

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**Aplicación de la GnRH post-inseminación con semen sexado  
sobre la preñez de vacas Holstein de crianza intensiva**

Tesis para optar el título profesional de:

**Médico Veterinario**

Presentado por:

**Bach. Cesar Guzman Santaria**

Asesor:

**Mg. Alfredo Pozo Curo**

**Ayacucho - Perú**

**2024**

*Gracias a Dios por permitirme alcanzar este momento tan especial en mi vida. Por los que me enseñaron a valorar más los triunfos y las adversidades de cada día.*

*A mis padres, por haber apoyado moral y económicamente, quienes me brindaron su confianza, sacrificio y porque eso fue lo que me hizo lograr, porque sin su invaluable apoyo, no podría lograr mis metas. Por acompañarme en mi camino estudiantil y de vida, custodiarme en este arduo camino para convertirme en profesional.*

*A mis hermanos, quienes siempre estuvieron en las buenas y en las malas, por ofrecerme su apoyo sin condiciones.*

*A mi abuela Gertrudis, quien desde el cielo ilumina mi camino.*

*Asimismo, dedico esta investigación a todos aquellos que me apoyaron, confiaron en mí sin condiciones, me brindaron amistad y compartieron conocimientos.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias Agrarias, a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, por abrirme las puertas y brindarme todas las instalaciones y ambientes para poder adquirir los conocimientos adecuados en mi formación profesional.

A mis profesores de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, quienes me han impartido sus conocimientos y experiencia en mi vida estudiantil y me han ayudado de alguna manera a hacer posible mi tesis.

Al Establo Sociedad Ganadera “El Sequion S.A.”, por haber permitido la ejecución de mi tesis en sus instalaciones y permitiéndome la utilización de los animales en producción y materiales.

A mi asesor Mg. Alfredo Pozo Curo por su disposición, apoyo, tiempo; por brindarme conocimientos en la elaboración y ejecución del proyecto.

A mi co-asesor Dr. Wilfredo Huanca López gracias por toda la colaboración ofrecida en la preparación y ejecución de este proyecto, y la gran humanidad que me mostró a través de su amistad.

Y en último lugar agradecer a la M.V. Katty Bayona y al Téc. Juan Luis Sandoval por brindarme todas las informaciones necesarias del Establo Sociedad Ganadera “El Sequión S.A.” y así mismo por los conocimientos compartidos y una gran amistad.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice general.....	iv
Índice de tablas .....	vii
Índice de anexos.....	viii
Resumen.....	1
Introducción .....	2
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
1.1. Antecedentes .....	5
1.2. Bases teóricas .....	6
1.2.1. Índices de eficiencia reproductiva del ganado lechero.....	6
1.2.2. Edad al primer servicio (EPS) .....	9
1.2.3. Edad al primer parto (EPP).....	10
1.2.4. Intervalo parto - primer servicio (IPPS) .....	11
1.2.5. Intervalo parto - concepción (IPC) o días abiertos .....	12
1.2.6. Intervalo entre partos (IEP) .....	13
1.2.7. Número de servicios por concepción (NSC).....	15
1.2.8. Tasa de concepción al primer servicio (TCPS) y global (TCG).....	16
1.2.9. Endocrinología de la reproducción.....	17
1.3. Marco conceptual .....	18
1.3.1. Hipotálamo .....	18
1.3.2. Hipófisis .....	18
1.3.3. Ovarios .....	18
1.3.4. Hormonas que participan en el ciclo estral.....	19
1.3.5. Estrógenos (17 $\beta$ estradiol).....	20
1.3.6. Inhibina.....	20
1.3.7. Prostaglandina (PG).....	21
1.3.8. Oxitocina .....	21
1.3.9. Progesterona (P4) .....	21
1.3.10. Progesterona en el control ciclo estral del bovino.....	22

1.3.11. Fases del ciclo estral bovino.....	22
1.3.12. Dinámica folicular .....	24
1.3.13. Inseminación artificial (IA) en bovinos.....	27
1.3.14. Ecografía reproductiva .....	29
1.3.15. Semen sexado .....	31
1.3.16. Determinación de niveles de progesterona (DIAsource PROG-RIA-CT Kit) .....	36

## **CAPÍTULO II**

<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>37</b>
2.1. Ubicación.....	37
2.2. Materiales y equipos.....	37
2.2.1. Materiales .....	37
2.2.2. Equipos .....	38
2.3. Problemas .....	38
2.3.1. Problema general .....	38
2.3.2. Problemas específicos.....	38
2.4. Método procedimental.....	38
2.5. Análisis estadístico .....	40

## **CAPÍTULO III**

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
3.1. Efecto de la aplicación de la GnRH al día 5 o 7 post inseminación sobre la tasa de preñez en vacas holstein de crianza intensiva .....	41
3.2. Efecto de la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas holstein de crianza intensiva .....	43
3.3. Efecto de aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas holstein de crianza intensiva.....	45
3.4. Niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación.....	47

<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>51</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1.1. Hormonas que participan en el ciclo estral .....	19
Tabla 1.2. Tasa de preñez de vaquillas y vacas inseminadas con semen seleccionado “X” .....	33
Tabla 3.1. Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein de crianza intensiva .....	41
Tabla 3.2. Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de parto .....	43
Tabla 3.3. Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de servicio .....	45
Tabla 3.4. Niveles de progesterona sérica total al día 10 y 21 en vacas holstein de crianza intensiva, tratadas con GnRH (acetato de buserelina) a los 5 ó 7 días post-inseminación con semen sexado .....	47
Tabla 3.5. Niveles de progesterona (ng/ml) al día 10 y 21 en vacas holstein de crianza intensiva vacías y preñadas tras la aplicación de GnRH (acetato de buserelina) a los 5 o 7 días post-inseminación con semen sexado ....	49

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo 1. Ficha de datos del grupo control (T1).....	61
Anexo 2. Ficha de datos tratamiento T2 (Aplicación de GnRH día 5 post-inseminación).....	62
Anexo 3. Ficha de datos tratamiento T3 (Aplicación de GnRH día 7 post-inseminación).....	63
Anexo 4. Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado en vacas holstein de crianza intensiva.....	64
Anexo 5. Porcentaje de preñez con la aplicación de GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post- inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de parto.....	65
Anexo 6. Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de servicio.....	66
Anexo 7. Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos total de progesterona al día 10 y día 21 en vacas vacías según tratamientos con acetato de buserelina.....	67
Anexo 8. Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos de progesterona al día 10 y día 21 en vacas preñadas según los tratamientos con acetato de buserelina.....	68
Anexo 9. Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos de progesterona al día 10 y día 21 en vacas vacías según los tratamientos con acetato de buserelina.....	69
Anexo 10. Panel fotográfico.....	70



## RESUMEN

La investigación tuvo como objetivos determinar la tasa de preñez y la progesterona sérica (P4) en vacas Holstein de crianza intensiva tratadas con acetato de buserelina (AB) a los 5 o 7 días post-inseminación artificial. El trabajo se realizó en la Sociedad Ganadera “El Sequión S. A.” Lurín – Lima, entre setiembre a diciembre del 2016. Se utilizaron 163 vacas menor o igual a tres servicios, distribuidas aleatoriamente en tres grupos T1 (control, sin AB) = 55, T2 (AB, día 5) = 53, y T3 (AB, día 7) = 55 vacas. Las vacas fueron inseminadas con semen sexado importado y a celo natural detectados por podómetros. El diagnóstico de preñez se realizó mediante ecografía a los 35 días. La P4 se determinó con el kit DIASource PROG-RIA-CT al día 10 y 21 post-inseminación. Se usaron las pruebas estadísticas de chi cuadrado y Kruskal-Wallis para determinar la preñez y los niveles de P4, respectivamente, mediante el programa SAS<sup>®</sup>. La tasa de preñez tras la aplicación de AB post inseminación artificial se ve mejorada significativamente ( $p < 0.05$ ), en especial con T2 (30.2%) comparados al T3 (16.4%) y T1 (7.3%), así mismo entre T3 versus T1. De igual manera, la tasa de preñez en T2 fue diferente ( $p < 0.05$ ) a T1 y T3, así mismo, entre T3 versus T1 en vacas de primer, segundo y más de tres partos. La P4 total para T1, T2 y T3 al día 10 con 7.2, 12.0, 10.7 ng/ml, así como para el día 21 con 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml post-inseminación, no difieren entre sí ( $p < 0.05$ ). La P4 en vacas preñadas en T1, T2 y T3 al día 10 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) como al día 21 post-inseminación (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) no difieren entre sí ( $p < 0.05$ ). Concluyendo que la aplicación de GnRH al día 5 o 7 post inseminación mejora significativamente la tasa de preñez, sin embargo, no podemos asegurar que la aplicación de la GnRH provoque un mayor aumento del nivel de progesterona plasmática al día 10 y día 21 post-inseminación artificial.

**Palabras clave:** GnRH, progesterona, preñez, bovino, semen sexado.

## INTRODUCCIÓN

La producción de bovinos de raza lechera, es una actividad agropecuaria que depende de la eficiencia reproductiva de las matrices. Las vacas de la raza Holstein en sistemas intensivos, deben proveer de un becerro al año al centro de producción y presentar una lactación de 305 días. De la productividad de las matrices depende el retorno económico del productor, y la productividad de las matrices depende del manejo al cual son expuestas, debido a que los factores ambientales actúan directamente sobre la respuesta productiva y reproductiva (López, 2002).

Con el objetivo de mejorar la respuesta reproductiva de las matrices y garantizar una gestación y un parto al año, se han implementado diferentes estrategias que actúan sobre la fisiología reproductiva de las vacas. Estrategias nutricionales, técnicas de evaluación ginecológica y tratamientos hormonales, han permitido que el manejo reproductivo en los establos sea más eficiente, permitiendo el incremento de la fecundidad en los centros de producción (López, 2002).

Los tratamientos hormonales, para la inducción del estro y la sincronización de la ovulación, estimulan el crecimiento del folículo ovulatorio y garantizan la ovulación del mismo, incrementando de esta forma las posibilidades de preñez. Los protocolos hormonales han permitido el desarrollo de las biotecnologías de reproducción asistida, como la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y la multiovulación y transferencia de embriones (MOET). Sin embargo, en los hatos lecheros aún se observan retrasos de los intervalos “parto – concepción” y “parto – parto”, muchas veces causadas por la pérdida embrionaria temprana, y que a su vez incrementa el número de servicios (Gallegos, 2010).

La repetición de servicios en una vaca, es una condición que indica un problema de fertilidad, problema que está relacionado con diferentes factores externos o internos,

los cuales evitan que una vaca quede preñada. Entre los factores que se han identificado están: el aumento de la producción de leche, la deficiente alimentación, la condición corporal, el estrés por calor, abortos espontáneos, retención de placenta, metritis posparto, endometritis, quistes en los ovarios y otros factores; Una vez conseguida la unión de los gametos masculino y femenino (espermatozoide y ovocito), el desarrollo del embrión, su implantación y posterior desarrollo fetal, dependerán de la progesterona (P4) producida por el cuerpo lúteo (CL) durante la gestación (Gallegos, 2010).

La P4, estimula la liberación del interferón tau (IFN $\tau$ ) por parte del embrión, con el fin de estimular el reconocimiento materno de la gestación, y además inhibe la cascada luteolítica durante la gestación. Sin embargo, en circunstancias donde las concentraciones de P4 son bajas, se ha observado el aumento de los pulsos de la hormona luteinizante (LH), que a su vez resulta en el aumento de las concentraciones de estradiol (E2) y prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), responsable de la lisis del CL y los abortos espontáneos (López, 2002).

Una estrategia que busca incrementar los niveles de P4, durante el desarrollo embrionario temprano, es la administración de los análogos de GnRH, 7 o 12 días después de la IATF, según Pitti J. y Sánchez D. (2012); o 4, 8 o 12 días después de la IATF según Collaguazo (2016). Administraciones realizadas con el propósito de prevenir los abortos espontáneos y disminuir la infertilidad de los hatos.

La administración de la GnRH permite hacer un control reproductivo del ciclo estral de las vacas. Clínicamente es usada para la prevención de la mortalidad embrionaria, inducción de la ovulación, tratamiento de disfunción ovárica o del anestro posparto y el control del desarrollo folicular en programas de sincronización del celo para IATF y transferencia de embriones; Estudios anteriores, han reportado que el uso de GnRH, en hembras bovinas post IATF, permite la formación de cuerpos lúteos accesorios, el incremento de la concentración de P4 circulante y los índices gestación.

De esta forma el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la administración de un análogo de GnRH (Acetato de buserelina) el día 5 o 7 post-inseminación artificial con semen sexado sobre el porcentaje de preñez en vacas Holstein de sistema intensiva.

### **Objetivo general**

Determinar el efecto de la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez en vacas holstein de crianza intensiva.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto de aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas holstein de crianza intensiva.
2. Evaluar el efecto de aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas holstein de crianza intensiva.
3. Evaluar los niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación.

