



TÍTULO: “EFECTO DE LA GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN LA OVULACIÓN CON PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS HOLSTEIN POSPARTO”

Las principales limitaciones para la aplicación de la inseminación artificial en ganado de carne y leche en condiciones de pastoreo, son fallas en la detección de celos, anestro posparto y pubertad tardía. El objetivo de ésta investigación fue comparar el efecto de la gonadotropina coriónica equina en el desarrollo folicular y la ovulación en el protocolo de sincronización E2+P4 y PGF2 α en vacas Holstein posparto. Se utilizaron 60 vacas Holstein, con una condición corporal entre 2.5 y 3.5, edad entre 3 y 6 años, con un periodo posparto entre 45 a 120 días y con un promedio entre 2 y 4 partos, distribuidos en dos grupos de 30 animales.

Tratamiento A (n=30). El día 0 se aplicó 2mg de BE más la inserción del dispositivo CIDR. El día 7 se procedió al retiro del dispositivo y la aplicación de 25 mg de Dinoprost más 400 UI de eCG. El día 8 se aplicó 1mg de BE.

Tratamiento B (n=30). El mismo protocolo con la variación en el día 7 que no se aplicó eCG. Las variables analizadas fueron: diámetro del folículo dominante y la presencia del cuerpo lúteo. El diámetro folicular fue similar en los tratamientos A y B. La ovulación mejoró en un 55.5% en el tratamiento A con la adición de eCG, en relación al tratamiento B sin la adición de eCG al protocolo base. En conclusión la aplicación de eCG en la remoción del dispositivo intravaginal de progesterona no mejoró el diámetro del folículo dominante pero si la ovulación en vacas Holstein posparto.

Palabras Claves: Gonadotropina Coriónica Equina, Benzoato de Estradiol, Progesterona, Prostaglandina F2 α , Folículo, Cuerpo lúteo.



ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	8
JUSTIFICACIÓN	8
HIPÓTESIS	9
OBJETIVOS	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	10
CAPÍTULO I	10
1. REVISIÓN DE LITERATURA	10
1.1. Eficiencia reproductiva	10
1.2. Protocolos de Sincronización de los ciclos estrales	11
1.3. Estrógenos	12
1.3.1. Farmacocinética	12
1.3.2. Farmacodinamia	13
1.4. Progesterona	13
1.4.1. Farmacocinética	14
1.4.2. Farmacodinamia	14
1.5. Prostaglandinas	15
1.5.1. PGF _{2α}	16
1.6. Gonadotropina coriónica equina (eCG)	17
1.6.1. Origen y composición	17
1.6.2. Mecanismo de acción	17
1.6.3. Indicaciones y dosis	18
1.7. Desarrollo folicular	20
1.7.1. Dinámica folicular	20
1.7.2. Atresia folicular	22
1.8. Ovulación	22



1.8.1. Fisiología de la ovulación	23
1.9. Cuerpo Lúteo	23
1.9.1. Fisiología del cuerpo Lúteo.....	24
CAPÍTULO II	25
2. MÉTODOS.....	25
2.1. Localización	25
2.2. Población	25
2.2.1. Características de la Población	25
2.3. Manejo	26
2.4. Tratamientos	26
2.5. Variables Analizadas.....	27
2.6. Diseño Estadístico.....	27
2.7. Análisis Estadístico	27
2.8. Recursos	28
2.8.1. Recursos Humanos	28
2.8.2. Recursos Biológicos	28
2.8.3. Hormonas	28
2.9. Otros	28
CAPÍTULO III	29
3. RESULTADOS	29
3.1. Diámetro Folicular	29
3.2. Ovulación	41
CAPÍTULO IV	58
4. DISCUSIÓN.....	58
4.1. Diámetro Folicular	58
4.2. Ovulación	58
CONCLUSIONES.....	60
RECOMENDACIONES	60
RESUMEN	61



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ABSTRACT	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	67



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Froilán Patricio Garnica Maquina, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de MAGÍSTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Froilán Patricio Garnica Marquina

0101650299



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Froilán Patricio Garnica Marquina, declaro que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de mi exclusiva responsabilidad.

Froilán Patricio Garnica Marquina

0101650299



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CENTRO DE POSTGRADO**

Maestría en
“REPRODUCCIÓN ANIMAL”

**“EFECTO DE LA GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (eCG)
EN LA OVULACIÓN CON PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS
HOLSTEIN POSPARTO”**

**Tesis previa a la obtención del título de
MAGISTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

Autor:

DR. FROILAN PATRICIO GARNICA MARQUINA

Director:

DR. DANIEL GUAMÁN GUAMÁN MSc

Cuenca – Ecuador

2012



INTRODUCCIÓN

Las principales limitaciones para la aplicación de la inseminación artificial en ganado de carne y leche en condiciones de pastoreo son fallas en la detección de celos, anestro posparto y pubertad tardía. Este problema es mayor en el ganado productor de leche, debido a sus características propias en el comportamiento reproductivo.

Para evitar los problemas de la detección de celos en hatos de cría se han desarrollado protocolos de sincronización de la ovulación que permiten además inseminar animales en un periodo establecido. Estos tratamientos se conocen con el nombre de protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)

Para implementar un programa de IA es necesario realizar la sincronización del estro y la ovulación, para lo cual se emplean combinaciones hormonales de progesterona, asociadas con estradiol y PGF2alfa.

Los protocolos pretenden incrementar las tasas de fertilidad que tienen un promedio del 35%.

La disminución de la fertilidad por falta de ovulación cuando se realizan protocolos de sincronización de IATF, se observa especialmente en vacas de alta producción durante el periodo posparto.

JUSTIFICACIÓN

La capacidad para controlar el momento preciso de la ovulación en los protocolos de sincronización depende de la selección del folículo dominante junto a la



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

involución del cuerpo lúteo; actualmente la inducción de una ovulación sincronizada ha permitido el éxito de la inseminación artificial programada, con una tasa de preñez que no superaba el 35%. Motivo por el cual es necesario buscar asociaciones hormonales en los protocolos de IATF, como la aplicación de gonadotrofina coriónica equina al momento de extraer los dispositivos de progesterona.

Los resultados de la investigación propuesta servirán para mejorar la tasa de fertilidad en aquellas explotaciones que emplean los protocolos de IATF.

HIPÓTESIS

La adición de eCG al protocolo Estrógenos más Progestágenos y Prostaglandinas F2 α , por estimulación directa del ovario y potencialización de las gonadotrofinas endógenas mejora en un 20% el desarrollo folicular y la ovulación en vacas Holstein, posparto siempre que las condiciones nutricionales y de salud sean óptimas.

OBJETIVOS

Objetivo General

Mejorar las tasas de fertilidad en las ganaderías lecheras que emplean protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)



Objetivos Específicos

Comparar los efectos del protocolo de sincronización E2+P4 y PGF2 α con el mismo protocolo, más la adición de eCG en el desarrollo folicular, la presencia del cuerpo lúteo y la ovulación en vacas Holstein posparto.

CAPÍTULO I

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Eficiencia reproductiva

La economía mundial hoy en día trata de mejorar la rentabilidad de las explotaciones lecheras utilizando tecnologías reproductivas, pero la variabilidad de los resultados a los tratamientos, el tiempo y esfuerzo requerido en la detección de celos han afectado el rendimiento reproductivo en los rodeos lecheros. La incorporación de técnicas y tratamientos con dispositivos de liberación de progesterona, estradiol y eCG en los protocolos de IATF ha logrado alcanzar altas tasas de preñez en vacas de leche. Sin embargo hay que reconocer que el éxito del programa depende de muchos factores, tales como la nutrición, salud, instalaciones y personal calificado. (1)

En las últimas décadas la selección genética, la nutrición y el manejo adecuado han sido factores relevantes en el incremento de la producción láctea por vaca; sin embargo el comportamiento reproductivo ha disminuido debido a muchas causas, siendo una de ellas el balance energético negativo (NEB), que afecta a la aparición de la primera ovulación en vacas posparto temprano. (2)



1.2. Protocolos de Sincronización de los ciclos estrales.

El avance en el conocimiento de la fisiología reproductiva de los bovinos, especialmente en lo referente a las características del proceso folicular, ha contribuido al desarrollo de protocolos de IA a tiempo fijo, con lo que se sincroniza el estro y la ovulación en un grupo de hembras.

“Existen dos métodos básicos para sincronizar los ciclos estrales en especies de granja, los cuales dependen de la inhibición de secreción de LH o de acortar el tiempo de vida del cuerpo lúteo (CL) y del inicio subsecuente del estro y la ovulación”.(3)

Las hormonas que se combinan en los protocolos de sincronización generalmente se basan en: progesterona, estradiol y prostaglandina. El estradiol produce atresia folicular con la consiguiente emergencia sincronizada de una nueva onda folicular, aproximadamente cuatro a cinco días después de su aplicación. La progesterona exógena como dispositivo intravaginal que se mantiene por 7 días, tiene como efecto principal un bloqueo hipotálamo-hipofisario que simula una fase lútea, así como también aplicada en pre-sincronización antes de la implementación de un protocolo de IATF en vacas y novillas, aumenta la fertilidad. La prostaglandina F2 α produce luteólisis. El porcentaje de preñez obtenido con este protocolo varía entre el 35 y 65% tanto en rodeos de carne como de leche y depende mucho de la condición corporal, los días posparto, la composición de la dieta, el clima y la ubicación geográfica. (4)(5)

Los tratamientos con estas asociaciones hormonales se ha intensificado gracias al uso de la ultrasonografía como medio de diagnóstico, pudiendo determinar con precisión la aparición de ondas foliculares, las cuales se repiten cada 8 a 12 días



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

desde antes de la pubertad hasta la senectud, con interrupciones en los últimos 5 meses de gestación y los primeros días posparto. Sin embargo estos tratamientos pueden ser costosos y las mejoras se pueden obtener en hatos con fertilidad media o por debajo de la media en lugar de hatos con buena fertilidad. (6) (7)

1.3. Estrógenos

Los estrógenos son esteroides con 18 átomos de carbono y un anillo fenólico A (anillo aromático con un grupo hidrófilo carbono 3) y un grupo hidrófilo B cetónico en el carbono 17 del anillo D. Los principales estrógenos en los mamíferos son el 17 β estradiol, estrona y estriol, se producen en el folículo ovárico y en la placenta.

