dispositivo P4 hasta la ovulación.

Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Intervalo desde la extracción Dispositivo P4 hasta la ovulación	16	30	2,9E-06	< 0,05

DX - Medias ajustadas y errores estándares para Intervalo desde la extracción del dispositivo P4 hasta la ovulación

Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: Bonferroni

Desarrollo lúteo según grupos de tratamiento.

Grupo	Intervalo desde la extracción del dispositivo P4 hasta la ovulación
J-Synch 7 d	86,0 ± 3,0 h ^a
J- Synch 6 d	83,0 ± 4,0 h ^a
Convencional	64,0 ± 3,0 h ^b

Anexo 20. Análisis estadístico P4 día 7 días post Celo.

Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
P4 día 7 días post Celo	16	30	2,9E-06	< 0,05

DX - Medias ajustadas y errores estándares para P4 día 7 días post Celo

Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: Bonferroni

Niveles de progesterona según grupos de tratamiento.

Grupo	P4 día 7 días post Celo
J-Synch 7 d	4,7 ± 1,1 ^a
J- Synch 6 d	5,03 ± 1,2 ^a
Convencional	4,11 ± 1,4 ^b