## **CAPÍTULO I**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **1.1. Antecedentes**

Pitti J. y Sánchez D. (2012) Determinaron las tasas de preñez y las cantidades de progesterona en plasma en vacas tratadas con GnRH a los 7 y 12 días después de la IA. 45 vacas de esta raza: Holstein, Jersey y Pardo Suizo, distribuidas en tres grupos de 15 vacas cada uno, con condición corporal que va de 2.5 a 3.5 y grados 1 a 5. La dosis aplicada fue de 2 cc de análogo sintético de GnRH (Gestar®) el día 7 y el día 12 después de la inseminación artificial además del grupo control. Las muestras de sangre se extrajeron mediante venopunción coccígea y se analizaron mediante pruebas de radioinmunoensayo (RIA). En el día 7, las concentraciones más altas de progesterona se obtuvieron con el tratamiento con GnRH ( $P < 0,05$ ), con una media de 10,03 ng/mL, pero no significó mejora alguna en los parámetros de reproducción. El grupo control tuvo la tasa de embarazo más alta en el primer servicio ( $P < 0,05$ ) con un 40%; mientras que el tratamiento con GnRH el día 7 y el tratamiento con GnRH el día 12 mostraron un mejor porcentaje de embarazo en el segundo servicio ( $P < 0,05$ ), fueron 66,66 % y 70%, respectivamente. Los porcentajes acumulativos de embarazo fueron 60 %, 53,33 % y 53,33 % para los grupos tratados con GnRH el día 7, el día 12 con GnRH y los grupos de control, correspondientemente. El grupo de control tuvo la menor cantidad de servicios por embarazo (1.25) y la tasa de embarazo más alta (80%) ( $P < 0,05$ ). Los tratamientos de control tuvieron el costo más bajo por tratamiento y por vaca preñada, con una diferencia de \$3.21 para el día 7 de tratamiento con GnRH y \$6.54 para el día 12 de tratamiento con GnRH. Se concluyó que, bajo los escenarios de este estudio, la administración de GnRH en el día 7 o 12 post-inseminación no mejoró los parámetros reproductivos. Entre trabajo de parto y baja concepción ( $100,5 \pm 45$ ) en comparación con el grupo control ( $145,5 \pm 65$ ) ( $P < 0,05$ ). No hubo diferencia ( $P < 0,05$ ) en el número de vacas servidas por concepción entre los dos grupos (CG=1.87 y GS=1.75). Se concluyó que la sincronización utilizada podría acortar las jornadas abiertas del hato lechero.

Por su parte Collaguazo (2016), las tasas de embarazo y los niveles de progesterona sérica se establecieron después de la inseminación artificial usando GnRH exógena. Se seleccionaron veinte hembras posparto de Holstein Frisia y se dividieron aleatoriamente en un grupo control (T4) y tres grupos (T1, T2 y T3). Los animales se sometieron al protocolo FTAI y se inseminaron. Se utilizó un análogo sintético de GnRH (Conceptal®) en cada tratamiento los días 4, 8 y 12 excepto (T4); las muestras de sangre se extrajeron mediante punción en la vena de la cola el día 7 después de la administración de GnRH y se analizaron mediante ELISA de competición en fase seca. Embarazo confirmado por ecografía 30 días después de la fecundación. Para el estudio de la información se utilizó el programa estadístico InfoStat versión Windows 2015, modelado por ANOVA, prueba: Duncan  $\alpha=0.05$  y prueba t para la media de dos muestras pareadas. Examen de suero P4 (T1, T2, T3) después del tratamiento y comparación entre grupos. No se determinaron diferencias estadísticamente significativas ( $P<0,05$ ). Sin embargo, en base a las tasas de embarazo y comparándolas con los niveles de P4, se determinó que el tratamiento más óptimo es el que mantiene un embarazo efectivo, estableciéndose una correlación positiva entre la GnRH-P4 y el embarazo. Asimismo, los niveles séricos de P4 en cada grupo se correlacionaron directamente con la formación, edad y calidad de las células lúteas. En comparación con T1, T3 y el grupo control (T4), el tratamiento T2 (60%) presentó el costo más bajo por tratamiento y por vaca preñada y la mejor tasa de preñez efectiva. Se concluyó que el efecto sobre los niveles de cantidad sérica de progesterona y la tasa de embarazo estaba claramente relacionado con la edad del cuerpo lúteo y fue determinado por el análogo sintético de la hormona GnRH aplicado el día 8 después de la fecundación.

## **1.2. Bases teóricas**

### **1.2.1. Índices de eficiencia reproductiva del ganado lechero**

El índice de producción y reproducción de las vacas lecheras es un indicador del rendimiento del rebaño y es factible de calcular en qué momento los hechos productivos y reproductivos se registran apropiadamente. Estos sumarios posibilitan la identificación de zonas de mejora, establecer objetivos de reproducción realistas, monitorear el progreso y detectar problemas temprano. También sugiere que las vacas deben ser "observadas" analizando su producción y sus índices reproductivos. Y estas métricas se obtienen a través de registros estables y bien llevados, es decir, verdaderas, completas, sencillas, bien diseñados, ahorradores de tiempo y utilizables en múltiples zonas de la compañía.

Un estudio bien elaborado es inútil, si la información examinada no coincide con lo sucedido en la realidad. Para que la ecuación de valoración actúe, es necesario cumplir dos cosas al mismo tiempo: una buena documentación y un análisis adecuado (Olivera, 2001).

Actualmente, la gestión de datos pecuarios pretende ser un sistema informático que capte una realidad concreta como unidad perceptual, proporcionando la información necesaria sobre el sistema productivo para planear intervenciones futuras (Pérez, 1998).

Así, se transforma en un sistema dinámico que puede identificar hechos, recopilar, analizar e interpretar información de manera sistemática y distribuir los resultados y sugerencias necesarias en la sección. Para desarrollar tales tecnologías, es necesario estudiar la interacción entre los factores de ecología, economía y sociales expresados en términos de producción del hato (Barriola, 2001).

La mayoría de los hatos profesionales del país tienen formatos de registros insuficientes e incompletos, lo que impide un análisis detallado y regular. La valoración de estos registros permitirá conseguir información ventajosa sobre cada nivel productivo, el parámetro de las restricciones y los reparos logrados mediante la implementación de acciones correctivas. Además, constituirán la mejor manera de identificar los defectos reproductivos y son importantes para conseguir un diagnóstico inicial. Estas valoraciones solicitan un procedimiento de base de datos que posibilite ingresar datos que se genera en el establo diariamente, genere reportes que le permitan a los productores gestionar su hato de manera eficiente y alerte al investigador de algunas dificultades en el sistema para que pueda identificarlas y ejecutar un estudio parcial de la causa y el riesgo de la complicación, el estado real de la granja y las soluciones para controlar los problemas (García 2004).

Las decisiones del rebaño se tomarán sobre la producción y la renta de cada res mediante el registro de datos de producción individuales para cada vaca; Todos los datos son útiles para tomar decisiones de la compañía de cría de animales (Hernández, 2004).

Hoy por hoy en el Perú los datos pecuarios disponibles poseen un fuerte elemento estimado, su base es poco confiable y se desconocen la mayoría de los índices reales de

producción y reproducción, por lo que al no tener el gobierno acceso a esta información establecida, existe una falta de herramientas analíticas para elaborar un plan coherente para el desarrollo agrícola del país (García, 2004).

Enfatizando que las necesidades prioritarias de toma de decisiones no están cubiertas por la producción estadística actual o cuando se mitiga un problema específico porque se desconoce el tamaño del límite de producción (López, 2002).

En la región Lima y en diferentes partes del país se han adoptado muchas alternativas de solución sin identificar primero el inconveniente ni considerar las circunstancias socioeconómicas, culturales o del clima, lo que ha resultado en grandes fallas y en la dificultad de calcular la inversión porque no hay información de referencia de rentabilidad. Sin duda, el análisis y publicación de información sobre producción ganadera se ha transformado en una herramienta necesaria para el progreso agrícola de cualquier país. Cabe mencionar que muchos países valoran su practicidad y han desarrollado sistemas de información automatizados desde varios años, lo que hoy en la actualidad los coloca a la delantera del progreso de la industria ganadera mundial (García, 2004).

En Perú existen estructuras que congregan a los ganaderos que quieren ejecutar procedimientos coherentes de progreso pecuario, pero la insuficiente información sistemática es un problema (López, 2002).

En nuestro entorno, esforzándose por automatizar la gestión de la información agraria; diseñó una aplicación informática para gestionar de manera integral la información de la industria ganadera, que permita medir un grupo de insuficiencias en la gestión reproductiva y la producción de leche en la Cuenca Lima (García, 2004)

Estos datos proporcionados a los usuarios deben ser confiables, oportunos, accesibles, comprensibles y predecibles en el futuro. También significa que los datos propician los datos en el mercado y el sistema productivo, y para acceder a información de calidad, los funcionarios públicos y privados establecen sus recursos de manera más eficiente y disponen mejor cada decisión (López, 2002).



Estos esquemas informativos facilitan la valoración de fichas de más establos, proporciona orden en juicios y medidas habituales para evaluar resultados, permite el intercambio de resultados entre estudiosos y productores, y crea un espacio para efectuar una revisión integral de los esquemas productivos y análisis multidisciplinario. Todo esto posibilita que el productor y sus asesores evalúen y analicen los efectos de su propio rebaño a través de reportes y estudio normalizados, con acceso inmediato a la información (salud, reproducción y productividad) disponibles en el sistema. En el Perú es momento de tener ayuda de los esquemas de información censal y sistemas dinámicos que posibiliten a los expertos o autoridades planear procedimientos reales de progreso y evaluarlos a corto, mediano y largo plazo (Masías, 2001).

No obstante, nada sería viable sin el apoyo firme del gobierno puede ser el protagonista entre los primordiales índices de reproducción clásicos que calculan la eficiencia productiva de las vacas lecheras, podemos mencionar (Ecurra, 2001).

### **1.2.2. Edad al primer servicio (EPS)**

En todo el mundo, las vacas lecheras se están criando actualmente hacia la madurez temprana para incorporar rápidamente animales jóvenes a la producción para una mayor rentabilidad (Stevenson ,1995).

El blanco recomendado es una novilla Holstein de 350 a 360 kg de peso a los 13 meses, con una altura al hombro de 1,25 m, que es la edad en la que se inicia la gestión reproductiva (López, 2002).

Se ha descubierto que mientras más pronto se fecunda o se aparea de manera segura una vaquilla, mayor será la producción diaria promedio de leche que producirá el animal durante su vida. Por lo tanto, la relevancia de lograr una alta fertilidad y alta periodicidad de reproducción (Garcia, 2004).

Según investigaciones ejecutadas en Perú la EPS: Mellisho (1998) en la cuenca lechera de Lima, halló 16,5 meses; Monzón (2002) de vacas Holstein en Arequipa halló 21,2 meses; Almeyda (1998) 26.6 y 17.5 meses de resultados de valoración de vacas criollas y mestizas desarrolladas centralmente en Lima.

### **1.2.3. Edad al primer parto (EPP)**

El objetivo de cualquier plan de reproducción es que las hembras den a luz a su primera cría a los 24 meses o antes (si poseen la edad suficiente), e inmediatamente den a luz a una cría cada 12 meses. Un desempeño reproductivo satisfactorio es necesario para que un productor consiga metas de rentabilidad con el ganado, ya que esto afecta claramente las producciones del día, el avance en genética, las políticas de reposición, etc. En teoría, el primer parto temprano posee múltiples beneficios: disminuye la vida improductiva de las hembras (desde que nacen hasta la primera lactancia), un regreso más expedito de los ingresos por leche, hay más hembras disponibles en el ganado de reserva y se acorta el intervalo intergeneracional. Acelerar la mejora genética (Mellisho, 1998).

Para que una hembra produzca vaquillas de suficiente tamaño y peso a los 2 años, debe estar bien criada, y muchos industriales fracasan en este sentido porque ven la alimentación como un gasto, y es todo lo contrario, es una inversión y una de las mejores, porque las vacas se crían para el futuro, las que sustituyen a las hembras viejas cuando se descartan. Asimismo, no criar bien a los terneros se traduce en derrochar el progreso en genética, ya que las hembras no podrán demostrar su potencial genético. Además de desperdiciar vidas productivas futuras debido al primer parto tardío, dejar a las vaquillas fuera más tiempo del necesario antes del parto representa un peso financiero inútil para el rebaño. En este contexto, la propensión en el mundo en la cría de ganado lechero tiende a producir las primeras vaquillas en una vaquilla de una edad y tamaño para maximizar su producción de leche de por vida y minimizar los problemas de parto (Olivera 2001).

Las hembras con buen desarrollo pueden concebir seguramente entre los 22 y los 24 meses, por lo que la edad de la primera inseminación debe ser entre 13-15 meses. Para novillas de razas lecheras, el peso ideal al parto debe ser: Holsteins de 522 a 544 kg, novillas Swiss brown de 476 a 522 kg, Jersey de 363 a 408 kg; concluyendo que la EPP se correlacionó positivamente con la producción de leche en el primer ejercicio. También muestran que a medida que aumenta el EPP durante 25 m, disminuye el ingreso neto relativo por vaca y aumentan los costos variables de producción. Al final, establecieron que la edad más viable según los datos económicos para un 1° parto estaba entre los 22,5 y los 25,5 meses. Las vacas primarias no deben embolsarse más del 10 % al 12 % del tamaño total de la bolsa. Si esta proporción es elevada, quiere decir que las vaquillas no

fueron bien manejadas al parir, o las vaquillas fueron mal criadas porque estaban muy reducidas al parir (Gamarra, 2001).