Los estrógenos estimulan el crecimiento corporal, controlan la ovulación, preparan el aparato reproductor para la fecundación y la implantación, aumentan la altura celular y las secreciones de la mucosa del cérvix, provocan engrosamiento de la mucosa vaginal, proliferación endometrial y aumento del tono uterino. (4)(8)(9)

En los animales mediante vías complejas se convierten los andrógenos en estrógenos, por acción de enzimas citocromo P450 del retículo endoplasmático, como es el caso de la testosterona en 17 β estradiol por el metabolismo del citocromo P450 aromatasa. Los esteroides relacionados con la reproducción se producen en muchos tejidos, pero los tejidos esteroidogénicos más activos son las gónadas.(10)

1.3.1. Farmacocinética

Los estrógenos son lipofílicos con absorción intestinal y acumulación en el tejido adiposo, se metabolizan en el hígado y los metabolitos se excretan principalmente por la orina y por la bilis con una semivida breve (6 min.). Los estrógenos en



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

soluciones aceitosas administrados intramuscularmente se absorben rápidamente y continúan por varios días. (8)(9)

1.3.2. Farmacodinamia

Los estrógenos actúan principalmente mediante la regulación de la expresión génica, uniéndose en el interior de la célula con un receptor nuclear. Se producen en el folículo ovárico por estimulación de la FSH y LH que por su carácter cíclico de secreción se deba a un control neurohumoral ejercido, en parte, por el llamado sistema endocrino difuso influido por variables como horas de luz, nutrición, genética, estímulos olfatorios (feromonas). (8)

El estradiol tiene dos funciones principales cuando se utiliza en un protocolo de IATF con progesteronona como dispositivo intravaginal; la primera cuando se aplica al inicio del tratamiento provoca atresia de los folículos existentes, induciendo una nueva onda folicular cuatro a cinco días después y la segunda al aplicar luego de la remoción del dispositivo de progesteronona induce una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo produciendo a su vez la liberación de GnRH la cual es capaz de aumentar los pulsos y la frecuencia de la hormona Luteinizante (LH), logrando la ovulación.(11)

1.4. Progesterona

La progesteronona es un esteroide de 21 carbonos, es el progestágeno natural más prevalente, secretado por el cuerpo amarillo ovárico, la placenta, la corteza suprarrenal y los testículos, en menor cantidad. En medicina veterinaria se utilizan algunos derivados de la progesteronona, como el acetato de medroxiprogesterona, la clormadinona y el acetato de megestrol entre otros. Estos fármacos son capaces



1.4.1. Farmacocinética

La progesterona en su forma natural presenta escasa utilidad clínica por su rápido metabolismo, con una semivida alrededor de 5 minutos. Los progestágenos sintéticos presentan una mayor semivida ya que son metabolizados más lentamente por el hígado, debido a diversas sustituciones químicas realizadas en el carbono 17.

En el plasma la progesterona y sus esteres se unen a la albúmina y la transcortina pero no a la SSBG. El metabolismo hepático origina metabolitos hidroxilados, así como conjugados sulfato y glucurónido que se excretan finalmente a través de la orina.(4)(8)

1.4.2. Farmacodinamia

Los efectos inducidos por los progestágenos son mediados por receptores ubicados en el núcleo celular. Sin embargo se cree que los efectos rápidos observados con los progestágenos son mediados a través de la activación de receptores localizados en la membrana citoplasmática. Se han descrito dos receptores para progesterona PR A y PR B, los mismos que son codificados por un solo gen y están bajo el control de diferentes promotores, que originan subgrupos de ARNm.(4)

La progesterona casi siempre tiene efectos complementarios de los estrógenos. Por ejemplo después de la fase proliferativa del ciclo estrual (estrogénica) sigue la fase secretora (progestágena). La progesterona prepara al útero para la gestación



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

al bloquear la capacidad contráctil del miometrio y la implantación. Uno de sus efectos más importantes es que retarda la ovulación principalmente al inhibir la secreción de LH, lo que se ha utilizado para sincronizar estros.(8)(12)

Comercialmente se encuentran dispositivos intravaginales con diferentes concentraciones de progesterona para ser usados en los protocolos de IATF, tales como: CIDR (1,9 g de progesterona), PRID (1,55 g de progesterona), DIB (1 g de progesterona), DISPOCEL (1 g de progesterona)

Uno de los más utilizados es el CIDR, con las siglas inglesas de “Controlled internal Drug Release”. Se trata de un dispositivo intravaginal desarrollado por investigadores Australianos y comercializado por Pfizer Salud Animal, tiene forma de T y está compuesto de silicona impregnada en 1.9 g de progesterona que libera diariamente de 80 a 100 mg de la sustancia activa, unida a un hilo de nylon que permite retirarlo del fondo vaginal en el momento adecuado.(13)

1.5. Prostaglandinas

Las prostaglandinas son ácidos grasos no saturados de 20 carbonos, derivados del ciclo pentano cuyo principal precursor es el ácido araquidónico. Son sintetizadas en la mayoría de los tejidos del cuerpo y sirven de hormonas locales, actuando sobre tejidos cerca del lugar de su síntesis.

Se han identificado alrededor de 15 series de prostaglandinas con las más diversas funciones, conociéndose el papel que juegan en la reproducción las series F y E. (8)(12)(14)

Las prostaglandinas se pueden considerar como hormonas que regulan varios fenómenos fisiológicos y farmacológicos, como la contracción del músculo liso en



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

los aparatos gastrointestinal y reproductivo, la erección, eyaculación, el transporte de espermatozoides, la ovulación, formación del cuerpo amarillo, el parto y la eyeción de leche.(3)

1.5.1. PGF2 α

La PGF2 α es la causa de la luteólisis en la mayoría de las especies, es producida en el endometrio y llega directamente al ovario al atravesar el círculo portal útero-ovárico (vena uterina-arteria ovárica). A nivel ovárico ejerce una acción vasoconstrictora en la arteria ovárica, en los capilares del cuerpo lúteo y activa los procesos autofágicos de los lisosomas de las células luteínicas. La luteólisis tiene lugar por vasoconstricción ovárica; el cuerpo lúteo bajo la acción de la PGF2 α cesa la actividad endocrina y comienza a disminuir de volumen y de peso después de 24 a 48 horas, por activación de los procesos autofágicos.(8)(14)

La vida media plasmática de la PGF2 α es aproximadamente de ocho minutos, se inactiva al transitar por los pulmones, el bazo y el hígado, esta inactividad se evita con el mecanismo de contracorriente, en donde la PGF2 α pasa del endometrio a la vena uterina y de ésta a la arteria ovárica. (8)(12)

La síntesis y liberación de PGF2 α es esencial para su efecto luteolítico las cuales se realizan en forma pulsátil, con pulsos a intervalos de seis horas, para que tenga algún efecto en la luteólisis, por lo tanto son necesarios un mínimo de cuatro a cinco pulsos en un período de 24 horas para que dicha luteólisis sea completa. Si estos intervalos aumentan de forma significativa antes de haberse completado la luteólisis (p. ej., 12 horas), el CL podría recomponerse y continuar su función, incluso con niveles menores de actividad de síntesis esteroidea. El útero debe estar expuesto a estrógenos y progesterona para poder sintetizar y liberar PGF2 α .



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Aunque la iniciación de la síntesis de PGF2 α que conduce a la luteólisis no se conoce por completo, es posible que se deba a los estrógenos procedentes de un folículo antral.(15)

Los análogos de la PGF2 α tales como: tiaprost, cloprostenol, fenprostaleno, dinoprost, entre otros, son efectivos en inducir la regresión del cuerpo lúteo (CL) durante los días 6 a 17 del ciclo estrual, de allí su utilización en los protocolos de IATF. (4)

1.6. Gonadotropina coriónica equina (eCG)

1.6.1. Origen y composición

La Gonadotrofina coriónica equina (eCG, PMSG), hormona placentaria, es secretada en las copas endometriales que se han formado alrededor del día 40 en las yeguas gestantes; es una hormona glicoproteica con un peso molecular aproximadamente de 70.000 Daltons, por lo que no aparece en la orina y circula en la sangre; contiene subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH pero con mayor contenido de carbohidratos (45% de su masa), especialmente ácido siálico, hecho que le confiere características propias desde el punto de vista farmacocinético, como una vida media prolongada que favorece su uso en una sola dosis. (3)(8)(12)

1.6.2. Mecanismo de acción

La Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) desde el punto de vista farmacodinámico tiene una actividad semejante a las hormonas folículo estimulante y luteinizante (FSH y LH, respectivamente). Tiene una vida media de



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

aproximadamente 2 días en la vaca y persiste por más de 10 días en la circulación sanguínea.

La eCG administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular debido a que tiene la capacidad de unirse e incrementar el número de receptores de FSH y LH de los folículos, aumentando el tamaño del folículo preovulatorio, incrementando las concentraciones plasmáticas de progesterona luego de la ovulación, mejorando así el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez. (1)(16)

1.6.3. Indicaciones y dosis.

Se han realizado investigaciones con diferentes dosis de eCG, en vacas, consiguiendo una estimulación directa en el desarrollo, la maduración y la ovulación en la mayoría de las especies domésticas. La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de progesterona dio como resultado un aumento en la concentración de progesterona en el plasma y en las tasas de preñez en vacas amamantadas, tratadas durante el anestro posparto. Sin embargo, cuando se utilizaron vacas con pobre o moderada condición corporal la aplicación de eCG aumentó los porcentajes de preñez, sobre todo en vacas sin estructuras ováricas palpables o sólo con folículos (sin un cuerpo lúteo) al inicio del tratamiento. (17)(18)(19)(20)

La Gonadotropina Coriónica equina aplicada en un protocolo con dispositivo intravaginal de progesterona permitió detectar la ovulación en hembras durante los primeros 10 días de culminados los tratamientos. El 78.9% de las vacas tratadas con eCG ovularon frente al 29% de vacas que ovularon del grupo control sin eCG. (21)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

“La gonadotrofina coriónica equina no aumentó el diámetro del folículo ovulatorio, según se reportó en determinados experimentos realizados en bovinos para carne. Sin embargo, otro experimento que se realizó recientemente en Brasil reveló que los tratamientos con eCG producen niveles superiores de progesterona sérica en la fase luteal siguiente, lo que sugiere que eCG estimula el desarrollo de un CL más competente. Esto, a su vez, puede producir un incremento en la tasa de preñez, según mostramos en el caso de los bovinos para carne”. (1)

“En ganado Holando en producción, el uso de eCG, incrementó en 25 puntos los porcentajes de preñez con respecto a las vacas tratadas con BE. En parte esto último es debido a la inducción de la ovulación por la eCG, lo que permite inseminar vacas que no han manifestado síntomas de celo, obteniendo buenos índices de concepción. En cambio, la inducción de celo por el BE no siempre está acompañada de ovulación. Viñoles et al., (2000) trabajando con vacas con ternero al pie, utilizando presarios con progesterona durante 7 días, observaron que la administración de BE induce el celo, no obstante tan sólo un 50% de los animales ovulan. El uso de eCG permite inducir la ovulación, siendo las estructuras ováricas formadas estrogénicas (folículos terciarios, folículos preovulatorios) las que inducen la manifestación del celo. Por esto, al aumentar el reclutamiento folicular se ve favorecido no sólo la manifestación del celo, sino la tasa de concepción”. (22)

La aplicación de eCG en vacas Holstein lecheras en producción con posparto temprano puede acelerar la reanudación de la actividad ovárica, por fomentar el crecimiento del folículo ovárico y la ovulación. (23)

La adición de eCG en protocolos de sincronización en búfalos con baja expresión de estro mejora sustancialmente la tasa de ovulación. Cuando este tratamiento es seguido por IA a tiempo fijo, las tasas de embarazo logrados en búfalos en



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

anestro, ya sea cíclico y no cíclico, puede acercarse a las tasas observadas en vacas inseminadas a estro natural.(24)

1.7. Desarrollo folicular.

La unidad estructural y funcional del ovario es el folículo ovárico que experimenta diversas etapas de desarrollo en su evolución hasta la ovulación o, más frecuentemente, hasta la atresia. La foliculogénesis es un proceso altamente selectivo donde usualmente solo un folículo asume dominancia y el destino del resto de los folículos es la atresia mediada por apoptosis; el mayor tipo de células que sufren este proceso son las células de la granulosa. La foliculogénesis ocurre en estado fetal, animales pre púberes y durante la gestación.(14)(25)

1.7.1. Dinámica folicular.

Dinámica folicular se refiere al crecimiento continuo y regresión de folículos antrales durante el ciclo estrual de la vaca, la misma que ocurre en ondas u oleadas, una como mínimo y cuatro como máximo, pero el patrón más frecuente es el de tres ondas. La primera comienza tres días después del estro, la segunda de ocho a nueve días post ovulación y la tercera inicia de once a doce días del celo, en la cual el folículo ovulatorio surge aproximadamente en el día 18 del ciclo estral. Independientemente de la especie y del número de oleadas, cada una tiene tres fases: reclutamiento, selección y dominancia. (3)(26)(27)(28)