Asimismo, se considerará una pérdida elevada por el número de vacas que no producen y amortiza la inversión para ser criadas (Olivera, 2001). Para Perú, Mellisho (1998) alcanza una EPP de 26,6 m; Monzón (2002) alcanza 30,7 m; Parreño (1991) muestra 28,7 m; Almeyda (1998) con 26,5 m en vacas criollas y 35,8 m cruzadas.

#### **1.2.4. Intervalo parto - primer servicio (IPPS)**

Se define como el periodo que transcurrió entre el último alumbramiento y el primer servicio natural o artificial. Este proceso se ve afectado por el inicio de la función ovárica, el número de períodos de estro perdidos y las decisiones de manejo (período de espera voluntario o VEP) de cuándo volver a inseminar a la vaca después del parto. La regresión uterina en vacas lecheras se modifica de 26 a 56 días posterior al alumbramiento, con una media de 42 a 47 días (Sienra, 2002).

En las vacas lecheras, el cuerpo lúteo grávido (CL) retrocede velozmente posterior al alumbramiento, pero la primera ovulación casi nunca va acompañada de un estro pronunciado. En general, el intervalo entre el alumbramiento y el primer celo en las vacas oscila entre 30 y 72 d. También indica que la media ideal del IPPS es de 61 a 75 d, momento en el que se logran las tasas de gestación más elevadas, también señala que el ciclo estral de las vacas no comienza hasta 3 o 4 sem posterior al alumbramiento, y su fertilidad no consigue su punto máximo hasta 60 días después del alumbramiento (Stevenson, 1995).

Este enunciado es reforzado con la tesis de Pérez (1981) quien concluyó que las tasas de embarazo eran más bajas cuando las vacas eran fertilizadas antes del día 60 posteriores al alumbramiento. al examinar estudiar 13,271 vacas lecheras de 137 granjas en los EE.UU., halló que el 90 por ciento de las vacas tenían metritis 15 días después del alumbramiento. A los 30 y 60 días, esta proporción se redujo a 79% y 9%, correspondientemente (Stevenson, 1995).

Las vacas deben estar embarazadas dentro de los 85 días posparto para conseguir el IEP a los 12 meses; para esto, el primer servicio posparto se realiza entre los 50 y 70

días posparto, y la prueba de embarazo y celo debe tener una efectividad de cerca del 50%. Esto es posible si el 90% de las vacas en una granja bien manejada están en celo previamente a los 50 días posparto (Monzón, 2002).

El IPPS prolongado es una condición habitual que afrontan los agricultores y puede indicar una complicación de cese patológico. Su origen más común son las fuentes de nutrientes, especialmente relacionadas con carencias energéticas, aunque pueden afectar otros factores (Sienra, 2002).

Señala que las vacas con bajos niveles de nutrientes, tanto en el embarazo como posterior al alumbramiento, poseen un retraso en el regreso al celo y una ovulación silenciosa más frecuente (García, 2004).

Igualmente, las vacas con problemas de parto y las vacas con balance energético negativo severo (BNE) después del parto reiniciarán su ciclo estral y mostrarán celo más tarde (Nebel, 1996).

Investigaciones peruanas anteriores señalaron varios valores. Mellisho (1998) indica 93,4 días; Monzón (2002) halló 91,5 días; Parreño (1991) señala 98,7 días.

#### **1.2.5. Intervalo parto - concepción (IPC) o días abiertos**

Este parámetro tiene en cuenta la noción de días vacíos y pertenece al tiempo medio desde el último alumbramiento hasta la data de servicio cuando se logra la gestación corroborada actual (Sienra, 2002).

Hay un error inherente en los parámetros asociados con el IEP de que su cálculo se basa solo en las vacas preñadas que quedan en el hato y no tiene en cuenta el nivel de descarte debido a fallas reproductivas o vacas no servidas. Es decir, al valorar dos establos, se pueden encontrar IEP similares, pero sus tasas de descarte son muy diferentes porque uno de ellos puede estar sacrificando animales con una proporción elevada de problemas reproductivos (Stevenson, 1995).

Las dificultades de fertilidad y detección de celo han aumentado los días abiertos. Una granja bien administrada podría considerar un horario de apertura de 90 a 110 días

como un objetivo razonable. Esto significa de 12.2 a 12.8 meses para alcanzar el IEP (Parreño, 1991).

A nivel mundial se ha elaborado este cálculo hallando valores como los de Mellisho (1998) que señala 145,3 días; Monzón (2002) señala 139,8 días; Parreño (1991) con 135,4 días; Almeyda (1998) reporta un IPC para el 2° y 3° parto de 132 y 171 días correspondientemente; Franco (2001) en vacas lecheras sin y con suplemento de 88 y 93 días correspondientemente.

#### **1.2.6. Intervalo entre partos (IEP)**

Es un indicador de cría más usado en los establos. Instituye el tiempo medio transcurrido entre las dos últimas entregas. Igualmente es definido como el tiempo entre dos nacimientos sucesivos. El IEP estimado se representa por la sumatoria del IPC más el período medio de gestación, recibiendo una media de 285 d para este evento (Sienra, 2002).

Se muestra que el intervalo entre alumbramientos de la vaca es un indicador importante y debe estar entre 12 y 13 m. Para lograr esto, se requiere invocar rápidamente el útero para que la cría pueda volver a quedar preñada y se restablezca el ciclo y el celo sea fértil. Para cumplir con estas condiciones, el período perinatal (3 a 4 semanas antes y después del parto) es fundamental para el manejo de la vaca. Durante este período, el consumo de alimento disminuye y la necesidad de nutrientes aumenta, por lo que la vaca entra en un balance energético negativo. La inmunidad también se reduce y la susceptibilidad a la enfermedad también se reduce. Para prevenir y reducir las molestias perinatales, se deben abordar tres puntos principales: la condición física de la vaca, las dietas de transición durante el período perinatal y las dificultades metabólicas (Franco, 2001).

Esta medida nos da un concepto global de cómo se están desarrollando los aspectos reproductivos de la explotación, calculando la cantidad de nacimientos por año de vida. El período ideal es de 12 m, pero un IEP de 13 m es aceptable. El IEP depende del número de días posterior al alumbramiento que comienza de nuevo el ciclo estral, la cantidad de celos no silenciosos y su % de detección, y la tasa de fecundación por inseminación o monta. Si el IEP es menor a 13 m, se puede inferir que el rebaño no tiene

complicaciones con la fertilidad, pero cabe señalar que se puede lograr un buen IEP según criterios de reposición muy estrictos o criterios de descarte excesivo por infertilidad. Debe recordarse que las tasas de reemplazo superiores al 15% deben considerarse motivo de preocupación. Otro dato a considerar es que esta métrica solo muestra el triunfo reproductivo (llamado gestación) y no cuenta las fallas relacionadas con la reproducción (por ejemplo, vacas descartadas debido a problemas reproductivos). Para conservar un IEP en un hato lechero durante 12 meses, al menos el 90 % de las vacas deben estar en celo al día 60 posparto y concebidas al día 85 posparto (Almeyda, 1998).

Desde la perspectiva económica, el IEP óptimo debería ser de 13 m entre el primer y el segundo nacimiento y 12 m entre los demás nacimientos. Los IEP de más de 13 meses son comunes, llegando incluso a los 15 o 16 meses. Dado que hay muchas razones para esto, se deben analizar otros indicadores más concretos. Uno es el intervalo entre partos: el 1º celo puede definir el tamaño de la rutina posparto (Mellisho, 1998).

No obstante, esta cuantificación no es un dato recolectado en los establos, debido a que el celo posparto suele estar asociado al servicio. Por ello que IPPS es la primera medida analítica para las granjas en su mayoría (Sienra, 2002).

La razón fundamental de IEP largos es la detección deficiente de celos, sumado a extensos periodos de espera voluntarios (PEV), es decir, dar mucho tiempo después del alumbramiento para iniciar la inseminación y las bajas tasas de concepción, para ello se divide el IEP en 4 periodos:

- El período de descanso, el tiempo que una vaca no es fecundada, varía de 40 a 70 días y está relacionado con un tiempo de espera razonable para que ocurra la involución uterina. Algunos estudios han concluido que, si no hay complicaciones durante el trabajo de parto, este fenómeno no dura más de 40 días.
- El período de espera para el primer servicio, incluyendo el anterior más el tiempo del primer estro y la detección de la fecundación.
- El período desde el primer servicio hasta la concepción constituye el número de días que una vaca necesita para concebir posterior a la primera inseminación.
- Periodo de gestación, es invariable y no se modifica (Franco, 2001).

El promedio en vacas Holstein es de 279 días (Stevenson, 1995). Para este indicador se ha realizado ciertas valoraciones. Mellisho (1998) reporta un IEP de 14,0 meses; Monzón (2002) con 13,7 meses; Parreño (1991) con 13,6 m; Almeyda (1998) señala un IEP de 1° a 2° servicio y de 2° a 3° servicio de 414 y 458 días correspondientemente.

### **1.2.7. Número de servicios por concepción (NSC)**

En la literatura también se le llama servicio de embarazo o servicio de embarazo. Determinar el número promedio de servicios (inseminación o monta) necesarios para lograr el embarazo. En teoría, se puede obtener un ternero vivo de una sola porción, pero en algunos casos, se requieren múltiples inseminaciones del mismo animal para obtener un ternero. Un resultado de 1,3 es bueno, entre 1,5 y 1,6 es normal, por encima de 2 es muy malo. La desventaja es que la acción puede llevar meses después de que se descubre un problema (García, 2004).

Para conseguir el índice óptimo se debe alcanzar una preñez promedio al servicio de 62,5% ( $1/1,6 = 0,625$ ) (Sienra, 2002).

Esto se puede considerar una medida para la fertilidad de las vacas lecheras que se reproducen con éxito y quedan preñadas. (Mellisho, 1998).

Determinar el número de servicios por concepción ayudará a monitorear a los animales y alertar sobre problemas (Sienra, 2002).

El NSPC se deduce con la división de la cantidad total de vacas servidas por el número de vacas preñadas. Este resultado es inversamente proporcional a la tasa de embarazo, por lo que los elementos que afectan la tasa de embarazo también tienen un efecto en el NSPC. Un NSPC más alto, por encima de lo que se considera óptimo, conduce a mayores costos de semen, más mano de obra para detectar el celo, para la inseminación artificial, IEP más prolongado, costos alimenticios elevados, etc. (Stevenson, 1995).

Este aumento igualmente indica poca certeza para detectar el celo, de esta forma algunas vacas pueden ser inseminadas sin estar en estro. Sistematizaciones anteriores establecieron el NSPC. Mellisho (1998) reporta 1,67 y 3,48 en novillas y vacas

correspondientemente; Monzón (2002) con 2,01; Parreño (1991) en becerras y vacas señala 1,44 y 2,15 correspondientemente.

#### **1.2.8. Tasa de concepción al primer servicio (TCPS) y global (TCG)**

Las vaquillas tienen tasas de concepción significativamente más elevadas que las vacas lactantes porque son animales menos estresados. (Mellisho, 1998).

La baja tasa de preñez se refleja en la influencia financiera, porque:

- Reducir la fabricación de leche en su periodo productivo.
- Se vendieron o reemplazaron menos progenie.
- El costo extra del semen.
- Aumento del costo de los servicios veterinarios.
- Costos de eliminación y reemplazo más elevados (Sienra, 2002).

Un elemento a considerar al calcular la tasa de concepción es la condición física del animal cuando llega para el primer servicio posparto. Se dedujo que perder en demasía la condición corporal en el parto se asoció con una reducción del 15% en la fertilidad. Si un alto porcentaje de rebaños pierde 1 o 2 puntos de condición corporal desde el parto hasta el servicio, esto se reflejará en una baja fertilidad. Otro elemento importante que obstaculiza las tasas de concepción más alta y la eficiencia reproductiva más alta es la mala detección del celo (Stevenson, 1995).

La reducción de la eficiencia reproductiva de los hatos lecheros durante la última década se debe principalmente a la disminución en la relación de detección de celos, un parámetro establecido por la fuerza y precisión de la detección. La intensidad de detección de celo es el porcentaje de celo probable observado durante un período de tiempo específico, que está relacionado con la capacidad del operador para descubrir la cantidad de vacas que se espera que estén en celo cada día. La precisión de detección de celo es el porcentaje de calor observado con respecto al calor real, es decir, la capacidad del operante para identificar el cuadro médico de celo (García, 2004).

Verificar el intervalo estral ayuda a calcularlo. También se puede utilizar para evaluar las cantidades de progesterona en la leche durante la inseminación; Actualmente hay disponible una variedad de ayudas para mejorar la eficiencia de la detección térmica, que incluyen:



- Detectores de pintura y presión montados en la parte inferior de la cola.
- Detector de presión electrónico montado en la parte inferior de la cola.
- Clips y animales tratados con esteroides androgénicos.
- Mida la resistencia eléctrica del fluido del tracto reproductivo.
- Podómetro (García, 2004).

Es importante tener presente que el porcentaje de embarazo de las vacas Holstein lactantes igualmente se vio afectado negativamente cuando la mayor temperatura superó los 29,5 °C, y en vaquillonas cuando la temperatura superó los 35 °C (Stevenson, 1995).

Respecto a la TCPS, Almeyda (1998) reporta 70% en vacas criollas; Franco (2001) en vacas sin y con suplemento reporta 62,5 y 72,7% correspondientemente; Mellisho (1998) con 61,6% y 33,2% en novillas y vacas correspondientemente; Monzón (2002) reporta 50,3%; Parreño (1991) reporta en novillas y vacas 69,3% y 46,5% correspondientemente.

### **1.2.9. Endocrinología de la reproducción**

El SNC recibe datos desde el entorno del animal (estímulos para la vista, el olfato, el tacto y auditivos) y participa información relacionada con la reproducción a las gónadas a través del eje hipotalámico-pituitario-ovárico. No solo son productores de hormonas además son órganos diana, por ello establecen un complejo procedimiento de retroalimentación homeostática a través del cual regulan sus propias tasas de secreción (Acuña, 2007).

La interacción entre estos elementos es por vía neurohormonal (Gonzales, 2006).

El ciclo estral se regula cuando varios órganos interactúan: hipotálamo-hipófisis, ovario y útero. Las hormonas actúan como emisarios químicos que se mueven a través del torrente sanguíneo a órganos y tejidos determinados que poseen receptores para hormonas específicas y regulan las distintas etapas del ciclo estral (Rippe, 2009).

Las hormonas no se secretan de forma continua, sino a través de una serie de pulsos. La FSH estimula el desarrollo de los folículos ováricos y el endometrio, mientras que la LH estimula la maduración, la producción de estradiol y la ovulación. Asimismo, LH apoya la formación y función temprana del cuerpo lúteo (Acuña, 2007).

### **1.3. Marco conceptual**

#### **1.3.1. Hipotálamo**

Es la base del cerebro cuyas neuronas producen GnRH, que se propaga por los capilares hasta el sistema pituitario y de allí a las células de la hipófisis anterior, cuya función es promover que se produzcan y secreten hormonas hipofisarias, como el folículo estimulante implicado en la reproducción (FSH) y hormona luteinizante (LH) (Acuña, 2007).

La glándula pineal recibe informaciones del entorno del animal y controla la función del hipotálamo por la secreción de hormonas (melatonina y arginina angiotensina) (Aspron, 2004).

#### **1.3.2. Hipófisis**

La hipófisis anterior, o adenohipófisis, genera varias hormonas, donde la FSH y la LH desempeñan funciones relacionadas en el ciclo estral (Rippe, 2009).

#### **1.3.3. Ovarios**

Son glándulas y básicamente poseen dos funciones, una es exocrina, que es liberar óvulos, y la otra es endocrina, que produce y secreta hormonas. Entre las hormonas producidas por los ovarios podemos mencionar los estrógenos o estradiol, la progesterona y la inhibina (Rippe, 2009).

**Tabla 1.1***Hormonas que participan en el ciclo estral*

<b>Hormonas</b>	<b>Origen</b>	<b>Función principal</b>
<b>GnRH</b>	Hipotálamo	Estimula la glándula pituitaria para liberar FSH y LH
<b>FSH</b>	Hipófisis anterior	<b>Hembra:</b> Estimula el desarrollo de la maduración del folículo. <b>Macho:</b> estimula la espermatogénesis.
<b>LH</b>	Hipófisis anterior	<b>Hembra:</b> Estimula el desarrollo terminal del folículo. Induce la formación y mantenimiento del cuerpo lúteo en el ovario. <b>Macho:</b> estimula la producción de testosterona.
<b>Estrógenos (17β estradiol)</b>	Ovario (granulosa del folículo)	Estimula la receptibilidad del macho. Estimula la descarga preovulatoria de LH.
<b>Inhibina</b>	Ovario (granulosa) Testículo (células de Sertoli)	Inhibición de la secreción pituitaria de FSH (efecto de retroalimentación)
<b>Progesterona</b>	Ovario (Cuerpo lúteo).	Preparar el endometrio para la implantación del embrión. mantener el embarazo. Disminuye la secreción de GnRH, lo que impide una nueva ovulación.
<b>Prostaglandina F2α</b>	Mayoría los tejidos corporales	Regresión del cuerpo lúteo.

Fuente (Acuña, 2007).

### 1.3.4. Hormonas que participan en el ciclo estral

#### a) Hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH)

La GnRH se une a receptores de gonadotropina altamente específicos y estimula la liberación y biosíntesis de LH y FSH, mientras desencadena la esteroidogénesis y gametogénesis gonadal. La GnRH es un elemento importante en la regulación de la acción ovárica en el ciclo estral normal de las vacas y en el inicio de la actividad gonadal antes del inicio de la pubertad y después del estro (Mérida, 2007).

#### b) Hormona Folículo Estimulante (FSH)

Es responsable de los procesos de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración de los folículos. Los folículos dominantes tienen más receptores de FSH en el área granular y, asimismo de estradiol, también producen inhibina, que con el estradiol inhibe la liberación de FSH de la hipófisis. La vida media de la FSH es de 2 a 5 horas (Sintex, 2005).

El aumento en los niveles preovulatorios de FSH se presume estar controlado por el mismo mecanismo que determina el pico de LH, a saber, la estimulación de la secreción de GnRH por una retroalimentación positiva de los estrógenos ováricos. El segundo aumento en los niveles de FSH ocurrió aproximadamente 24 horas después del aumento de LH. Este aumento está asociado con el crecimiento del folículo en el próximo ciclo. El segundo aumento de FSH no es el mismo mecanismo que antes de la ovulación. En este caso, la GnRH no tiene efecto aparente y desaparece el control ovárico inverso negativo de la producción de la ovulación (principalmente inhibina y estradiol), aumentando así la tonicidad de la FSH (Hafez, 2002).

### **c) Hormona luteinizante (LH)**

Provoca la síntesis de androstenediona partiendo del colesterol. El estradiol produce retroalimentación positiva en el hipotálamo y la glándula pituitaria, lo que aumenta la repetición de los pulsos de GnRH, lo que desencadena un aumento de LH que induce la ovulación; estimula la maduración del folículo, la producción de estradiol y la ovulación. La LH también apoya la formación temprana y la función del cuerpo lúteo y, después de la ovulación, los restos del folículo se ordenan por la influencia de la LH para producir el cuerpo lúteo (Acuña, 2007).

#### **1.3.5. Estrógenos (17 $\beta$ estradiol)**

Son hormonas esteroides generadas en los folículos que estimulan el comportamiento sexual o calor sexual al actuar sobre el SNC del animal, asimismo, poseen efectos sobre otros órganos del aparato reproductor como útero, vagina y vulva. El estrógeno tiene impacta con una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo a partir de la liberación de GnRH, que simultáneamente induce la liberación de FSH y LH de la hipófisis anterior (Rippe, 2009).

El estrógeno ejerce efectos beneficiosos sobre los mecanismos para defenderse del útero y la contracción de las fibras del músculo liso uterino (Acuña, 2007).

#### **1.3.6. Inhibina**

Hormona proteica derivada de las gónadas, que interfiere con el mecanismo de regulación de la secreción de FSH y posee un impacto de retroalimentación negativa en

la hipófisis anterior, lo que reduce la secreción de FSH. La fuente más importante de inhibina son los gránulos de los folículos en crecimiento (Ramírez, 2006).

#### **1.3.7. Prostaglandina (PG)**

Metabolitos conseguidos a partir del ácido araquidónico por una vía metabólica denominada ciclooxigenasa. Entre estos podemos mencionar a la  $PGF2\alpha$ , sustancia con una notable actividad en el control del ciclo estral. La  $PGF2\alpha$  es responsable de provocar la luteolisis durante el estro o al final del embarazo (Echevarría, 2006).

Cuando se administran en el segundo trimestre, promueven la regresión lútea al inducir a la progesterona plasmática a reducir su concentración sérica, lo que resulta en la producción de contracciones miométriales que, junto con la oxitocina, provocan un aborto espontáneo o una reabsorción fetal (Hafez, 2002).

#### **1.3.8. Oxitocina**

Es un nonapéptido sintetizado especialmente por neuronas magnocelulares hipotalámicas ubicadas en los núcleos supraóptico y paraventricular y almacenada en la neurohipófisis. Es el agente uterotónico más fuerte que se conoce, y la sensibilidad del miometrio a la oxitocina aumenta previo y en el trabajo de parto, y esta crecida está regulada por la cantidad de receptores de oxitocina. La función fisiológica de la oxitocina es generar la concentración del tejido muscular uterino y estimular las células mioepiteliales de los alvéolos mamarios (Borestein, 2003).

#### **1.3.9. Progesterona (P4)**

Es secretado por las células lúteas del cuerpo lúteo, la placenta y las glándulas suprarrenales. Preparar el endometrio para la implantación del embrión y el sostenimiento del embarazo. La LH estimula principalmente la regulación de la secreción de progesterona en las vacas (Hafez, 2002).

La P4 a nivel hipotalámico ejerce una retroalimentación negativa sobre el control de la acción tónica de la secreción de GnRH. En el miometrio, suprime las secreciones que permiten que ocurra el embarazo, y en el cuello uterino, un tapón mucoso, que consiste en una pequeña cantidad de moco denso y opaco, transforma el útero en una cámara de incubación (Borestein, 2003).

La importancia de la progesterona en el mantenimiento del embarazo se infiere del hecho experimental de que en algunos animales se producen abortos espontáneos cuando se extirpan los ovarios (Frandsen, 2009).

### **1.3.10. Progesterona en el control ciclo estral del bovino**

Estar expuestos a altos niveles de progesterona seguida de su disminución (cebedo de progesterona) parece ser necesaria para la diferenciación normal de las células de la granulosa, la demostración normal del celo y el progreso posovulatorio del cuerpo lúteo con glándulas lúteas normales (Sintex, 2005).

Al usar progesterona exógena, pudimos imitar este comportamiento. La supresión del nivel lúteo de esta hormona a esta secreción pulsátil de LH inhibe posteriormente el desarrollo del folículo dominante y el resultante progreso simultáneo de una ronda folículos desarrollados nueva. Al eliminar esta fuente de progesterona exógena, acordamos aumentar la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH, que luego desarrollan un folículo dominante, ovulan entre 48 y 72 horas y luego (Sintex, 2005).

### **1.3.11. Fases del ciclo estral bovino**

Para que se comprenda de forma más sencilla los mecanismos de control y el estudio minucioso de las interacciones endocrinas, se recomienda la división del ciclo estral en 3 fases:

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

Inicia con la luteolisis, cuando las cantidades de progesterona en la sangre descienden repentinamente a niveles por debajo de 1 ng/mL (24-36 horas posteriores al comienzo la luteolisis). La disminución de la concentración de progesterona elimina la retroalimentación negativa sobre la secreción de gonadotropinas. Por lo tanto, la frecuencia del pulso de LH aumenta y la frecuencia de la FSH aumenta. Durante esta etapa, la glándula pituitaria secreta cerca de 1 pulso de LH cada 60 minutos (Caccia et al, 2014).

Un aumento en la periodicidad de los pulsos de LH estimula el progreso del folículo dominante, que secreta más y más estradiol. El nivel evolutivo del folículo en la luteólisis determina el tiempo que tarda el folículo en completar su crecimiento y poder

generar importes suficientes de estradiol para el comienzo del estro y el pico preovulatorio de LH (Bo, 2014).

### **b) Fase periovulatoria**

En esta etapa ocurren fenómenos significativos: fiebre, ondas preovulatorias de gonadotropinas y ovulación. El intervalo entre el comienzo de la luteolisis y el del estro es de cerca de 58-60 horas. Los niveles de estradiol aumentaron desde la regresión lútea hasta los niveles más elevados el día anterior al estro.

Esta elevación de estradiol da como resultado la conducta típica del celo e incita la excreción preovulatoria de LH. Esto dura de 6 a 10 horas, comenzando con calor y alcanzando un máximo (pico) después de 4 a 5 horas. En el pico preovulatorio, la excreción de LH sigue un patrón pulsátil (Giraudó, 2014).

El estradiol libera la secreción preovulatoria de LH a través de los siguientes mecanismos:

- Aumenta la sensibilidad pituitaria a la estimulación de GnRH.
- Incrementa la cantidad de receptores de GnRH en las células pituitarias.
- Dado el incremento de los niveles de ARNm de estas hormonas observado antes y durante la liberación de LH, estimula la biosíntesis de gonadotropinas.
- Aumenta el efecto de "cebado" (autocebado) de la GnRH, proceso por el cual la GnRH aumenta la respuesta de la glándula pituitaria a la exposición continua a esta hormona.
- Instituye un mecanismo a nivel del hipotálamo que termina al liberarse la descarga de GnRH, que simultáneamente induce un pico preovulatorio de gonadotropinas (Caccia et al, 2014).