1.7.1.1. Reclutamiento.

En el reclutamiento los folículos que alcanzan un cierto tamaño, al menos 2 mm, pueden proseguir su desarrollo, bajo el estímulo de la FSH, la misma que cuando alcanza el pico de concentración los folículos más grandes de la onda tienen un TEMA: "EFFECTO DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN LA OVULACIÓN CON PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS HOLSTEIN POSPARTO".
AUTOR: PATRICIO GARNICA M. PAG:20
-2012-



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

diámetro de aproximadamente cuatro mm y tres días después cuando tienen aproximadamente 8 mm de diámetro se selecciona un solo folículo para continuar creciendo y se transforma en dominante, mientras que los demás regresan. Si la dominancia ocurre en la fase lútea, el folículo dominante se atresia por el efecto inhibitorio de la progesterona sobre la LH; si la dominancia ocurre al tiempo de la luteólisis, el folículo ovulará. (14)(29)

1.7.1.2. Selección.

La selección es la emergencia de uno o más folículos ovulatorios entre los reclutados por una mayor actividad aromatasa de las células de la granulosa, lo que conduce a un aumento progresivo de la síntesis de estradiol y de inhibina en el folículo dominante, las cuales ejercen una retroalimentación negativa sobre la producción hipofisaria de FSH que consecuentemente disminuye, además cuando el folículo dominante adquiere el diámetro clave de 8 mm, comienza a desarrollar e incrementar receptores para LH en las células de la granulosa, lo que le permite seguir creciendo con bajas concentraciones de FSH. (29)(30)

“Otro factor que estaría involucrado en la selección folicular, sería el sistema IGF (factores de crecimiento similares a la insulina). Este está integrado por los IGF 1 y 2, sus receptores y proteínas fijadoras (IGFBPs); pudiendo el IGFBP tener un rol en la desviación folicular por disminuir la biodisponibilidad del IGF-1 e interferir con el crecimiento de los folículos subordinados”. (31)

1.7.1.3. Dominancia.

La dominancia es el proceso por el cual el folículo seleccionado ejerce un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos, en donde las células del folículo dominante se caracterizan por los altos niveles de RNAm para



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

receptores de gonadotropinas, principalmente receptor de hormona luteinizante (LHR), proteínas y enzimas involucradas en la síntesis de andrógenos y progestágenos. Con el empleo de la ultrasonografía se puede observar que a los dos días de detectarse una onda, existe un folículo dominante que crece más rápidamente que los subordinados y a los 6 a 7 días alcanza su máximo tamaño de 15 a 17 mm, mientras que los subordinados se atresian. En este momento el folículo dominante puede ovular o de lo contrario entra en una fase estacionaria que dura 6 días, etapa en la cual mantiene su tamaño y capacidad ovulatoria; si no se produce la ovulación se atresia y a los 9 días más tarde su tamaño ha descendido a los 4 mm. (6)(32)(33)

1.7.2. Atresia folicular.

Atresia o involución folicular puede manifestarse en cualquier etapa de la foliculogénesis controlada por un mecanismo de muerte celular programada que se conoce como apoptosis. En los folículos pequeños la atresia se manifiesta por la rápida desaparición de los ovocitos con una retracción de las células de la granulosa e hipertrofia de las células de la teca interna. En los folículos grandes la atresia se produce por la presencia de cuerpos pignóticos que cuando el número de estos cuerpos se incrementa, la capa granulosa desaparece y las tecas cambian a tejido intersticial, luego se produce una invasión de la cavidad folicular por fibroblastos y desaparece el tejido intersticial. (12)(14)

1.8. Ovulación

La maduración de un folículo dominante en la superficie del ovario, la liberación de cantidades necesarias de estradiol y la subsiguiente liberación del ovulo a través de una estrecha herida se conoce como ovulación, la cual depende de la interacción de sustancias como las gonadotrofinas, hormonas esteroides, factores



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

de crecimiento, entre otras. Para que se produzca este fenómeno es necesario que se rompan todas las capas celulares que separan al ovocito del exterior del folículo, tales como: el epitelio superficial del ovario, túnica albugínea, la membrana basal y el estrato granuloso. (12)(34) (35)

1.8.1. Fisiología de la ovulación

Fisiológicamente, la ovulación es el resultado de la breve liberación preovulatoria de LH, la cual se produce tras un espacio de tiempo característico de cada especie que discurre entre la máxima liberación de LH y la ovulación, proceso que en la vaca tiene una duración promedio de 30 horas de haberse iniciado el estro.

La producción de estrógenos por el folículo terminal ejerce una influencia positiva sobre la hipófisis, que produce una descarga de gonadotrofinas FSH y LH cuyos efectos son un incremento de la vascularización del ovario mediados por factores vasodilatadores como la histamina, bradiquinina, angiotensinas, prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas. En las paredes de los capilares se forman numerosas fenestraciones que permiten la salida del plasma y células sanguíneas del folículo, provocando un edema de la teca externa. (14)(34)

Normalmente, en la vaca sólo un folículo ovula cada ciclo estrual. Alrededor del 10% de las veces ovulan dos folículos y es raro que ovulen tres. La ovulación ocurre en el ovario derecho alrededor del 60% de las veces; el 40% restante ocurre en el izquierdo. (3)(12)

1.9. Cuerpo Lúteo

Como resultado de la ovulación se produce una hemorragia en la cavidad folicular, la misma que sufre un proceso de coagulación denominándose cuerpo



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

hemorrágico, en donde se produce un infiltrado de eosinófilos y proliferación rápida de las células de la granulosa y teca, formándose el cuerpo lúteo por luteinización. A partir del día 3 a 4 del ciclo el cuerpo lúteo produce cantidades considerables de progesterona, el mismo que alcanza su peso (5 g) y tamaño (2 cm) máximo, así como la máxima producción de progesterona alrededor del día 11 del ciclo. Este es uno de los crecimientos más rápidos que se conoce en biología. (12)(34)

1.9.1. Fisiología del cuerpo Lúteo.

Importantes recomposiciones y cambios morfológicos de las estructuras foliculares suceden luego de la ovulación, con actividad genérica autocrina y paracrina de los factores de crecimiento implicados en la proliferación local y remodelaciones tisulares necesarias para la transformación luteal de un folículo, en la que intervienen mecanismos biológicos, procesos inflamatorios, producción de progesterona y síntesis de proteasas y angiogénesis. Así, la rápida vascularización de los estratos celulares derivados de la granulosa a partir de los vasos que irrigan la teca es inducida por la actividad angiogénica del fluido folicular. Ésta depende de la FGF (*Fibroblast Growth Factor*), del IGF, del TGF- β , de la activina, de la inhibina y de la folistatina.

El cuerpo lúteo está formado por células esteroidógenas grandes derivadas de las células de la granulosa y pequeñas derivadas de las células de la teca interna. En los mamíferos ejerce una función esencial en la regulación del ciclo estrual y mantenimiento de la gestación. (14)(15)



CAPÍTULO II

2. MÉTODOS

2.1. Localización

La presente investigación se realizó en la hacienda “El Cortijo”, de la Parroquia Jerusalén del Cantón Biblián, Provincia del Cañar, con una altitud 2640 msnm, con una temperatura promedio de 14.2°C, ubicado en la zona septentrional de la hoya del Paute, tiene una longitud de 78° 58' 7" oeste y una latitud de 2° 42' 57" sur; caracterizado por un clima frío húmedo con una precipitación de 1180 mm al año.

La hacienda tiene como actividad principal la producción de leche con animales de la raza Holstein

2.2. Población

La población en estudio fue de 60 vacas de la raza Holstein

2.2.1. Características de la Población

Para la realización de esta investigación se utilizaron 60 vacas Holstein, con una condición corporal entre 2.5 y 3.5 en la escala de 1 a 5, edad entre 3 y 6 años, con un periodo posparto entre 45 a 120 días y con un promedio entre 2 y 4 partos, distribuidos en dos grupos de 30 animales.



2.3. Manejo

Todas las vacas fueron sometidas a las mismas condiciones de manejo y alimentación, en explotación semi intensiva, con una asociación forrajera de rye-gras perenne, trébol y kikuyo, la misma que aporta: proteína el 17%, energía metabolizable 2.2 Mcal/kg MS con un consumo de 15 kg de MS por vaca/día. Además suplemento estratégico de la finca el cual aporta: proteína 16%, energía metabolizable 3.2 Mcal/kg MS con un consumo de 4 kg de MS vaca/día.

Los animales con las características descritas anteriormente se sometieron a los tratamientos de sincronización del estro y ovulación con el protocolo E2+P4+PGF2 α , con eCG y sin eCG en 30 animales por tratamiento.

2.4. Tratamientos

Cuadro 1. Tratamiento A con eCG y B sin eCG

Días	Tratamiento A	Tratamiento B
0	2 mg BE+CIDR.	2 mg BE+CIDR.
7	Remoción CIDR +25mg PGF2 α +400 UI eCG.	Remoción CIDR +25 mg PGF2 α .
8	1 mg BE.	1 mg BE.
9	Medición Diámetro Folicular (ultrasonografía)	Medición Diámetro Folicular (ultrasonografía)



16	Comprobación de ovulación (ultrasonografía)	Comprobación de ovulación (ultrasonografía)
----	---	---

BE=Benzoato de estradiol. CIDR= Controlled internal Drug Release.

PGF2 α =Prostaglandina. eCG=Gonadotrofina coriónica equina

2.5. Variables Analizadas

Las variables analizadas fueron:

-Desarrollo Folicular (diámetro del folículo dominante)

-Ovulación (presencia del cuerpo lúteo)

2.6. Diseño Estadístico

Para la investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con dos tratamientos: tratamiento “A” con eCG y tratamiento “B” sin eCG y 30 repeticiones.

2.7. Análisis Estadístico

Para el estudio de los datos se realizó el procedimiento de Análisis de Varianza (ADEVA); para las pruebas de significación se utilizó DUNCAN al 5% y 1%. Los cálculos fueron realizados en Excel 2010.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

2.8. Recursos

2.8.1. Recursos Humanos

Investigador

Director de la investigación

Personal de la Hacienda

2.8.2. Recursos Biológicos

Unidad de observación: vacas en explotación semi-intensiva en la hacienda “El Cortijo”

2.8.3. Hormonas

- Benzoato de Estradiol (Fertigan)
- Progesterona- Dispositivos intravaginales (CDR-B)
- PGF2 α dinoprost (Lutalyce)
- eCG (Folligon)

2.9. Otros

Ecógrafo LANDWIND C40 VET con sonda lineal de 7.5 MHz; Monitor de 10"
Registros de observación (anexos)



CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

3.1. Diámetro Folicular

Cuadro 2. Diámetro del folículo del ovario derecho (mm) de vacas, para DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con datos transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat	Trat A= con eCG Trat B= sin eCG
	A	B		
1	0,71	3,82	4,53	
2	0,71	2,83	3,54	
3	4,18	4,65	8,83	
4	4,34	3,41	7,74	
5	0,71	3,77	4,48	
6	4,11	2,85	6,96	
7	2,98	3,99	6,97	
8	3,29	2,68	5,97	
9	5,05	3,94	8,99	
10	3,05	3,24	6,29	
11	3,44	3,05	6,48	
12	3,51	3,02	6,52	
13	0,71	0,71	1,41	



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

14	4,10	0,71	4,81
15	2,74	0,71	3,45
16	3,27	0,71	3,98
17	3,65	0,71	4,35
18	4,06	3,82	7,88
19	3,67	0,71	4,38
20	3,82	0,71	4,53
21	0,71	0,71	1,41
22	4,39	4,07	8,47
23	3,49	0,71	4,20
24	0,71	0,71	1,41
25	3,67	4,37	8,04
26	3,65	3,94	7,58
27	0,71	0,71	1,41
28	3,94	0,71	4,64
29	3,59	3,87	7,46
30	0,71	3,46	4,17
Σ Trat	87,65	73,26	160,91
\bar{x}	2,92	2,44	2,68