Las principales funciones de la LH son estimular la maduración final del folículo, activar los ovocitos para que continúen la meiosis (en la profase I, el ovocito I) y mantener la CL. El pico preovulatorio de LH ocurre temprano en el estro y coincide con el pico de FSH. Se considera que este aumento de LH induce la ovulación y desencadena la luteinización de las células de la granulosa y la teca. La ovulación generalmente ocurre de 24 a 30 horas después de que comienza el aumento preovulatorio de LH y FSH (Bo, 2014).

### **c) Fase lútea**

Después de la ovulación, las cantidades de progesterona inician a aumentar el día 3 o 4, logran su punto máximo entre los días 8 y 12 y luego descienden a concentraciones basales previo al siguiente estro, lo cual es una función de la secreción de PGF<sub>2</sub> en el útero e intrauterina. No hay respuesta de embriones viables. Durante este período, vale la pena mencionar varios eventos vinculados a la formación de CL y la dinámica del folículo ovárico (Baruselli et al, 2014).

#### **● Formación del cuerpo lúteo**

Posterior a la ovulación, la cavidad del folículo ovulatorio es invadida por células en proliferación de la granulosa y la teca. Los capilares y las membranas basales cambian durante la ovulación (pueden causar una pequeña cantidad de sangrado), lo que permite que los capilares y las células de la teca entren en la cavidad folicular. Las células membranosas y de la granulosa son diferentes (lutetizan) en células lúteas que constituyen CL. Las células de la teca se desarrollan en células de menor diámetro (<15 mm) llamadas células lúteas. Las células de la granulosa se transforman en células lúteas más grandes (>15 mm), igualmente conocidas como células lúteas grandes. Los dos tipos de células lúteas secretan progesterona, pero las células pequeñas parecen tener casi todos los receptores de LH y responden 6 veces más a la secreción de progesterona que las células grandes cuando se exponen a la LH (Baruselli, et al, 2014).

#### **● Luteólisis**

Cerca de 14 bajo la influencia de la progesterona secretada por el CL, el endometrio secreta pulsos de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (cada uno con una duración aproximada de 6 horas) durante un total de aproximadamente 36 horas. La concentración de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  en la sangre se estimó midiendo su principal metabolito 15-ceto, 13,14 deshidroprostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGFM). En los rumiantes, la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  llega al ovario por difusión arteriovenosa local, también conocida como mecanismo de reflujo. Específicamente, la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  se administra desde la vena uteroovárica a su arteria ovárica estrechamente relacionada (Baruselli et al, 2014).

### **1.3.12. Dinámica folicular**

Las mejoras en las técnicas para el monitoreo de la cantidad de hormonas y sus receptores, así como la ecografía para valorar las modificaciones morfológicas, han



llevado a un mejor entendimiento de la evaluación folicular en el ganado. No obstante, hallazgos histológicos de otros autores refutan el fenómeno de la onda y apoyan la idea de que el desarrollo del folículo es incesante e independiente de la etapa del ciclo estral. La evidencia respalda la noción de que los folículos se "reclutan" consecutivamente a lo largo del ciclo y que los folículos destinados a la ovulación se seleccionan por su estado de maduración simultáneamente con el inicio de la secreción de gonadotropina preovulatoria (Bo et al, 2014).

La confusión y la controversia sobre la dinámica de los folículos continuaron a fines de la década de 1980, trabajando en pro o contra de la teoría de las ondas, hasta que se demostró de manera convincente mediante ultrasonido en tiempo real que el crecimiento folicular en el ganado ocurría mediante la simulación de ondas. Desde entonces, un cuerpo de trabajo ha demostrado que los patrones de ondas se repiten en casi todas las etapas de la vida de una vaca, incluida la prepuberal, la gestación y el posparto (Hafez et al, 2000)

Los folículos del ovario bovino evolucionan en oleadas. Una ola de crecimiento folicular consiste en el desarrollo simultáneo de un gran número de folículos, a esto le sigue la selección y crecimiento del folículo dominante y la regresión o atresia del folículo subordinado. En ausencia de luteólisis, el folículo dominante dejará de crecer y comenzará a degenerar, lo que resultará en el crecimiento de una nueva ola de folículos. Se demostró que hay 2 o 3 oleadas de desarrollo folicular en el ciclo estral. Hay una variación considerable entre los animales en cuanto a la fecha de inicio de cada ola y el número de oleadas por ciclo estral. Algunos trabajos encontraron que Animal Supremacy era la ola 2, mientras que otros encontraron que Animal Supremacy era la ola 3. CL comienza a degenerar antes en el ciclo de 2 ondas (día 16) que en el ciclo de 3 ondas (día 19), perturbando el período interovulatorio (días 20 y 23, respectivamente) (Giraud, 2014).

La evolución folicular es controlada por hormonas secretadas por la hipófisis, CL y folículos. Se observó que cada onda folicular siempre precede al pico de FSH. Se piensa que este pico es esencial para la entrada de los folículos antrales en la gran cisterna folicular (4 mm) que observamos en la onda folicular. Después de que comienza la onda, el folículo dominante inicia a generar enormes cantidades de estradiol e inhibina, que

inhiben la liberación de FSH. Con poca FSH circulante, los folículos inferiores comienzan a degenerar. El folículo dominante sigue creciendo gracias a los receptores de LH de las células de la granulosa (excepto las de la membrana). En el estro, los niveles altos de progesterona pueden afectar negativamente la frecuencia de los pulsos de LH y hacer que el folículo dominante se degenerare (Carcedo et al, 2003).

En relación a los productos foliculares, los estudios han llevado al descubrimiento de una lista extensa y aún inacabada de reguladores endogonadales que tienen roles importantes en el control autocrino, paracrino y/o endocrino de la función ovárica. Generalmente, se cree que estos elementos intraováricos regulan la cantidad y el progreso de los folículos en crecimiento principalmente al modular las gonadotropinas o las respuestas a las gonadotropinas. Sin embargo, todavía se sostiene que, al menos en el ganado, el efecto inhibitorio de los folículos dominantes sobre los subordinados se ejerce mediante de canales sistémicos en lugar de autocrinos o paracrinos (Baruselli et al, 2014).

#### **a) Reclutamiento**

Un grupo de folículos de unos 3 mm de diámetro son estimulados por un breve incremento de la hormona FSH. El pico de FSH se produce cuando el futuro folículo dominante consigue unos 4 mm de tamaño. El proceso por el cual la FSH disminuye no está claro (Rippe, 2009).

#### **b) Selección**

Este es un proceso en el que se elige un folículo por dominancia y evita la atresia, y otros folículos de la cohorte se vuelven atrésicos, posiblemente debido a niveles reducidos de FSH (Rippe, 2009).

#### **c) Dominancia**

Proceso en el que el folículo dominante ejecuta un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de nuevas poblaciones de folículos. Este efecto inhibitorio se conserva hasta que desaparece esta ventaja, cuando el folículo muere o el folículo ovula. Este folículo, que es mucho más grande que los otros folículos, es responsable de secretar estradiol y adquirir la capacidad de seguir creciendo incluso frente a otras hormonas que crean un ambiente desfavorable para otros folículos. Con la ovulación o destrucción del folículo

dominante, se genera un nuevo aumento de FSH y comienza una nueva oleada de folículos (Rippe, 2009).

El cuerpo grávido amarillo de las vacas se retiene en los ovarios durante toda la gestación, sin embargo, después de 200 días de gestación, otros órganos (placenta, glándulas suprarrenales) también deben participar como fuentes de P4, ya que el embarazo puede seguir luego de la ovariectomía en el tercer trimestre. Este fenómeno se debe a un aumento de progesterona en la circulación periférica (vena yugular) y a una disminución de progesterona en la vena ovárica, lo que hace que al final del embarazo disminuya la producción de P4 en el ovario y aumente la P4 en la placenta (Holy, 1987).

### **1.3.13. Inseminación artificial (IA) en bovinos**

En bovinos, se usa primordialmente para el mejoramiento genético, aunque también existen otros escenarios que prueban su uso. El uso global de la inteligencia artificial en la cría de ganado lechero es posible gracias al desarrollo de sistemas para evaluar la descendencia y el uso posterior del control lechero como una medida objetiva del rendimiento para seleccionar vacas lecheras (Gispert, 2007).

La IA implica la deposición instrumental de semen en el útero de una mujer antes de que suceda la ovulación. El semen recolectado usando una vagina artificial o un eyaculado eléctrico es diluido, congelado o no, y depositado en el útero por vía vaginal-cervical. Así, el producto de un solo eyaculado puede inseminar a un gran número de hembras, multiplicando enormemente la capacidad reproductiva de los machos, formando un poderoso medio de mejora y selección genética. También es un medio eficaz para combatir las ETS (Hafez et al, 2000).

#### **a) Control endócrino de la gestación**

El desarrollo embrionario está influenciado por el nivel de progesterona producido por el cuerpo lúteo (CL), que controla la trompa de Falopio y el entorno uterino. La progesterona secretada por CL estimula la actividad secretora de las glándulas endometriales, las cuales generan sustancias que se encargan de conservar el embrión hasta la formación de un tumor placentario. Estas secreciones, comúnmente denominadas "leche uterina", son absorbidas por el blastocisto y el saco vitelino y se utilizan como nutrientes en las etapas previas a la formación del saco alantoideo (Rippe, 2009).

Los embriones tienen actividad endocrina muy temprano, produciendo esteroides, prostaglandinas y varias proteínas. La secreción de progesterona y el ambiente uterino son similares en vacas gestantes y no gestantes desde la ovulación hasta el día 15, pero a partir del día 16 el embrión necesita señales para impedir la luteólisis. Durante el embarazo, la inactividad uterina se atribuye a la progesterona, que inhibe cualquier actividad contráctil, impidiendo así la expulsión del embrión o feto. Los niveles sanguíneos de progesterona materna permanecen elevados durante el embarazo (Rippe, 2009).

La progesterona (6-15 ng/ml) secretada por el CL permanece activa desde la fecundación hasta el parto y es la encargada de conservar el embarazo. No obstante, la placenta asimismo produce progesterona (1-4 ng/ml) partiendo del día 120, y si se produce luteólisis a partir del día 150, la placenta puede sostener el embarazo (Bartolomé, 2009).

Los efectos de altas concentraciones de progesterona se observaron en la evolución embrionaria temprana, mientras que las bajas cantidades se asociaron con embriones pequeños (Hernández, 2001).

#### **b) Reconocimiento materno de la gestación**

Así se llama la señal del embrión que evita que el cuerpo lúteo se rompa, prolongando la vida del CL y formando la placenta durante el embarazo. Esto incluye cambios que inhiben la liberación de  $\text{PGF2}\alpha$ , alteran el entorno uterino y previenen el rechazo inmunitario embrionario. Los monocitos del trofoblasto secretan interferón  $\tau$  alrededor del día 16, que inhibe la síntesis de receptores de estrógenos y de oxitocina, inhibiendo así la secreción de  $\text{PGF2}\alpha$ , previniendo la luteólisis y asegurando la persistencia de la LC. Los embriones también pueden alterar el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular, la motilidad humoral, las respuestas de CL a las prostaglandinas, la secreción uterina y la actividad metabólica, la transferencia de nutrientes, la acción inmunitaria y el desarrollo de las glándulas mamarias. La presentación fetal de antígenos de histocompatibilidad puede provocar una respuesta inmunitaria de los linfocitos T maternos, no obstante, esto no ocurre (Bartolomé, 2009).

Los esteroides (estrógenos y progesterona) tienen efectos proinflamatorios y antiinflamatorios, correspondientemente. En la evolución embrionaria y fetal, la

progesterona se encarga de suprimir la respuesta inmune a los tejidos embrionarios y fetales, intentando que no se comprometa la respuesta inmune a los agentes infecciosos. En definitiva, la progesterona afecta a la diferenciación de las células T, lo que favorece que se produzca citoquinas por parte de las células Th-2 e inhibiendo la de las células Th-1, permitiendo el injerto (Bartolomé, 2009).

El reconocimiento materno del embarazo es un proceso fisiológico por el cual el embrión anuncia su presencia en el aparato reproductor materno a través de señales moleculares, como la secreción de interferón tau (IFN-t), para impedir que se libere este mecanismo. La PGF2 $\alpha$  actúa sobre el cuerpo lúteo para prolongar su vida útil y garantizar la producción de progesterona, manteniendo así el embarazo. Los eventos que afectan este proceso fisiológico son las interacciones de diferentes órganos como el ovario, el útero y el embrión. Si bien se considera que el IFN-t es la principal señal materna para el reconocimiento del embarazo, es importante tener en cuenta el papel que desempeñan los estrógenos, la progesterona y las prostaglandinas en los procesos de señalización molecular que se producen en la ventana de implantación (López, 2008)

La muerte embrionaria temprana representa la mayor proporción de abortos espontáneos (40-60%), el fallecimiento embrionario tardía representa el 10-15% y la muerte fetal representa el 5-15%. Las causas del aborto espontáneo son de naturaleza variada y se relacionan con la alta producción de leche, el intervalo entre partos y la primera ovulación, la profundidad del balance energético negativo, los problemas posparto, el tiempo y el método de inseminación, las particularidades de la dieta, el estrés por calor, la infección uterina y los factores genéticos (Hernández, 2001).

#### **1.3.14. Ecografía reproductiva**

Durante los últimos 25 años, ha sido una técnica valiosa ampliamente utilizada para estudiar y evaluar el estado anatómico y funcional de los órganos reproductivos en bovinos y otras especies de interés ganadero. Permite la observación rápida de los órganos reproductivos sin causar ningún daño (Perea, 2005).

Funciona basado en la emisión y recepción de ondas sonoras de alta frecuencia (inaudibles para el oído humano) desde un transductor o sonda de ultrasonido insertado en el recto que examina los órganos reproductivos de la vaca a través de sus paredes. Las

frecuencias comunes para la valoración de órganos reproductivos en animales grandes como el ganado son 3,5, 5,0 y 7,5 MHz. Las estructuras relativamente pequeñas, como el folículo más cercano al transductor, se pueden estudiar con frecuencias entre 5,0 y 5,0. 7,5 MHz. En comparación, a 3,5 MHz, se pueden ver grandes estructuras cerca del sensor, como el feto y el útero en el segundo y tercer trimestre (Perea, 2005).

El equipo de ultrasonido consta de un transductor y un cuerpo que integra un monitor de TV y un osciloscopio electrónico. El cuerpo del dispositivo transmite una corriente eléctrica que hace vibrar los cristales transductores, estos generan ondas ultrasónicas hacia el tejido (reflejándose y/o atravesándolas, según su naturaleza y densidad). La onda reflejada produce un eco de retorno, que es captado nuevamente por el cristal y enviado al osciloscopio, donde se convierte en una imagen (Perea, 2005).

#### **a) Aplicación de la ecografía en reproducción animal**

Los campos de aplicación de la ecografía son muy amplios y se han incrementado últimamente gracias a la biotecnología reproductiva. Solo para comentar algunos de los muchos usos de las máquinas de ultrasonido en estas áreas, tenemos (Perea, 2005).

- Estudia los ovarios y el útero en el ciclo estral y el embarazo.
- Diagnóstico patológico del aparato reproductor.
- Diagnóstico precoz del embarazo.
- Diagnóstico temprano del sexo fetal.
- Estudia la dinámica del folículo - ondas foliculares.
- Directrices para la aspiración y aspiración de folículos y recogida de ovocitos.
- Estudios de viabilidad embrionaria.
- Determinar la edad gestacional.
- Evaluación ginecológica de donantes y receptoras de embriones.
- Determinación del tiempo de inicio de la superovulación de la donante.
- Estimación de la respuesta de superovulación.
- Un estudio de agentes luteolíticos para sincronizar los momentos estrales.
- Valoración de la respuesta ovárica a otros sistemas de sincronización estral.
- Diagnóstico del momento y/o tasa de ovulación del servicio (yegua-cerda).
- Identificar gestaciones múltiples (oveja, cabra, cerda, perra).
- La temprana determinación de los gemelos de dejar uno atrás.
- Uso en hombres para estudiar glándulas accesorias, testículos y epidídimo.

### **b) Modo de exploración**

Realizar exámenes reproductivos transrectales a los animales en la estación, utilizando los métodos de contención disponibles en la instalación, y también según el tipo de ecógrafo a utilizar. Los movimientos exploratorios son similares a los utilizados en la palpación. Ciertos escritores recomiendan vaciar la ampolla rectal, que no siempre es necesario (Boyezuk, 2007).

Los exámenes de rutina implican la visualización de todo el útero. Se pueden obtener imágenes horizontales y verticales de ambos altavoces, evaluando paredes y contenido. Distintos estados patológicos, como metritis, piometra, hidrosálpinx, etc., pueden detectarse precozmente, para determinar el plan de tratamiento (Boyezuk et al, 2007).

### **c) Diagnóstico de gestación**

A los 25 a 28 días después de la inseminación, con poca o ninguna manipulación de los genitales, el saco gestacional se puede detectar con precisión (95 %) con un riesgo mínimo de pérdida. La preñez se puede detectar antes (20 días después de la inseminación) Este es un aumento práctico ya que el porcentaje de pérdida de preñez en vacas está entre el 6% y el 14% entre 20 y 56 días después de la inseminación. Por lo tanto, de manera rutinaria todas las mujeres diagnosticadas con embarazo por ultrasonido alrededor de 25 días después de la inseminación deben volver a examinarse a los 60 días, cuando las tasas de pérdida se reducen (Boyezuk et al, 2007).

## **1.3.15. Semen sexado**

El uso de semen de coito en la IA es un gran avance en la ganadería bovina ya que posibilita lograr un porcentaje elevado de crías hembras para continuar inmediatamente con un programa de mejora genética u obtener las razas que rastreamos en nuestros establos. Los espermatozoides sexuales se obtienen mediante un proceso llamado citometría y se basan básicamente en la diferencia entre los cromosomas X (femenino) e Y (masculino) (Serrano, 2009).

### **a) Limitaciones del uso de semen sexado “x”**

Hay varias razones importantes para restringir el uso de semen. Uno de los elementos importantes son las tasas de embarazo más bajas, esto se debe a que el

procedimiento de sexado reduce significativamente la motilidad de los espermatozoides en balance con el semen procesado normalmente. El proceso de sexado de espermatozoides mediante equipos de citometría de flujo permite que solo entre el 30 % y el 40 % de los espermatozoides pasen por el selector a una velocidad de unos 100 km/h para el sexado y la recuperación. El uso comercial de semen sexual solo es posible con recuentos de espermatozoides muy bajos (alrededor de 2 millones) por pajuela, ya que el proceso es considerablemente lento e ineficiente. Además, dado el alto costo del equipo de citometría de flujo (cerca de \$250,000) y la cantidad de trabajo especializado, esto encarece el semen comercial (Serrano, 2009).

### **b) Principios básicos del sexado de semen**

La selección del sexo se basó en una diferencia de 3,6% a 4,0% en los núcleos de ADN de esperma de toro X e Y. Estas diferencias varían según la raza: 4,22% para Jersey, 4,07% para Angus, 4,01% para Holstein, 3,98% para Hereford y 3,7% para Brahman. (Garner, 2006) y está fundamentado en la diferencia de los tamaños de los cromosomas X e Y (Jhonson, et al, 1999).

El uso del colorante Hoechst 33342, que es altamente permeable a las membranas espermáticas viables durante la incubación, es clave para la selección de espermatozoides viables. Los avances tecnológicos han hecho que el proceso sea más eficaz, lo que posibilita una selección logarítmica progresiva desde 350 000 espermatozoides por hora hasta 7,5-100 millones de espermatozoides por hora y una pureza de esperma X o Y del 90 %. Se informó que los primeros productos de terneros presexuados contenían esperma comercial seleccionado en una pipeta de 0,5 ml con un 30 % de motilidad y un 40 % de integridad del acrosoma, y una concentración de 2 millones de espermatozoides (Jhonson, et al, 1999).

El proceso selectivo de espermatozoides X e Y posee estas etapas: el ADN se incuba con colorante fluorescente durante 45 minutos a 34,5 °C, se expone a luz láser, los espermatozoides se separan en gotitas (diluidas de 1000 a 1500 veces), los espermatozoides individuales se incuban en recipientes presurizados líquido Paso acelerado a 90 km/h, y centrifugación final a concentración previo al embolsado y congelación, todo el proceso provoca daños que alteran la estructura espermática, incluyendo precapacitación, motilidad reducida y termotolerancia. No obstante, los



resultados de la inseminación artificial en las últimas dos décadas han demostrado que no afecta las tasas de concepción en las novillas (Jhonson, et al, 1999).

Con base en muchos estudios realizados desde 1998, se espera que las aplicaciones comerciales utilicen 2,1 millones de espermatozoides de un sexo, generalmente recomendado para novillas Holstein, que mantienen la fertilidad entre el 75 % y el 100 % en comparación con el semen convencional entre el 80 %. 15 millones de dosis (Dejarnete *et al.*, 2009). Asimismo, en estudios donde se seleccionaron de 3,5 a 5 mill de espermatozoides para un sexo, las tasas de embarazo no compensaron el valor de la dosis de semen (Dejarnette *et al.*, 2011).

### c) Inseminación artificial con semen sexado

Las dosis comerciales de semen se basan en 2 millones de espermatozoos seleccionados para un sexo, mucho menos que las pajuelas tradicionales (>15 millones/dosis). No obstante, hay una serie de estudios que utilizan de 2 a 10 millones de espermatozoos del sexo "X" que informan tasas de preñez variables en novillas (DeJarnette *et al.*, 2011).

Un análisis de 2.369 vacas lecheras posparto (DEL) y semen de sexo "X" con un tamaño de camada promedio de 1,9 no encontró ningún efecto sobre las tasas de preñez para los factores que afectan el manejo del rebaño, la cantidad de servicios, la paridad y los efectos del mercado alcista. No hubo diferencia estadísticamente significativa ( $p>0.1$ ) en la tasa general de preñez entre la primera (30.4%), segunda (31.1%) y tercera (25.6%) vacas (DeJarnette et al., 2009).

**Tabla 1.2**

*Tasa de preñez de vaquillas y vacas inseminadas con semen seleccionado "X"*

Investigador	Condición	Raza	Espermat./dosis	N	Preñez
Borchersen y Peacock, 2009	Vaquilla	Holstein	2.0 x 10 <sup>6</sup>	554	49.3%
Villanueva y mellisho, 2011	Vaquilla	Holstein	2.0 x 10 <sup>6</sup>	106	42.7%
Dejarnette, 2008	Vaquilla	Holstein	2.1 x 10 <sup>6</sup>	48200	45 %
Dejarnette, 2008	Vacas 1 a 3 partos	Holstein	2.1 x 10 <sup>6</sup>	2298	27%
Dejarnette, 2008	Vacas 1 a 3 partos	Holstein	3.5 x10 <sup>6</sup>	790	29%
Dejarnette, 2008	Vacas 1 a 3 partos	Holstein	5.0 x 10 <sup>6</sup>	790	30.3%

Fuente: (Fortune, et al, 1994).

En la tabla 1.2 se resumen los trabajos de investigación sobre inseminación artificial utilizando semen “X” en otras situaciones de gestión, nutrición, sanidad, toro, estado fisiológico, animal, etc., y los resultados exponen que puede ser aplicada en vacas lecheras y novillas (Seidel, 2007).

En los rebaños lecheros, la capacidad de seleccionar el sexo de las vaquillas y las crías de las vacas es muy práctica y económicamente importante. Con el diagnóstico de sexo, los donantes de élite producirán más terneros de reemplazo en vacas (receptoras) de calidad baja a media en el hato. En ciertos países, la técnica de determinación del sexo de un embrión por biopsia es una técnica de rutina, y el método es simple y muy preciso, incluso en condiciones de rebaño (Seidel, 2007).

#### **d) Análisis económico del uso de semen sexado en la inseminación artificial**

En una empresa láctea, la gestión de la estructura de costos, ingresos y beneficios debe ser un instrumento de uso frecuente para la tomar decisiones que le permitirán manejar de manera más eficaz los procesos que implican producir cantidad y calidad de leche y carne (Giudice, 2014).

El uso de la tecnología reproductiva obedecerá del costo requerido para producir descendencia viva, no obstante, en este caso el enfoque está en producir futuras hembras de reemplazo con alta calidad genética para que el nivel genético de la descendencia de transferencia de embriones sea mayor en mejoramiento genético. (Giudice, 2014).

#### **e) Descongelación de la pajilla de semen sexado**

- La zona donde se descongela la pajilla debe estar tibia y libre de corrientes de aire. Los expertos sugieren conservar calientes todos los equipos que entren en contacto con la paja (cortapajas, fundas, pistolas, camisetas sanitarias, etc.).
- Transfiera la pipeta de la botella de nitrógeno a la botella descongelada dentro de 5 a 10 seg.
- La paja debe descongelarse en agua a 35°C durante 30 segundos.
- Antes de cortar la pajilla, agitar un poco para trasladar las burbujas de aire hacia el extremo doblado. Hay burbujas de aire en el medio de la pajita de ABS.
- Sacudir una pajilla no dañará los espermatozoides ni reducirá su fertilidad (Serrano, 2009).

Una vez montada la pistola de inseminación, cúbrala con un pañuelo y conservar cerca del cuerpo para impedir que la pajilla sufra un choque térmico que puede dañar los espermatozoides y reducir su fertilidad (Serrano, 2009).

#### **f) Ventajas de un semen sexado**

Las principales ventajas son las siguientes:

- Más crías hembras.
- Partos más fáciles.
- Más leche en las primeras lactancias (Giudice, 2014).

#### **g) Precauciones en la utilización del semen sexado**

El semen sexado es una excelente herramienta, con gran futuro, pero hay que saber utilizarla. Es una tecnología que rinde frutos plenamente cuando esta todo en orden. Si lo vinculado al manejo, especialmente lo que se refiere a detección de celo y a la técnica de IA, está afinado. Si se utiliza con el objetivo de tener más hembras y nuestro manejo de toda la explotación es bueno y el personal está motivado y capacitado, ahí si los resultados serán excelentes (Giudice, 2014).

#### **h) Algunas limitantes**

Es importante tener en cuenta que en la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vaquillas tiene mayor éxito que en las vacas, para preñar con el semen sexado. Además, en general el semen sexado tiene menor % de éxito que el semen convencional.