Cuadro 3. ADEVA para el diámetro del folículo del ovario derecho de tratamientos con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular	5%	1%
Total	59	128,27					
Tratamientos	1	3,45	3,45	1,60	NS	4,01	7,09
E.Experimental	58	124,81	2,15				

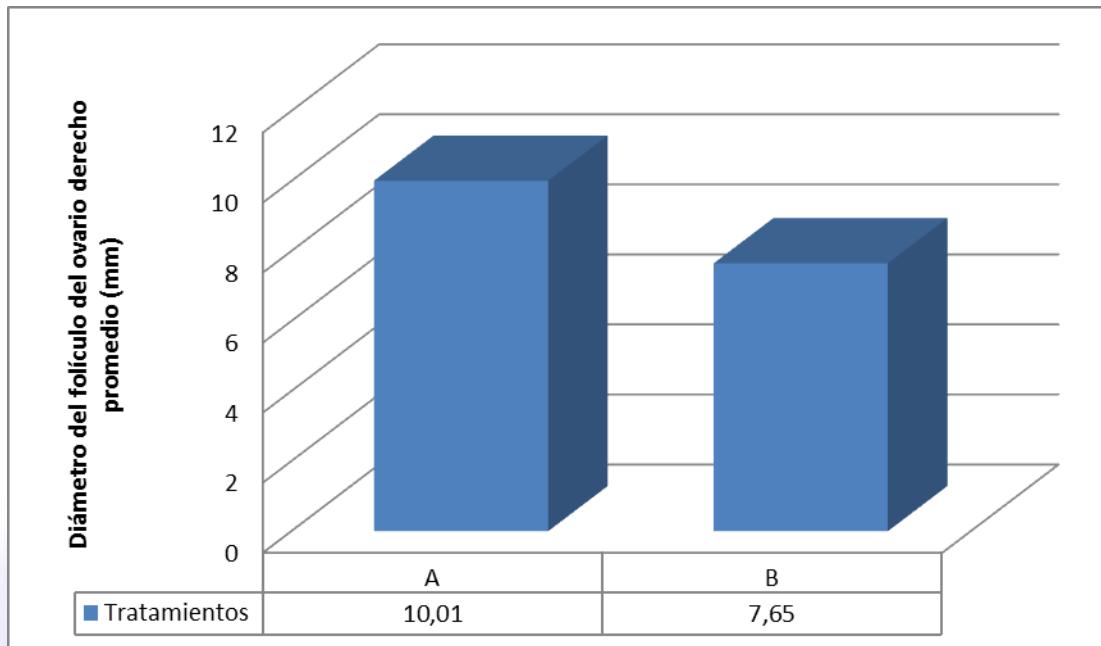
CV = 54,74%

En el ADEVA para el factor diámetro del folículo del ovario derecho de los tratamientos, F calculada es menor a la F tabulada al 5 y 1%, rechazando la hipótesis asumida de que el diámetro folicular mejoraría en un 20%

El CV obtenido del 54.74% es alto para este tipo de investigación por la variabilidad en los datos, porque no se presenta la homogeneidad en el diámetro folicular.



Figura 1. Diámetro del folículo del ovario derecho promedio (mm) de las vacas de tratamientos



De conformidad con el ADEVA el diámetro del folículo del ovario derecho de los dos tratamientos presenta diferencias estadísticas no significativas, aunque en la figura se observa diferencias en el diámetro del folículo del ovario derecho pero estadísticamente son iguales



Cuadro 4. Diámetro del folículo del ovario izquierdo (mm) de vacas, para DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con datos transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat
	A	B	
1	4,06	0,71	4,77
2	0,71	0,71	1,41
3	3,70	0,71	4,41
4	0,71	0,71	1,41
5	0,71	0,71	1,41
6	0,71	0,71	1,41
7	0,71	2,51	3,22
8	0,71	3,66	4,37
9	2,43	0,71	3,14
10	0,71	0,71	1,41
11	2,41	2,49	4,90
12	0,71	4,21	4,91
13	3,69	3,82	7,51
14	0,71	0,71	1,41
15	2,86	4,18	7,05
16	0,71	3,62	4,33
17	3,67	3,00	6,67

Trat A =con eCG

Trat B = sin eCG



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

18	3,51	0,71	4,21
19	2,35	0,71	3,05
20	3,36	0,71	4,07
21	0,71	0,71	1,41
22	3,61	0,71	4,31
23	3,21	5,20	8,41
24	0,71	0,71	1,41
25	0,71	0,71	1,41
26	3,70	3,56	7,27
27	3,00	2,17	5,17
28	0,71	3,26	3,96
29I	0,71	2,55	3,26
30	3,36	3,78	7,14
Σ Trat	59,52	59,32	118,84
\bar{x}	1,98	1,98	1,98



Cuadro 5. ADEVA para el diámetro del folículo del ovario izquierdo de tratamientos con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular		
					0,05 0,01		
Total	59	117,3176					
Tratamientos	1	0,0007	0,0007	0,0003	NS	4,007	7,093
E. Experimental	58	117,3169	2,0227				

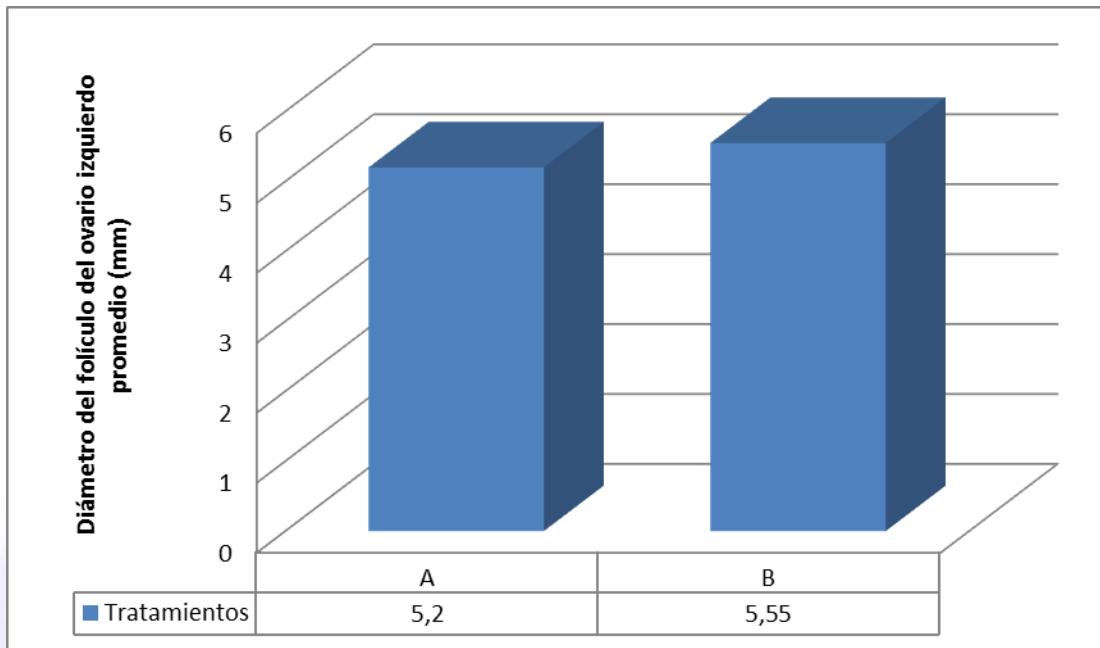
CV = 71,83%

En el ADEVA para el factor diámetro del folículo del ovario izquierdo de los tratamientos, F calculada es menor a la F tabulada al 5 y 1%, rechazando la hipótesis asumida de que el diámetro folicular mejoraría en un 20%.

El CV obtenido del 71.83% es alto para este tipo de investigación por la variabilidad en los datos, porque no se presenta la homogeneidad en el diámetro folicular.



Figura 2. Diámetro del folículo del ovario izquierdo promedio (mm) de las vacas de tratamientos.



De conformidad con el ADEVA el diámetro del folículo del ovario izquierdo de los dos tratamientos, presenta diferencias estadísticas no significativas, aunque en la figura se observa diferencias en el diámetro del folículo del ovario izquierdo, pero estadísticamente son iguales.



Cuadro 6. Diámetro folicular indiferenciado (mm) de vacas, para DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat
	A	B	
1	2,92	2,75	5,66
2	3,00	2,06	5,06
3	4,03	0,71	4,74
4	2,38	0,71	3,08
5	0,71	3,13	3,84
6	2,83	2,83	5,66
7	2,59	3,73	6,32
8	0,71	3,28	3,99
9	2,72	0,71	3,43
10	2,21	0,71	2,92
11	2,97	3,32	6,29
12	2,53	3,02	5,55
13	2,66	3,62	6,27
14	0,71	2,71	3,42
15	3,54	3,00	6,54
16	3,61	2,61	6,21
17	2,65	2,18	4,83

Trat A = con eCG

Trat B = sin eCG



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

18	3,15	2,78	5,93
19	3,07	0,71	3,77
20	3,43	2,50	5,93
21	2,75	2,75	5,50
22	2,60	2,92	5,52
23	3,68	3,71	7,39
24	2,65	0,71	3,35
25	3,15	0,71	3,85
26	2,66	3,32	5,98
27	3,35	2,44	5,79
28	2,63	3,14	5,77
29	2,92	3,32	6,23
30	3,32	3,52	6,84
Σ Trat	82,08	73,59	155,67
\bar{x}	2,74	2,45	2,60



Cuadro 7. ADEVA para el diámetro folicular indiferenciado de tratamientos con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

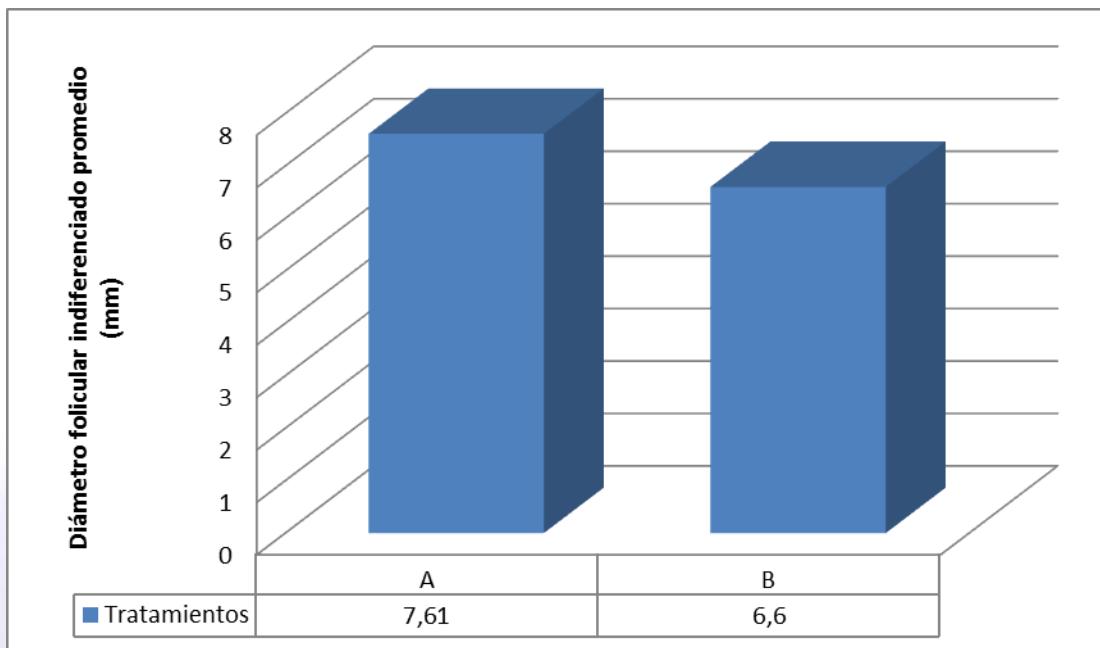
F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular		
					0,05 0,01		
Total	59	128,27					
Tratamientos	1	3,45	3,45	1,60	NS	4,01	7,09
E.Experimental	58	124,81	2,15				

CV = 56,42%

En el ADEVA para el factor diámetro folicular indiferenciado en vacas, F calculada es menor en relación a la F tabulada. En consecuencia se rechaza la hipótesis de que mejoraría el diámetro folicular promedio en un 20%.