- Semen convencional: 60 – 65% preñez a primer servicio.
- Semen sexado: 35 – 40% preñez a primer servicio.

No de todos toros hay semen sexado disponible, por esto es necesario considerar a la selección de toros que se usan en semen sexado para asegurar la variabilidad genética en el país. Otra condición para utilizar exitosamente semen sexado, es asesorarse muy bien. El productor debe conservar el tema muy bien con su veterinario de confianza y repasar con él y con su equipo humano del campo todos los detalles de manejo en general y reproductivo en particular. Además, debe revisar con su asesor en nutrición la alimentación de las vacas y vaquillonas al momento del servicio para reducir la posibilidad de los fallos de la preñez (Giudice, 2014).

### **1.3.16. Determinación de niveles de progesterona (DIAsource PROG-RIA-CT Kit)**

#### **a) Actividad biológica**

La Progesterona es una hormona esteroidal, la pregnenolona en la membrana lútea y las células de la granulosa se sintetiza a partir del colesterol bajo la influencia de la LH. Los sitios más productivos son los ovarios y la placenta, y algunos se encuentran en la corteza suprarrenal, tanto en varones como en hembras. La progesterona es metabolizada velozmente en el hígado. Los niveles en sangre son muy bajos en la etapa folicular, mientras que se observan elevaciones durante la fase lútea del ciclo estral, logrando su punto máximo entre los días 5 y 10 del pico de LH en la mitad del ciclo (Diasource, 2014).

#### **b) Aplicaciones clínicas**

Los niveles séricos de progesterona, que disminuyen en la etapa folicular, aumentan en la etapa lútea del ciclo estral. A menos que esté embarazada, los niveles de progesterona bajan 4 días antes de su próximo celo. Por lo tanto, medir los niveles de progesterona es un método comprobado de detección de la ovulación. No obstante, en varios casos también es interesante medir de la progesterona (Diasource, 2014).

- Comprueba la eficacia de la inducción de la ovulación.
- Supervise la transferencia de embriones y la terapia de reemplazo de progesterona.
- Detección de pacientes con riesgo de aborto espontáneo al inicio del embarazo.
- Ayuda a diagnosticar el embarazo ectópico.

Detección de todos los tumores de ovario (benignos y malignos) en mujeres posmenopáusicas El perfil de esteroides en el líquido folicular y la relación E2/PROG pueden detectar la inducción de la ovulación normal o disfuncional. (El síndrome del folículo vacío puede reflejar una disfunción de la inducción de la ovulación).

#### **c) Principios del método**

El esteroide a probar está presente en la muestra o calibrador a través del sitio de unión del anticuerpo inmovilizado en la pared del tubo de polietileno. No se requiere extracción ni cromatografía. Luego de 2 h de incubación en un baño de agua a 37°C, la aspiración detiene la reacción de competición. Lavar el tubo con 3 ml de solución de lavado y aspirar nuevamente. (Diasource, 2014).

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1. Ubicación**

Se efectuó en las instalaciones del establo Sociedad Ganadera “El Sequión S.A.”, ubicado en el Km. 38.5 de la Antigua Panamericana Sur, distrito de Lurín, provincia de Lima, región de Lima. Entre los meses de setiembre a diciembre del año 2016.

#### **2.2. Materiales y equipos**

##### **2.2.1. Materiales**

- Material biológico (163 vacas raza holstein, 1 a 3 servicios, edad de 2 a 8 años y un periodo de lactación menores a 120 días)
- Análogo de GnRH (acetato de buserelina)
- Tubos vacutainer sin anticoagulante (rojo)
- Agujas N° 21 y 18
- Capuchón
- Jeringas de 1ml
- Algodón
- Alcohol
- Guantes obstétricos
- Guantes quirúrgicos
- Gel ecográfico
- Micro pipetas de 100 ul
- Micro pipetas de 50 ul
- Crioviales
- Kits para determinación de progesterona
- Tubos eppendorf
- Coche de inseminación
- Tanque de nitrógeno

- Nitrógeno líquido
- Semen sexado importado
- Pistola de inseminación
- Termo para inseminación
- Fundas
- Tijera

### **2.2.2. Equipos**

- Refrigeradora
- Centrífuga
- Equipo de ELISA
- Ecógrafo para diagnóstico de preñez

## **2.3. Problemas**

### **2.3.1. Problema general**

¿Cómo será el efecto de la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez en vacas Holstein de crianza intensiva?

### **2.3.2. Problemas específicos**

1. ¿De qué manera afectará la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas Holstein de crianza intensiva?
2. ¿De qué manera afectará la aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas Holstein de crianza intensiva?
3. ¿Cuáles serán los niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación?

## **2.4. Metodología**

En el presente trabajo se inseminaron vacas (raza Holstein) que presentaron sólo celo natural, la cual fue determinado con el podómetro que poseen individualmente, corroborado con la palpación rectal, las vacas en estudio fueron menores o iguales a tres

servicios, con una edad mayor de 2 años hasta los 8 años, con una condición corporal de 2.25 a 2.75 que fue evaluado por el profesional encargado de la inseminación; y que no hayan presentado ningún problema post-parto. Las vacas sólo se tomaron por única vez en el estudio, en caso la vaca no preñó y presentó celo ya no se consideraron por segunda vez. Las vacas fueron asignadas en tres tratamientos en forma aleatoria: T1 (testigo = 55 vacas), T2 (aplicación de GnRH al quinto día post-inseminación = 53 vacas) y T3 (aplicación de GnRH al séptimo día post-inseminación = 55 vacas). La aplicación del análogo de GnRH (acetato de busserelina, 1ml/vaca o una dosis de 0.0042mg, Gonavet Veyx<sup>®</sup>, Lab. Ecuphar) se realizó en las horas de la mañana vía intramuscular; a los 5 ó 7 días post-inseminación de acuerdo al tratamiento que perteneció. La inseminación se realizó con semen sexado (concentración de  $2.0 \times 10^6$ ) importado de Estados Unidos y el diagnóstico de preñez se le practicó a partir del día 35 post-inseminación ayudados de un ecógrafo.

La toma de muestra sanguínea se realizó a los 10 y 21 días, posterior a la inseminación artificial. La muestra de sangre se tomó de la vena coccígea en tubos vacutainer, sin coagulante (tapa roja) y en una cantidad de muestras de vacas para cada grupo experimental de manera aleatoria (T1: 22 muestras, T2: 22 muestras y T3: 24 muestras)

Las muestras sanguíneas colectadas fueron llevadas inmediatamente culminado la extracción al Laboratorio de Reproducción Animal de la UNMSA, demorando en el trayecto aproximadamente de 1 hora con 30 minutos para su extracción de suero sanguíneo, mediante centrifugación con una gravedad 2500 rpm por 15 minutos y una vez extraído se procedió a congelamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , durante el tiempo que se completaba el total de muestras aproximadamente 2 meses.

Los sueros obtenidos en el Laboratorio de Reproducción Animal de la UNMSA, fueron llevados al Laboratorio Clínico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, para el análisis de los niveles de progesterona (P4), mediante el kit DIASource PROG-RIA-CT, de las diferentes vacas en estudio.

## **2.5. Análisis estadístico procedimental**

Los datos se procesaron con el paquete estadístico SAS®.

Usando la prueba estadística de chi cuadrado se determinó la tasa de preñez entre grupos experimentales y la prueba no paramétrica Kruskal – Wallis para comparar los niveles de progesterona. Se consideró diferencias significativas cuando  $p < 0.05$ .



## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Efecto de la aplicación de la GnRH al día 5 o 7 post inseminación sobre la tasa de preñez en vacas holstein de crianza intensiva

**Tabla 3.1**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein de crianza intensiva*

Diagnóstico de Preñez	Día de aplicación del análogo de GnRH							
	T1 (Testigo)		T2 (Análogo GnRH, Día 5)		T3 (Análogo GnRH, Día 7)		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Preñadas	4	7.3 <sup>a</sup>	16	30.2 <sup>b</sup>	9	16.4 <sup>c</sup>	29	17.8
Vacías	51	92.7 <sup>a</sup>	37	69.8 <sup>b</sup>	46	83.6 <sup>c</sup>	134	82.2
<b>Total</b>	<b>55</b>	<b>100.0</b>	<b>53</b>	<b>100.0</b>	<b>55</b>	<b>100.0</b>	<b>163</b>	<b>100.0</b>

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba chi cuadrado.

n = número de animales.

En la tabla 3.1, se presentan los resultados del porcentaje de preñez en vacas Holstein con celo natural que fueron tratadas con acetato de buserelina (análogo de la GnRH) al día 5 (T2) o día 7 (T3) post-inseminación artificiales con semen sexado importado. En general, se puede observar que la aplicación del análogo de la GnRH incide significativamente ( $p < 0.05$ ) en el éxito del porcentaje de preñez de las vacas, haciendo un mayor énfasis al día 5 de aplicación post-inseminación con 30.2% de vacas preñadas en comparación al día 7 con 16.4% y el grupo testigo (T1, sin aplicación de GnRH) con 7.3% de preñeces. No existen reportes sobre el uso de análogos de GnRH post inseminación artificial con semen sexado sobre la tasa de preñez en vacas lecheras. Sin embargo, nuestros resultados, son inferiores comparados a los de Pitti y Sánchez (2012) quienes usando semen convencional lograron preñeces acumuladas de 60%, 53%

y 53% para los tratamientos con GnRH al día 7, al día 12 y control, concluyendo que la aplicación de acetato de buserelina no mejoró los parámetros reproductivos. En contraposición, Collaguazo (2016), manifiesta las ventajas del uso del acetato de buserelina aplicado al día 8 post-inseminación con semen convencional mejorando los porcentajes de preñez (60%) en vacas Holstein de tercer parto en comparación a la aplicación del acetato de buserelina al día 4, al día 12 o su control (sin análogo de GnRH).

Con respecto al uso de semen sexado, los porcentajes de preñez en vacas lecheras es baja en comparación al uso de semen convencional, como lo reporta DeJarnette (2009), quien usando semen sexado “X” con dosis de  $5.0 \times 10^6$ ,  $3.5 \times 10^6$  y  $2.1 \times 10^6$  espermatozoides, logró 30.3%, 29% y 27% de preñeces en vacas lecheras de 1 a 3 partos, respectivamente. Estos resultados de preñez son muy similares al nuestro, en especial, logrados usando acetato de buserelina al día 5 post inseminación artificial. Por lo tanto, el semen sexado disminuye claramente la viabilidad espermática en comparación al semen convencional, además la concentración del semen sexado es menor (2 millones) en comparación con las pajillas del semen convencional (>15 millones) (Schenk, 2006; DeJarnette *et al.*, 2011) influyendo en los resultados de la tasa de preñez.

Las tasas de preñez que mejoran a la aplicación del acetato de buserelina en especial al día 5 post inseminación artificial, podría ser explicada en razón de que, ocurrida la ovulación, se evidencia un pequeño incremento de FSH, originando la nueva emergencia folicular que al día 5 coincidiría con niveles altos de producción de estrógenos detectados en el fluido folicular del folículo dominante en  $990 \pm 30$  ng/ml, al día 7 con  $201 \pm 73$  ng/ml y al día 11 sólo con  $9 \pm 5$  ng/ml, cantidades reportadas por Fortune *et al.* (2001). Dichos niveles de estrógenos del día 5 o día 7, ocasionaría un feed back positivo al hipotálamo para producir GnRH y así estimular la secreción de gonadotropinas en la hipófisis en especial LH, el cual es requerida para apoyar la formación y función temprana del cuerpo lúteo de la ovulación previa, reorganizando los restos tisulares del folículo para dar lugar a un cuerpo lúteo como lo manifiesta Acuña (2007) o probablemente la formación de cuerpos lúteos accesorios o folículos luteinizados. Al respecto, Baruselli (2014) menciona que las células de la íntima se vuelven células de menor diámetro, llamadas células lúteas pequeñas, mientras que las células de la granulosa se vuelven células lúteas más grandes, igualmente denominadas células lúteas grandes. Los dos tipos de células lúteas secretan progesterona, pero las células pequeñas poseen casi todos los

receptores de LH y poseen una respuesta seis veces más grande cuando se exponen a la LH. y posiblemente tienen mayor acción los días 4 – 5 post-inseminación, que las células grandes en términos de la secreción de progesterona. El incremento inicial de la secreción de progesterona desde el cuerpo lúteo es necesario entre el día 3 al día 7 o que el endometrio uterino garantice un ambiente apropiado para el desarrollo embrionario del día 6 al día 13, son algunos factores de entre otros, que afectan el establecimiento de la preñez en vacas lecheras (Evans *et al.*, 2010).