El CV calculado es del 56.42% es alto para este tipo de investigación por la variabilidad en los datos, porque no se presenta la homogeneidad en el diámetro folicular.

Figura 3. Diámetro folicular indiferenciado promedio (mm) de las vacas de tratamientos.



De conformidad con el ADEVA, el diámetro folicular indiferenciado de los dos tratamientos, presenta diferencias estadísticas no significativas, aunque en la figura se observa diferencias en el diámetro folicular indiferenciado pero estadísticamente son iguales.



3.2. Ovulación

Cuadro 8. Frecuencia de ovulación en ovario derecho para un DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat	Trat A = con eCG Trat B = sin eCG
	A	B		
1	0,71	1,22	1,93	
2	1,22	0,71	1,93	
3	1,22	0,71	1,93	
4	1,22	0,71	1,93	
5	0,71	0,71	1,41	
6	1,22	0,71	1,93	
7	1,22	0,71	1,93	
8	0,71	0,71	1,41	
9	0,71	0,71	1,41	
10	1,22	0,71	1,93	
11	1,22	0,71	1,93	
12	1,22	0,71	1,93	
13	0,71	1,22	1,93	
14	0,71	0,71	1,41	
15	1,22	0,71	1,93	
16	1,22	0,71	1,93	
17	0,71	1,22	1,93	



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

18	0,71	1,22	1,93
19	1,22	0,71	1,93
20	1,22	0,71	1,93
21	1,22	0,71	1,93
22	0,71	1,22	1,93
23	1,22	0,71	1,93
24	1,22	0,71	1,93
25	1,22	0,71	1,93
26	0,71	1,22	1,93
27	1,22	0,71	1,93
28	1,22	0,71	1,93
29	0,71	1,22	1,41
30	0,71	1,22	1,93
Σ Trat	30,53	25,35	55,88
\bar{x}	1,02	0,85	0,93



Cuadro 9. ADEVA para la ovulación en ovario derecho en vacas de tratamientos con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular		
						0,05	0,01
Total	59	3,90					
Tratamientos	1	0,54	0,540	9,31 **	4,01	7,09	
E.Experimental	58	3,36	0,058				

CV = 25,89%

El ADEVA que compara la frecuencia de ovulación en vacas, establece diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos, para la frecuencia de ovulación en el ovario derecho.

3.2.1. Prueba de significación de Duncan al 5 y 1% (con valores transformados)

Debido a que en el análisis de varianza (ADEVA) se obtuvieron diferencias altamente significativas para tratamientos. La prueba de significación verificará que efectivamente la hormona eCG tiene influencia positiva en la ovulación y recomendar su utilización en vacas.



3.2.2. Cálculo prueba de Duncan

$$D = Q \sqrt{\frac{CMEExp}{r}} = 0,044$$

	D = Q 0,05(2; 2)	0,044
Duncan 5% =	2,83	0,12
	D = Q 0,01(2; 2)	
Duncan 1% =	3,83	0,17

3.2.3. Ordenamiento de las medias de los tratamientos según su magnitud.

Tratamientos:	A	B
Medias:	1,02 ^a	0,83 ^b

*Letras diferentes demuestran estadísticas significativas

3.2.4. Comparación entre las medias de los tratamientos.

Tratamientos	Calculado	Duncan 5%	Duncan 1%
A-B	0,19 **	0,12	0,17

3.2.5. Conclusiones

La prueba de Duncan al 5 y 1%, establece diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos por lo tanto al analizar el comportamiento de la ovulación en forma diferenciada se constató una mayor influencia de la hormona eCG en el ovario derecho; demostrando en el análisis dos rangos **a** (Tratamiento A 1,02) y **b** (Tratamiento B 0,83)



3.2.6. Verificación de la hipótesis

Tratamientos:	A	B	Diferencia
Medias:	1,02 ^a	0,83 ^b	Valor
			0,19

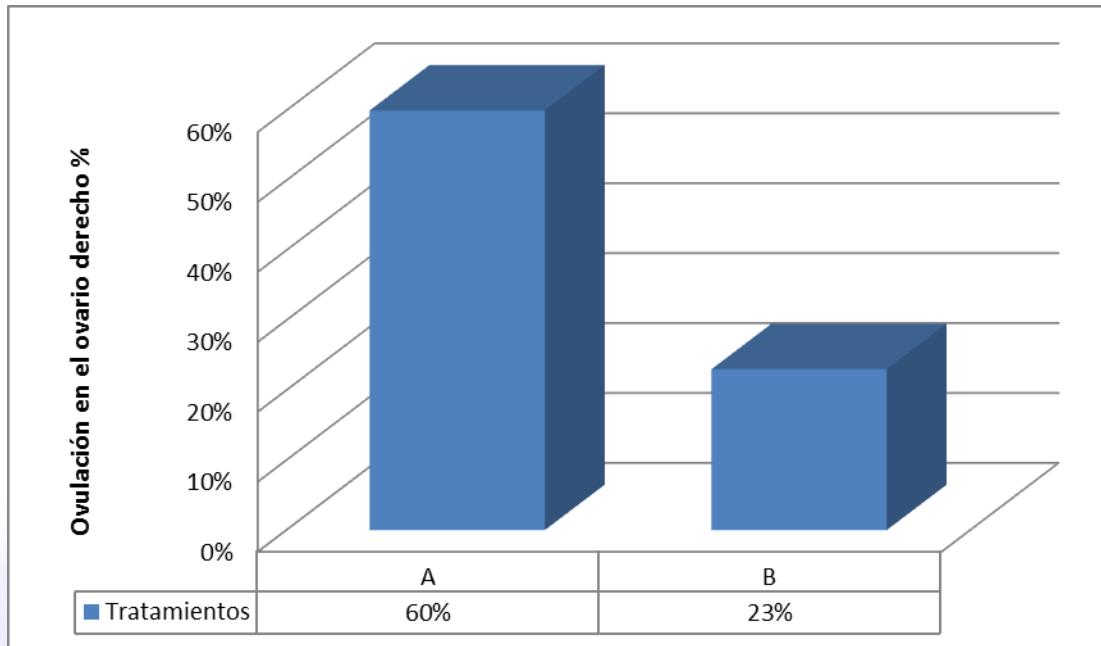
*Letras diferentes demuestran estadísticas significativas

En base al resultado de la prueba de significación, se acepta la hipótesis de que la adición de eCG, mejoraría la ovulación en un 20% en vacas Holstein pos-parto, manejadas en óptimas condiciones nutricionales y de salud dentro del experimento.

El CV calculado de 25,89% es un porcentaje que se encuentra dentro de los rangos aceptados para este tipo de investigación.



Figura 4. Ovulación en ovario derecho de las vacas de tratamientos.



El ADEVA para ovulación en vacas de tratamientos, estableció diferencias estadísticas altamente significativas, la figura muestra las diferencias observadas.



Cuadro 10. Frecuencia de ovulación en ovario izquierdo para un DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat
	A	B	
1	0,71	0,71	1,41
2	0,71	0,71	1,41
3	0,71	0,71	1,41
4	0,71	0,71	1,41
5	1,22	0,71	1,93
6	1,22	0,71	1,93
7	0,71	0,71	1,41
8	0,71	1,22	1,93
9	0,71	0,71	1,41
10	0,71	0,71	1,41
11	1,22	0,71	1,93
12	0,71	1,22	1,93
13	0,71	1,22	1,93
14	1,22	0,71	1,93
15	0,71	1,22	1,93
16	0,71	1,22	1,93
17	0,71	0,71	1,41

Trat A = con eCG

Trat B = sin eCG



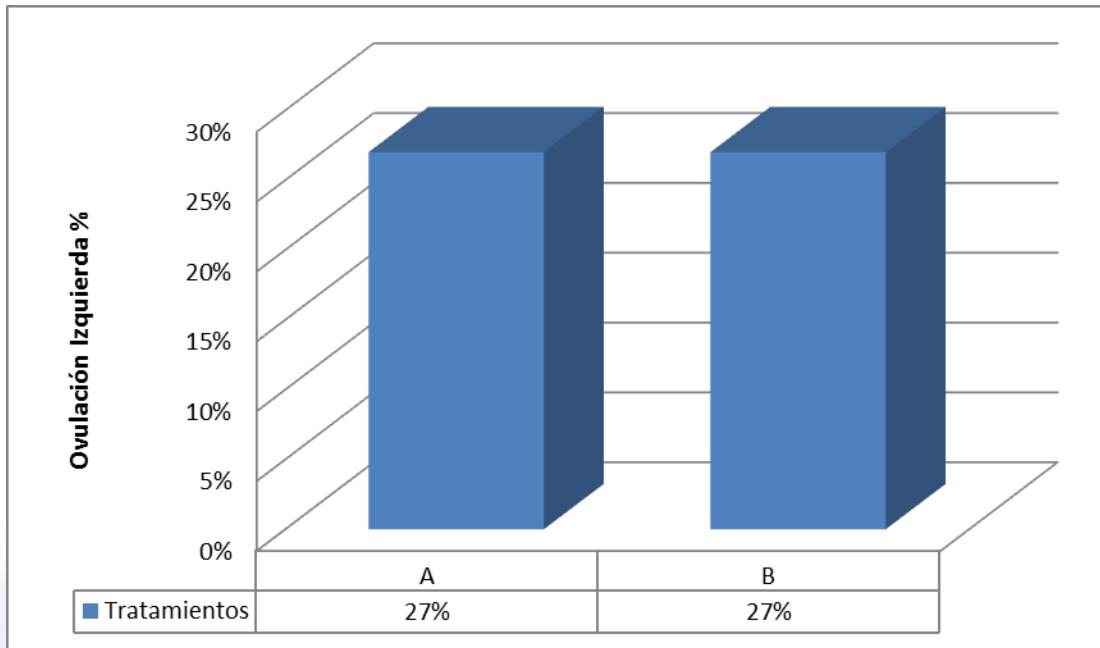
UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

18	1,22	0,71	1,93
19	0,71	0,71	1,41
20	1,22	0,71	1,93
21	0,71	0,71	1,41
22	1,22	0,71	1,93
23	0,71	0,71	1,41
24	0,71	0,71	1,41
25	0,71	0,71	1,41
26	0,71	1,22	1,93
27	0,71	0,71	1,41
28	0,71	1,22	1,93
29	0,71	0,71	1,41
30	0,71	1,22	1,93
Σ Trat	24,84	25,35	50,19
\bar{x}	0,83	0,85	0,84



Figura 5. Ovulación en ovario izquierdo de las vacas de tratamientos.



Al observar los promedios de los tratamientos, se puede constatar que la ovulación tuvo igual comportamiento en los dos tratamientos; el A con la adición de eCG al protocolo base E2+P4 y PGF2 α , frente al tratamiento B sin adición de eCG en vacas, por lo tanto no amerita realizar el ADEVA.



Cuadro 11. Frecuencia de ovulación indiferenciada en ovarios, para un DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat
	A	B	
1	1,00	0,71	1,71
2	1,00	0,71	1,71
3	1,00	0,71	1,71
4	1,00	0,71	1,71
5	0,71	1,00	1,71
6	1,00	1,00	2,00
7	1,00	0,71	1,71
8	0,71	1,00	1,71
9	0,71	0,71	1,41
10	1,00	0,71	1,71
11	1,00	1,00	2,00
12	1,00	1,00	2,00
13	1,00	1,00	2,00
14	0,71	1,00	1,71
15	1,00	1,00	2,00
16	1,00	1,00	2,00
17	1,00	0,71	1,71

Trat A = con eCG
Trat B = sin eCG



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

18	1,00	1,00	2,00
19	1,00	0,71	1,71
20	1,00	1,00	2,00
21	1,00	0,71	1,71
22	1,00	1,00	2,00
23	1,00	0,71	1,71
24	1,00	0,71	1,71
25	1,00	0,71	1,71
26	1,00	1,00	2,00
27	1,00	0,71	1,71
28	1,00	1,00	2,00
29	0,71	1,00	1,71
30	1,00	1,00	2,00
Σ Trat	28,54	25,90	54,44
\bar{x}	0,95	0,86	0,91



Cuadro 12. ADEVA para la ovulación indiferenciada en vacas de tratamientos con valores transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular		
					0,05 0,01		
Total	59	1,10					
Tratamientos	1	0,12	0,116	6,81 *	4,01	7,09	
E.Experimental	58	0,99	0,017				

CV = 14, 35%

El ADEVA para la frecuencia de ovulación indiferenciada en las vacas encontró diferencias significativas entre los tratamientos al 5% y NS al 1% para la ovulación indiferenciada, en consecuencia se acepta parcialmente la hipótesis de esta investigación de que la hormona eCG incrementaría la ovulación en vacas en un 20%.

3.2.7. Prueba de significación de Duncan al 5%

Debido a que en análisis de varianza (ADEVA) se obtuvieron diferencias significativas para tratamientos al 5%, a continuación se realiza la prueba de significación para verificar si efectivamente la hormona eCG tiene influencia positiva en la ovulación y confirmar su utilización en vacas.



$$D = Q \&(2; 3; 4; 5; p; fe)S_{\bar{x}} \quad 0,024$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{0,003}{30}} =$$

$$D = Q 0,05(2; \quad 2) \quad 0,024$$

Duncan 5% 2,83 **0,07**

$$D = Q 0,01(2; \quad 2)$$

Duncan 1% 3,83 **0,09**

3.2.8. Ordenamiento de las medias de los tratamientos según su magnitud.

Tratamientos:	A	B
Medias:	0,95 ^a	0,86 ^b

*Letras diferentes demuestran estadísticas significativas

3.2.9. Comparación entre las medias de los tratamientos

Tratamientos	Calculado	Duncan 5%	Duncan 1%
A-B	0,09*	0,07	0,09

3.2.10. Verificación de la hipótesis

Tratamientos:	A	B	Diferencia
Medias:	0,95 ^a	0,86 ^b	Valor 0,09

*Letras diferentes demuestran estadísticas significativas



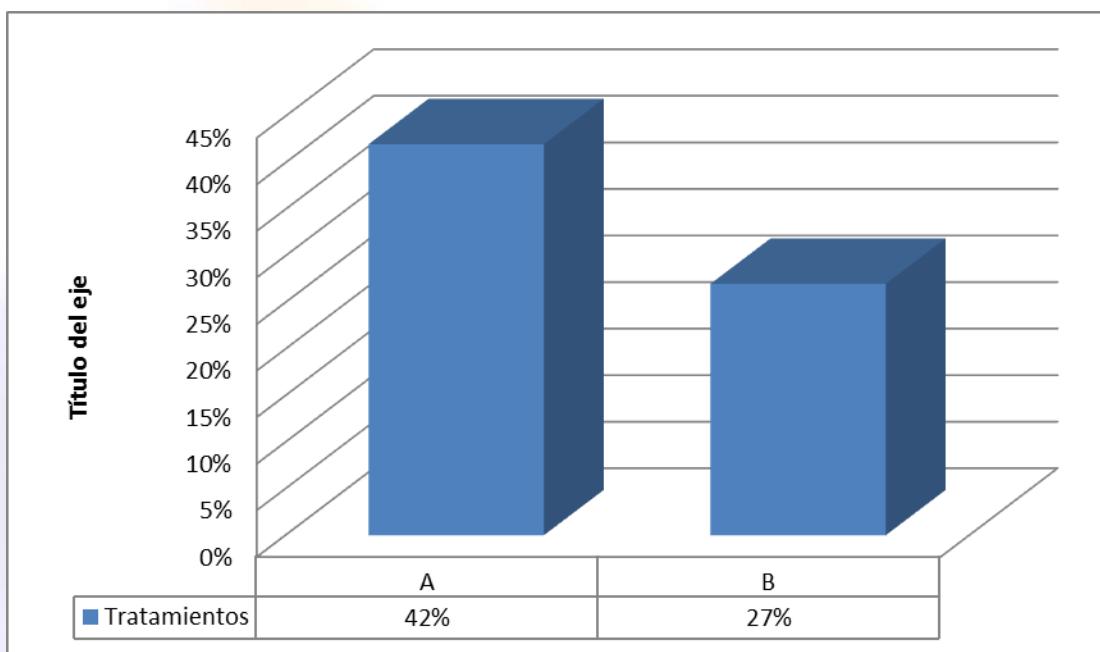
UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

La prueba de Duncan al 5% para actividad ovulatoria que ocurre en ambos ovarios, establece diferencias significativas entre los tratamientos, por lo tanto la adición de la hormona eCG sí tuvo influencia sobre este fenómeno fisiológico; demostrando en el análisis dos rangos **a** (Tratamiento A 0,95) y **b** (Tratamiento B 0,86).

El CV obtenido es del 14,35%, lo que nos da la confiabilidad de los datos

Figura 6. Ovulación indiferenciada de las vacas de tratamientos.



El ADEVA para la ovulación indiferenciada de los 2 tratamientos, presenta diferencias estadísticas significativas. Las diferencias que se observan en el gráfico son reales.



Cuadro 13. Ovulación indiferenciada de ovarios de vacas, para un DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones con datos originales, para la estimación del efecto de la eCG en ambos ovarios.

Repet	TRATAMIENTOS		Ovulación por vaca	
	A	B	A	B
1	0,50	0,00	1	0
2	0,50	0,00	1	0
3	0,50	0,00	1	0
4	0,50	0,00	1	0
5	0,00	0,50	0	1
6	0,50	0,50	1	1
7	0,50	0,00	1	0
8	0,00	0,50	0	1
9	0,00	0,00	0	0
10	0,50	0,00	1	0
11	0,50	0,50	1	1
12	0,50	0,50	1	1
13	0,50	0,50	1	1
14	0,00	0,50	0	1
15	0,50	0,50	1	1
16	0,50	0,50	1	1



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

17	0,50	0,00	1	0
18	0,50	0,50	1	1
19	0,50	0,00	1	0
20	0,50	0,50	1	1
21	0,50	0,00	1	0
22	0,50	0,50	1	1
23	0,50	0,00	1	0
24	0,50	0,00	1	0
25	0,50	0,00	1	0
26	0,50	0,50	1	1
27	0,50	0,00	1	0
28	0,50	0,50	1	1
29	0,00	0,50	0	1
30	0,50	0,50	1	1
—	0,42	0,27	25	16

Trat A = con eCG

Trat B = sin eCG

**Cuadro 14. Efecto de la eCG en los tratamientos.**

TRATAMIENTOS	A	B
Rendimiento de tratamientos:	0,42	0,27
Diferencia:	0,15	
	0,15/0,27	
Efecto de la hormona eCG %:	0,555	
%	55,5%	

Al realizar la estimación no diferenciada que ocurre en la realidad se obtuvo el 55.5% de efecto de la hormona eCG en la ovulación.

CAPÍTULO IV

4. DISCUSIÓN

4.1. Diámetro Folicular

De acuerdo a los datos obtenidos en el ADEVA para el diámetro del folículo derecho e izquierdo de los tratamientos, F calculada es menor a F tabulada al 5 y 1%, por lo tanto la adición de eCG al protocolo base E2+P4 y PGF2 α , no mejoró el diámetro folicular derecho e izquierdo, en comparación con el diámetro derecho e izquierdo de las vacas del tratamiento B que no recibió eCG adicional. Esto nos indica que existe suficiente evidencia para rechazar la hipótesis asumida de que el diámetro folicular mejoraría en el 20%. Esto concuerda con lo que afirma BO; CUTAIA y BARUSELLI. “La eCG no aumentó el diámetro del folículo ovulatorio, según se reportó en determinados experimentos realizados en bovinos para carne. Sin embargo, otro experimento que se realizó recientemente en Brasil reveló que los tratamientos con eCG producen niveles superiores de progesterona sérica en la fase luteal siguiente, lo que sugiere que eCG estimula el desarrollo de un CL más competente. Esto, a su vez, puede producir un incremento en la tasa de preñez, según mostramos en el caso de los bovinos para carne”. Caso igual ocurrió con el diámetro folicular indiferenciado en los tratamientos A y B.

4.2. Ovulación

El efecto de la adición de eCG al protocolo E2+P4 y PGF2 α , si bien no mejoró el diámetro folicular como se planteó, sin embargo sobrepasó la expectativa supuesta en la hipótesis (incremento del 20%) para la ovulación en un 35.5% (con datos originales), en vacas Holstein pos-parto tratadas con eCG, manejadas en optimas condiciones nutricionales y de salud dentro del experimento.



Del análisis de los datos del experimento también se desprende que el incremento del diámetro folicular y la ovulación constituyen dos hechos fisiológicos que no están asociados, por lo cual la ovulación puede darse independientemente en folículos de mayor o menor diámetro.

Esto concuerda con lo que nos afirma FERNÁNDEZ Daniel; VILLEGAS Nelson. “En ganado Holando en producción, el uso de eCG, incrementó en 25 puntos los porcentajes de preñez con respecto a las vacas tratadas con Benzoato de Estradiol. En parte esto último es debido a la inducción de la ovulación por la eCG, lo que permite inseminar vacas que no han manifestado síntomas de celo, obteniendo buenos índices de concepción”.

También coincide con lo que manifiestan PEREA Fernando y SOTO Eleazar: “La Gonadotropina Coriónica equina aplicada en un protocolo con dispositivo intravaginal de progesterona permitió detectar la ovulación en hembras durante los primeros 10 días de culminados los tratamientos. El 78.9% de las vacas tratadas con eCG ovularon frente al 29% de vacas que ovularon del grupo control sin eCG”.

La ovulación ocurrió indistintamente en los dos ovarios, siendo el derecho en un porcentaje mayor. Esto coincide con lo que manifiestan HAFEZ. E, e HINCAPIE. J: “Normalmente, en la vaca sólo un folículo ovula cada ciclo estrual. Alrededor del 10% de las veces ovulan dos folículos y es raro que ovulen tres. La ovulación ocurre en el ovario derecho alrededor del 60% de las veces; el 40% restante ocurre en el izquierdo”.



CONCLUSIONES

En relación a los resultados expuestos en la presente investigación se concluye lo siguiente:

- La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de progesterona mejoró en un 55.5% la ovulación de un folículo dominante
- La gonadotrofina coriónica equina aplicada al retirar el dispositivo de liberación de progesterona en los protocolos de sincronización no mejoró el diámetro folicular

RECOMENDACIONES

- Utilizar la gonadotrofina coriónica equina en los protocolos de sincronización para mejorar la ovulación y la fertilidad en vacas Holstein posparto.
- Transferir los resultados obtenidos en la presente investigación a los ganaderos de la región, con el fin de incrementar los porcentajes de concepción en vacas Holstein.
- Continuar las investigaciones en la combinación de hormonas utilizadas en los protocolos de sincronización, con la finalidad de mejorar la eficiencia reproductiva en los hatos ganaderos.



RESUMEN

TÍTULO: “EFECTO DE LA GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN LA OVULACIÓN CON PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS HOLSTEIN POSPARTO”

Las principales limitaciones para la aplicación de la inseminación artificial en ganado de carne y leche en condiciones de pastoreo, son fallas en la detección de celos, anestro posparto y pubertad tardía. El objetivo de ésta investigación fue comparar el efecto de la gonadotropina coriónica equina en el desarrollo folicular y la ovulación en el protocolo de sincronización E2+P4 y PGF2 α en vacas Holstein posparto. Se utilizaron 60 vacas Holstein, con una condición corporal entre 2.5 y 3.5, edad entre 3 y 6 años, con un periodo posparto entre 45 a 120 días y con un promedio entre 2 y 4 partos, distribuidos en dos grupos de 30 animales. Tratamiento A (n=30). El día 0 se aplicó 2mg de BE más la inserción del dispositivo CIDR. El día 7 se procedió al retiro del dispositivo y la aplicación de 25 mg de Dinoprost más 400 UI de eCG. El día 8 se aplicó 1mg de BE. Tratamiento B (n=30). El mismo protocolo con la variación en el día 7 que no se aplicó eCG. Las variables analizadas fueron: diámetro del folículo dominante y la presencia del cuerpo lúteo. El diámetro folicular fue similar en los tratamientos A y B. La ovulación mejoró en un 55.5% en el tratamiento A con la adición de eCG, en relación al tratamiento B sin la adición de eCG al protocolo base. En conclusión la aplicación de eCG en la remoción del dispositivo intravaginal de progesterona no mejoró el diámetro del folículo dominante pero si la ovulación en vacas Holstein posparto.

Palabras Claves: Gonadotropina Coriónica Equina, Benzoato de Estradiol, Progesterona, Prostaglandina F2 α , Folículo, Cuerpo lúteo.

ABSTRACT

TITLE: "THE EFFECT OF EQUINE CHORIONIC GONADOTROPHIN (eCG) ON OVULATION WITH IATF PROTOCOLS ON POSTPARTUM HOLSTEIN COWS"

The main limitations to apply artificial insemination in beef and dairy cattle under grazing conditions are faults in detecting estrus, postpartum anestrus and delayed puberty. The purpose of this study was to compare the effects of equine chorionic gonadotrophin on follicular development and ovulation in the synchronization protocol E2+P4 and PGF2 α in postpartum Holstein cows. We used 60 Holstein cows with BCS of 2.5 to 3.5, aged 3 to 6, with a postpartum period between 45 to 120 days and an average of 2 to 4 births, distributed in two groups of 30 animals. Treatment A (n = 30). On day 0, we applied 2 mg of Estradiol Benzoate plus the insertion of the CIDR device. On day 7 we proceeded to remove the device and apply 25 mg of Dinoprost plus the application of 400 IU of eCG. On day 8 we applied 1mg of Estradiol Benzoate. Treatment B (n=30). The same protocol with the variation on day 7 on which eCG was not applied. The analyzed variables were: diameter of the dominant follicle and the presence of the luteum corpus. The follicular diameter was similar in treatments A and B. Ovulation improved 55.5% in treatment A with the addition of eCG, in relation to treatment B without the addition of eCG to the basic protocol. In conclusion, the application of eCG in the removal of the intravaginal device of progesterone did not improve the diameter of the dominant follicle, but it did improve ovulation in postpartum Holstein cows.

Key words: Equine chorionic gonadotropin, Estradiol benzoate, progesterone, Prostaglandin F2 α , Follicle, luteum corpus



BIBLIOGRAFÍA

1. **BÓ, G; CUTAIA, L; SOUZA, A; BARUSELLI, E.** Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. [En línea] 2009. [Citado el: 01 de 05 de 2012.]
http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/145-IATF.pdf..
2. **KAWASHIMA, C; MOTOZUMI, M; SHIMIZU, T; KIDA, K; MIYAMOTO, A.** Nutritional Factors That Regulate Ovulation of the Dominant Follicle During the First Follicular Wave Postpartum in High-producing Dairy Cows. [En línea] 12 de 12 de 2011. [Citado el: 03 de 05 de 2012.]
http://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/58/1/58_10/_article).
3. **HAFEZ, E.S.E.** *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. Septima Edición. Mexico : McGRAW-HILL INTERAMERICANA, 2002. pág. 417. ISBN 970-10-3719-7.
4. **BOTANA, L.** *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Primera Edición. España : McGRAW-HILL INTERAMERICA DE ESPAÑA, S.A U, 2002. pág. 424. ISBN: 84-486-0471-7.
5. **LAMB, G; DAHLEN, C.** Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle. [En línea] 25 de 09 de 2009. [Citado el: 13 de 05 de 2012.] http://jas.fass.org/content/88/13_electronic_suppl/E181.abstract.
6. **PALMA, G.** *Biología de la Reproducción*. Segunda Edición. Argentina : Reprobiotec, 2008. ISBN -13 Nº 978-987-05-3271-2.
7. **ARTHUR, G.** *Reproducción y Obstetricia en Veterinaria*. USA : Elsevier, 2001. ISBN: 978 0 7020 2556 3.
8. **SUMANO, H.** *Farmacología Veterinaria*. Tercera Edición. Mexico : McGRAW-HILL INTERAMERICANA, 2006. ISBN970-105696-5.
9. **PLUMB, D.** *Manual de Farmacología Veterinaria*. Buenos Aires : Inter-Médica, 2010. ISBN 978-950-555-371-6.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

10. **MOYES, C.** *Principios de Fisiología Animal*. Madrid : Pearson Educación S.A., 2007. ISBN10:84-7829-082-6.

11. **PERALTA, J; AKÉ, J; CENTURIÓN, F; MAGAÑA, J.** Comparación del Cipionato de estradiol vs. Benzoato de estradiol sobre la respuesta a estro y tasa de gestación en protocolos de sincronización con CIDR en novillas y vacas Bos indicus. [En línea] Universidad Juárez Autonoma de Tabasco, agosto de 2010. [Citado el: 30 de 05 de 2012.] www.ujat.mx/publicaciones/uciencia.

12. **HINCAPIÉ, J.** *Reproducción Animal Aplicada: Fundamentos de Fisiología y Biotecnología*. Segunda Edición. Honduras : Litocom Editores, 2005. ISBN 99926-29-26-6.

13. **DOMÍNGUEZ, C; TEJERO, J.** Inducción y sincronización del celo en novillas. [En línea] 2008. [Citado el: 18 de 05 de 2012.] <http://62.174.80.130/articulos/n168/A16806.pdf>.

14. **MASSIMILIANO, E.** *Manual de Reproducción en ganado vacuno*. Primera Edición. España : Servet editorial, 2009. ISBN 978-84-934736-0-0.

15. **CUNNINGHAM, J.** *Fisiología Veterinaria*. Madrid : Elsevier España.S.A., 2005. ISBN: 84-8174-659-2.

16. **DE LOS REYES, M.** *I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal*. Viña del Mar : Gráfica Lom Ltda., 2011. ISBN: 978-956-345-709-4.

17. **BO, G.** Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. [En línea] Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC),, 2002. [Citado el: 22 de 05 de 2011.] www.sintexar.com.

18. **MARTÍNEZ, C.** Efecto de la aplicación de eCG al momento del retiro del implante intravaginal DIV-B® sobre los porcentajes de inducción de celo y. [En línea] Diciembre de 2010. [Citado el: 30 de 05 de 2011.] http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2010/T3036.pdf.

19. **ESPINAL, A.** Efecto de los dispositivos intravaginales DIV-B® nuevos o usados y retirados el día 8 ó 9 sobre los porcentajes de sincronización de celo y preñez en vacas cebuinas. [En línea] Diciembre de 2009. [Citado el: 01 de 06 de 2011.] <http://zamo-oti-02.zamorano.edu/asp/getFicha.asp?glx=89608.glx&recnum=7&skin=&maxrecnum>



20. **TERCERO, A.** Efecto de la aplicación de eCG en el día ocho del tratamiento con dispositivos intravaginales DIV-B® sobre el porcentaje de preñez en vacas de aptitud lechera con baja condición corporal. [En línea] Diciembre de 2009. [Citado el: 03 de 06 de 2011.] http://zamo-ot-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2009/T2878.pdf.
21. **PEREA, F; SOTO, E; RAMÍREZ, L; GONZÁLEZ, R.** Tratamiento del anestro postparto con progesterona intravaginal mas eCG en vacas mestizas tropicales. [En línea] 2003. [Citado el: 05 de 06 de 2012.] <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27916/2/articulo6.pdf>.
22. **FERNÁNDEZ, D; VILLEGAS, N.** Efecto de la administración de eCG o benzoato de estradiol asociados a PGF2 α sobre la fertilidad de vacas hereford de baja condicion corporal destetadas precozmente. [En línea] 2002. [Citado el: 07 de 06 de 2012.] <http://www.fagro.edu.uy/~agrociencia/VOL6/2/p33-36.pdf>. ISSN 15100839.
23. **ROSTAMI, B; NIASARI, A.** Effect of eCG on early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows. [En línea] 22 de 09 de 2011. [Citado el: 11 de 06 de 2012.] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432011002417>.
24. **MURUGAVEL, K, ANTOINE, D; RAJU, M.** The effect of addition of equine chorionic gonadotropin to a progesterone-based estrous synchronization protocol in buffaloes (*Bubalus bubalis*) under tropical conditions. [En línea] 09 de 04 de 2009. [Citado el: 13 de 06 de 2012.] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X08008029>.
25. **MOTTA, P.** Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. [En línea] 25 de 08 de 2011. [Citado el: 13 de 06 de 2012.] http://200.21.104.25/vetzootec/downloads/MVZ5%282%29_8.pdf.
26. **VILLAVICENCIO, J.** Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos. [En línea] 05 de 01 de 2007. [Citado el: 15 de 06 de 2012.] http://www.interciencia.org/v32_02/93.pdf.
27. **FRICKE, P.** Manipulación de la función ovárica. [En línea] 2011. [Citado el: 16 de 06 de 2012.]



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du_605.es_.pdf.

28. **ROBALINO, J.** Evaluación de la solución salina de ringer como medio de colecta para embriones de Bos Taurus y sincronización estral en potenciales receptoras. [En línea] 11 de 2004. [Citado el: 16 de 06 de 2012.]
<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/590/1/75886.pdf>.

29. **HENAO, G.** Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular Bovina. [En línea] 2000. [Citado el: 20 de 06 de 2012.]
<http://www.agro.unalmed.edu.co/departamentos/panimal/docs/establecimiento.pdf>.

30. **FERNÁNDEZ, M.** *El ciclo estral de la vaca Diagnóstico fotográfico*. Zaragoza : Servet, 2008. ISBN: 978-84-935971-2-2.

31. **CALLEJAS, S.** Control Farmacológico del ciclo estral bovino: Bases fisiológicas protocolos y resultados. [En línea] 2004. [Citado el: 20 de 06 de 2012.]
http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/65-control_farmacologico_ciclo.pdf.

32. **MONTAÑO, E.** ¿Por qué no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano? [En línea] 16 de 05 de 2005. [Citado el: 21 de 06 de 2012.]
<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/190/187>.

33. **FERNÁNDEZ, Á.** Dinámica Folicular: Funcionamiento y Regulación. [En línea] 2003. [Citado el: 21 de 06 de 2012.]
http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/23-ondas_foliculares.htm.

34. **BUSH, W; WABERSKI, D.** *Manual de Inseminación artificial de los animales domésticos y de explotación zootécnica*. Zaragoza : Acribia, S.A., 2007. ISBN: 978-84-200-1150-9.

35. **DUICA, A.** Efecto del diámetro del folículo ovulatorio, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona sobre la tasa de preñez en la hembra receptora de embriones bovinos. [En línea] 2010. [Citado el: 25 de 06 de 2012.]
<http://www.bdigital.unal.edu.co/3775/1/780174.2010.pdf>.

**ANEXOS****Anexo 1. Costo total de la Investigación.**

Materiales y equipos	Unidad de medida	Cantidad	Valor Unitario	Total
1. Costos directos				
Gonadotropina (eCG)	Fsco (1000 UI)	15	12	180
Dispositivos intravaginales (P4)	Dosis	60	12	720
PGF2α	Dosis	60	5	300
Benzoato de estradiol	Dosis	120	1,5	180
Pajuela de inseminación	Unidad	60	20	1200
Subtotal				2580
2. Costos indirectos				
Hojas de impresión	Paquete	2	5	10
Tinta de impresión	Fscos	4	8	32
Cuaderno	Unidad	1	3	3
Empastado		4	8	32
Nitrógeno líquido	Kg	20	4,5	90
Transporte y alimentación				100
Subtotal				267



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

3. Mano de obra				
Asesor técnico	Asesor	1	200	200
Subtotal				200
Total				3047
Imprevistos 10%				304,7
GRAN TOTAL USDA				3351,7

Anexo 2. Resumen de los costos de la investigación.

Costos directos	2.580,00
Costos indirectos	267,00
Mano de obra	200,00
Total de costos y gastos	3.047,00
Imprevistos de 10%	304,70
Gran Total USDA	3.351,70

**Anexo 3. Cálculos Estadísticos**

Frecuencia de ovulación en ovario derecho, para un DCA con 2 tratamientos y 30 repeticiones, con datos transformados a $\sqrt{(x + 0,5)}$

Repet.	TRATAMIENTOS		Σ Trat
	A	B	
I	0,71	1,22	1,93
II	1,22	0,71	1,93
III	1,22	0,71	1,93
IV	1,22	0,71	1,93
V	0,71	0,71	1,41
VI	1,22	0,71	1,93
VII	1,22	0,71	1,93
VIII	0,71	0,71	1,41
IX	0,71	0,71	1,41
X	1,22	0,71	1,93
XI	1,22	0,71	1,93
XII	1,22	0,71	1,93
XIII	0,71	1,22	1,93
XIV	0,71	0,71	1,41
XV	1,22	0,71	1,93
XVI	1,22	0,71	1,93
XVII	0,71	1,22	1,93
XVIII	0,71	1,22	1,93
XIX	1,22	0,71	1,93
XX	1,22	0,71	1,93
XXI	1,22	0,71	1,93
XXII	0,71	1,22	1,93
XXIII	1,22	0,71	1,93
XXIV	1,22	0,71	1,93
XXV	1,22	0,71	1,93
XXVI	0,71	1,22	1,93
XXVII	1,22	0,71	1,93
XXVIII	1,22	0,71	1,93
XXIX	0,71	0,71	1,41
XXX	0,71	1,22	1,93
Σ Trat	30,53	24,84	55,37
\bar{x}	1,02	0,83	0,93



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Fórmulas para el cálculo del ADEV

$FC = \frac{(\sum x_{ij})^2}{r*t}$	= 51,10
$SC \text{ tot} = \sum x_{i2j} - FC$	= 3,90
$SC \text{ trat} = \frac{\sum x_{ij}^2 - FC}{r}$	= 0,54
$SC \text{ Error exp} = SC \text{ tot} - SC \text{ trat}$	= 3,36

ADEVA para ovulación derecha en vacas de tratamientos.

F de V	gl.	SC	CM	F Cal.	F. Tabular	
					0,05 0,01	
Total	59	3,90				
Tratamientos	1	0,54	0,540	9,31 **	4,01	7,09
E.Experimental	58	3,36	0,058			

Fórmula para obtener el coeficiente de variación.

$$CV = \frac{\sqrt{CME, Exp}}{x} \times 100$$

$$CV = 25,89\%$$

**Prueba de significación de Duncan al 5 y 1%.**

$$D = Q \&(2; 3; 4; 5; p; fe)S0$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{CME_{xp}}{r}} = 0,044$$

D = Q 0,05(2; 2)	0,044
Valor Duncan 5%	2,83
D = Q 0,01(2; 2)	
Valor Duncan 1%	3,83

Ordenamiento de las medias de los tratamientos según su magnitud.

Tratamientos:	A	B
Medias:	1,02	0,83

Comparación entre las medias de los tratamientos.

Tratamientos	Calculado	Duncan 5%	Duncan 1%
A-B	0,19 **	0,12	0,17

**Anexo 4. Registros de Observación.****REGISTROS DE OBSERVACIÓN**

1. DATOS GENERALES		
Lugar	Fecha	Hora
Vaca Nº.	Nombre	
Edad: Años	Meses	
Condición corporal:	Nº partos	Fecha último parto
Observaciones:		
2. ESTADO DEL APARATO REPRODUCTIVO AL MOMENTO DE REALIZAR EL TRATAMIENTO		
VAGINA	CERVIX	UTERO
OVARIOS		
	OVARIO DERECHO	OVARIO IZQUIERDO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESTRUCTURAS:
FOLÍCULOS Y
CUERPOS LÚTEOS.

3.-ESTADO DEL APARATO REPRODUCTIVO AL DIA 9

Lugar		fecha	hora
		SIN ECG	CON ECG
		OVARIOS	OVARIOS
DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
DIAMETRO FOLICULAR -----mm	DIAMETRO FOLICULAR -----mm	DIAMETRO FOLICULAR -----mm	DIAMETRO FOLICULAR -----mm
OBSERVACIONES:			
4.-ESTADO DEL APARATO REPRODUCTIVO AL DIA 7 POSINSEMINACION			



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Lugar		fecha	hora
SIN ECG		CON ECG	
OVARIOS		OVARIOS	
DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
PRESENCIA DE CUERPO LUTEO			
SI..... NO.....	SI..... NO.....	SI.....NO.....	SI..... NO.....
DIAM----- mm	DIAM----- mm	DIAM----- mm	DIAM----- mm
OBSERVACIONES:			
Realizado por:	Revisado por:	Aprobado por:	



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Anexo 5. Ecografías del diámetro folicular y presencia de Cuerpo lúteo con eCG.

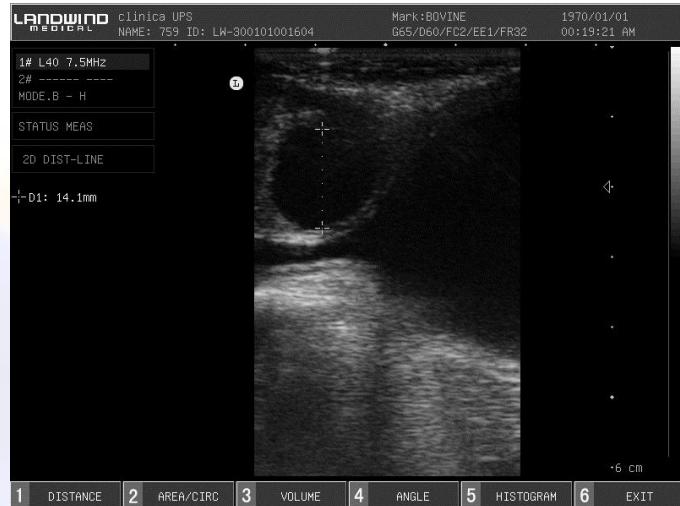




UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Anexo 6. Ecografías del diámetro folicular y presencia de Cuerpo lúteo sin eCG.



**Anexo 7. Cuadro de datos de la investigación.**

VACA Nº	Con eCG								
	EDAD		C.C	Nº PARTOS	DÍAS- POST	D.F		C.L	
	AÑO	MES				D	I	D	I
622	6		3	4	45		16		SI
704	4	2	3	3	50	NR			
657	6		2,75	3	45	17		SI	
753	3	7	3	2	45	18,3	13,2	SI	
688	5		3	3	55		13,1		SI
651	6		2,75	3	60	16,4	7,7	SI	
762	3	8	2,75	2	50	8,4	5,4	NR	
660	5		3	3	45	10,3		SI	
1606	4	3	3	2	60	25		SI	
682	5	1	3	3	50	8,8		SI	
752	3	7	3	2	50	11,3	5,3	SI	
750	3	8	3	2	50	11,8		SI	
714	4	2	3	2	60		13		SI
686	5		2,75	3	70	16,3	9,8	SI	
679	5	2	3	3	60	7	11,8		SI
721	4	4	2,75	2	120	10,2	10,8		SI
733	4	2	2,75	2	60	12,8	5	SI	
1599	4	2	2,75	2	110	16		NO	
760	3	4	2,75	2	70	13		SI	
535	6		2,75	4	65	14,1		SI	
770	3	8	2,75	2	65		12,5		SI
757	3	7	2,75	2	70	18,8		SI	
650	6		2,75	3	60	11,7	10,8	SI	
764	3	9	3	2	70		13,2		SI
1623	3	11	2,5	2	90	13	8,5	SI	
1620	3	10	2,5	2	90	12,8		SI	
615	6		3	4	45	NR			
775	3	5	3	2	45	15		SI	
17	6		3	4	45	12,4		SI	
431	6		2,75	4	55	F.Q			

NR= NO RESPONDE

FQ=FOLÍCULO QUÍSTICO



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

VACA Nº	EDAD		C.C	Nº PARTOS	DÍAS- POST	Sin eCG		eCG	
	AÑO	MES				D	I	D	I
756	3	4	2,75	2	45	14,1		NO	
758	3	10	2,75	2	45	7,5		NO	
1596	5	2	3	3	50	21,1	5,8	NO	NO
759	3	6	2,5	2	60	11,1	14,1		SI
751	4	1	3	2	60	13,7		SI	
761	3	10	2,75	2	50	7,6	12,9		SI
1555	6		2,5	4	55	15,4	5,7	SI	
547	6		2,5	4	110	6,7	4,2	NO	NO
1603	6	1	3	2	120	15	6	SI	
1512	6		3	4	120	10	13,8		SI
778	3	8	3	2	100	8,8	12,2		SI
1617	3	9	2,75	2	110	8,6	10,1		SI
1553	6		3	4	50	NR			
1595	5		3	3	55		17,2		SI
608	6		2,75	4	60		17		SI
624	6		2,75	4	60		12,6		SI
583	6		3	4	45	NR			
4	5		2,75	3	70	14,1		NO	
643	5		3	3	65	NR			
1592	5		3	3	80	NR			
1621	3	5	2,75	2	80	NR			
772	3	10	3	2	70	16,1		SI	
1542	6		3	4	75		26,5		NO
773	3	9	3	2	45	NR			
678	5		2,5	4	45	18,6		SI	
1490	6		3	4	45	15		SI	
727	4		2,5	2	52	NR			
731	4	1	2,5	2	60		8,5		NO
701	5		2,75	3	60	14,5		SI	
1550	6		3	4	65	11,5		SI	

NR=NO RESPONDE



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Anexo 8. Fotografías

Foto 1. Identificación del lugar de la investigación.



Foto 2. Equipo de ultrasonografía





UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Foto 3. Examen ginecológico con ultrasonografía