### 3.2. Efecto de la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas holstein de crianza intensiva

**Tabla 3.2**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de parto*

Número de parto	Día de aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina)		
	T1 (Testigo)	T2 (Análogo GnRH, Día 5)	T3 (Análogo GnRH, Día 7)
	%	%	%
1er. Parto	13 <sup>a</sup>	31.8 <sup>b</sup>	19.2 <sup>c</sup>
	(3/23)	(7/22)	(5/26)
2do. Parto	0 <sup>a</sup>	29.4 <sup>b</sup>	7.7 <sup>c</sup>
	(0/15)	(5/17)	(1/13)
> 3 partos	5.9 <sup>a</sup>	28.6 <sup>b</sup>	18.8 <sup>c</sup>
	(1/17)	(4/14)	(1/16)

Nota: Letras iguales en sentido horizontal indican que hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba de Chi cuadrado

Tabla 3.2, presenta el porcentaje de preñez a la aplicación del análogo de la GnRH post-inseminación artificial al T2 (GnRH, día 5) y T3 (GnRH, día 7) y control (T1, sin GnRH) en vacas de primer, segundo y con más de tres partos, no muestran diferencia estadística entre sí; sin embargo, las preñeces del T2 en vacas de primer parto (31.8%), segundo parto (29.4%) y con más de tres partos (28.6%) muestran diferencia estadística en comparación al T3 ( $p < 0.05$ ) y T1 (control), a su vez, las preñeces logradas con T3 muestran diferencia estadística en comparación ( $p < 0.05$ ) al T1.

No hay reportes similares donde se usen análogos de la GnRH post inseminación con semen sexado en vacas lecheras según el número de partos. Sin embargo, DeJarnette *et al.* (2009) en 2369 servicios con semen sexado “X” en vacas post-parto con 86 días en lactancia y 1.9 partos en promedio, reportaron tasas de preñez similares para vacas de 1° parto (30.4%), 2° parto (31.1%) y 3° parto (25.6%). Estos resultados, comparados con el nuestro, son similares en especial con la tasa de preñez lograda con vacas del primer, segundo y más de tres partos en el T2 (GnRH, día 5).

Según López *et al.* (2004), los resultados encontrados en un estudio, A pesar de más partos, las vacas con mayor número de partos tenían menos probabilidades de ser servidas. Esto puede deberse a la producción de leche de los animales, ya que los niveles de producción aumentan con la paridad. Las vacas primitivas produjeron menos leche que las vacas multíparas, y las vacas con mayor producción de leche tuvieron un período de estro más corto que las vacas con menor producción de leche (6,9 y 10,6 h, correspondientemente).

De otro lado, Hernández (2016) menciona que tres oleadas de vacas tienen tasas de fertilización más altas que las vacas con solo dos oleadas; esto se debe a que las vacas en dos oleadas tienen más tiempo dominante (7 días) para ovular folículos que en tres oleadas (4 días), lo que afecta el potencial del ovocito para convertirse en un embrión vivo. Por su parte Cerón y Morales, (2001) mencionan que las características de las poblaciones de folículos de vaca varían ampliamente, por lo que se debe considerar el tamaño del folículo al aplicar GnRH. Esto pudiera justificar mayor tasa de preñez en el T2 (aplicación de acetato de buserelina al día 5 post-inseminación) ya que a los 2 -3 días sean detectados la tasa de crecimiento del folículo destinado a convertirse dominante, llegando así a los 5 días un folículo dominante, en la cual la concentración del estradiol en el líquido folicular es mucho más alta (Lussier, 1987).

### 3.3. Efecto de aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas holstein de crianza intensiva

**Tabla 3.3**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de servicio*

Número de servicio	Día de aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina)		
	T1 (Testigo)	T2 (Análogo GnRH, Día 5)	T3 Análogo GnRH, Día 7)
	%	%	%
1er. Servicio	7.5 <sup>a</sup> (3/40)	27.5 <sup>b</sup> (11/40)	17.5 <sup>c</sup> (7/40)
2do. Servicio	10 <sup>a</sup> (1/10)	33.3 <sup>b</sup> (3/9)	25 <sup>c</sup> (2/8)
3er. Servicio	0 <sup>a</sup> (0/5)	50 <sup>b</sup> (2/4)	0 <sup>c</sup> (0/7)

Nota: letras diferentes en sentido horizontal indican que hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Tabla 3.3, presenta el porcentaje de preñez a la aplicación de acetato de buserelina (análogo de la GnRH) post inseminación artificial al día 5 o 7 y control en vacas preñadas con uno, dos o tres servicios, sin mostrar diferencias entre sí; sin embargo, las preñeces con el T2 (GnRH, día 5) en vacas de primer (27.5%), segundo (33.3%) y tercer servicio (50.0%), si muestran diferencia estadística en comparación al T3 (GnRH, día 7) ( $P < 0.05$ ) y T1 (control), a su vez, las preñeces logradas en T3 también muestran diferencia estadística con respecto T1 (control) ( $p < 0.05$ ).

No hay reportes similares donde se usen análogos de la GnRH post inseminación con semen sexado en vacas lecheras según el número de servicios. Sin embargo, el porcentaje de preñez del primer servicio (PPPS), las diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ) entre el tratamientos T2 con respecto al T3 y el control; este resultado es inferior a lo que obtuvieron Sheldon y Dobson (1993) de 60%, al aplicar 10 $\mu$ g de GnRH (Buserelina) en 520 vacas a los 11 días post-inseminación artificial con semen convencional y similar a los de Iglesias (2002) de 26.36% al aplicar 84  $\mu$ g de GnRH (Acetato de Buserelina) en 44 vacas de razas lecheras a los 12 días post-inseminación artificial con semen convencional.

La baja fertilidad puede ser causada por: involución uterina insuficiente, infección uterina o la presencia de un folículo o quiste del cuerpo lúteo, que puede ser causado por una alta producción de leche., Fricke y Shaver (2001). Por su parte Gordon (1999) menciona que Las características de las poblaciones de folículos de vaca varían ampliamente, por lo que se debe considerar el tamaño del folículo al aplicar GnRH. Así mismo Cerón y Morales (2001) determinaron que aplicar GnRH solo tendrá un efecto positivo en la fertilidad de vacas con un diámetro de folículo de 15 mm.

El PPSS, las diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos T2 con respecto al T3 y el control este resultado es similar a los hallados por Iglesias (2002) de 35,71%, al aplicar 84 $\mu$ g de GnRH (acetato de buserelina) en 44 vacas de razas lecheras a los 12 días post-inseminación artificial con semen convencional y superiores a los logrados por Ayala y Castillo (2010) de 20%, al aplicar 150  $\mu$ g de GnRH (acetato de buserelina) en 56 vacas lecheras al momento de inseminación artificial con semen convencional.

Así mismo, Hernández (2016) menciona que al inseminar vacas lecheras (Holstein) con semen convencional, el porcentaje de concepción fue de 30% al primer servicio, 31% al segundo servicio, 36% al tercer servicio y 35% al cuarto servicio. Al respecto, se observa en los resultados que las vacas de tercera y cuarta ración tuvieron tasas de concepción más altas que las vacas de primera y segunda ración; el efecto del número de raciones sugiere que algunas de las causas de la infertilidad de las vacas se vinculan con la proximidad del puerperio, de esta manera, al acumular más días de leche, se puede observar un aumento en la fertilidad. Las vacas en los dos primeros servicios estuvieron expuestas a elementos que podrían conducir a fallas en la concepción, como el balance energético negativo. (niveles bajos BEN 10 a 20 días, niveles moderados de BEN 70 a 80 días y niveles más profundos hasta 100 días) o cualquier dificultad vinculada con el puerperio y las vacas con tres o más servicios se mantienen alejadas de estos factores. Hay evidencia de que el balance energético afecta la función del cuerpo lúteo en el segundo y tercer ciclo posparto y reduce el potencial de los ovocitos para convertirse en embriones viables.

Los porcentajes de preñez se redujeron en las vacas servidas más de 3 veces, lo que concuerda con la conclusión de Cerón y Morales (2001) de que la capacidad para evitar la regresión lútea grávida fue menor en las vacas servidas repetidamente.

### 3.4. Niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación

**Tabla 3.4**

*Niveles de progesterona sérica total al día 10 y 21 en vacas holstein de crianza intensiva, tratadas con GnRH (acetato de buserelina) a los 5 ó 7 días post-inseminación con semen sexado*

Progesterona sérica (ng/ml)	Día de Aplicación de la GnRH					
	T1 Testigo		T2 (Análogo GnRH, día 5)		T3 (Análogo GnRH, día 7)	
	n	Media ± D.S.	n	Media ± D.S.	n	Media ± D.S.
Día 10	22	7.2 <sup>a</sup> ± 6.0	22	12. 0 <sup>a</sup> ± 8.3	24	10.7 <sup>a</sup> ± 10.1
Día 21	22	6.4 <sup>a</sup> ± 4.4	22	10.8 <sup>a</sup> ± 12.4	24	9.5 <sup>a</sup> ± 7.6

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba no paramétrica kruskal – wallis.

n = Número de animales.

En la tabla 3.4, se presentan los niveles de progesterona plasmática total (ng/ml) medidas al día 10 y 21 post-inseminación y que fueron tratadas con análogo GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación artificial. Se puede observar que las medias de progesterona plasmática evaluados en el día 10 post-inseminación en las vacas del T1 (Sin GnRH), T2 y T3 cuyos valores fueron de 7.2, 12.0 y 10.7 ng/ml, respectivamente, no evidencian diferencias significativas entre sí ( $p < 0.05$ ). De igual manera, respecto a las medias de progesterona plasmática evaluados al día 21 post-inseminación en las vacas del T1, T2 y T3 cuyos valores fueron de 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml, respectivamente, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ), por lo que no podemos asegurar que la aplicación de la GnRH provoque un incremento significativo del nivel de progesterona plasmática al día 10 y día 21 post-inseminación. Sin embargo, podemos manifestar que este ligero incremento de progesterona al día 10 y al día 21 en el T2 podría deberse a la mejor organización tisular del cuerpo lúteo de las células tecales pequeñas favorecidas por la LH hipofisaria adicional producto de la aplicación exógena del acetato de buserelina.

Collaguazo (2015), muestra en sus resultados del grupo testigo una concentración de 12,47 ng/ml de progesterona (P4) al día 11, cifra mayor a nuestro resultado (T1=7,2 ng/ml) cuya diferencia podría estar relacionada al posible aumento del tejido lúteo o que el cuerpo luteo se encuentre en la etapa de su máximo desarrollo.

Kastelic *et al.* (1990) consideran que el incremento de la P4 sérica puede estar influenciado por la edad, el número y la calidad del cuerpo lúteo auxiliar formado, el cuerpo lúteo en gestación o el cuerpo lúteo en estro. El análisis de los niveles séricos de P4 en el grupo de control (T1) identificó posibles diferencias en el momento de la formación del cuerpo hemorrágico y, por lo tanto, de la formación del cuerpo lúteo; esto puede determinar el número y los diferentes niveles de concentración de las células lúteas utilizadas para la secreción de P4.

Kastelic *et al.* (1990), en novillas, se demostró que el área de tejido lúteo determinada por ultrasonografía se correlacionó positivamente con las concentraciones circulantes de P4; por lo tanto, se informó que el CL derivado de ciclos cortos era pequeño ( $10 \pm 2,0$  mm) y los niveles de P4 eran  $2,75 \pm 0,55$  ng/ml, mientras que los valores de P4 de los CL de ciclos normales posteriores fueron de  $10,15 \pm 0,58$  ng/ml, lo que sugiere que los CL de ciclo corto son funcionalmente similares en longitud a los ciclos normales, pero producen menos P4 debido a su pequeño tamaño.

Por su parte, Smith (1986) se encontró que el nivel de P4 en la sangre de las vacas preñadas se mantuvo más o menos en 10 ng/ml durante todo el embarazo; comenzó a disminuir alrededor de 15 a 30 días antes del parto, alcanzando solo 0.5-1 ng/ml en el parto ml de sangre.



**Tabla 3.5**

*Niveles de progesterona (ng/ml) al día 10 y 21 en vacas holstein de crianza intensiva vacías y preñadas tras la aplicación de GnRH (acetato de buserelina) a los 5 o 7 días post-inseminación con semen sexado*

Niveles de progesterona (ng/ml)	Condición	Tratamientos					
		T1 (control)		T2 -Análogo GnRH, día 5		T3 -Análogo GnRH, día 7	
		n	Promedio ± DE	n	Promedio ± DE	n	Promedio ± DE
Día 10 post-inseminación	Preñadas	2	8.75 <sup>a</sup> ±4.60	8	14.00 <sup>a</sup> ±10.51	3	107 <sup>a</sup> ±9.57
	Vacías	20	7.06 <sup>a</sup> ±6.24	14	14.55 <sup>a</sup> ±15.12	21	10.11 <sup>a</sup> ±10.29
Día 21 post-inseminación	Preñadas	2	15.00 <sup>a</sup> ±2.83	8	14.55 <sup>a</sup> ±4.61	3	17.33 <sup>a</sup> ±2.08
	Vacías	20	6.26 <sup>a</sup> ±4.21	14	9.39 <sup>a</sup> ±15.12	21	8.34 <sup>a</sup> ±7.39

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis.

n = Número de animales.

En la tabla 3.5 se presentan los niveles de progesterona plasmática en vacas Holstein vacías y preñadas tras la aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina) a los 5 ó 7 días post IA medida al día 10 y 21 post-inseminación. Se puede observar que las medias de progesterona plasmática evaluados al día 10 post-inseminación en las vacas preñadas del T1, T2 y T3 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) y vacas vacías (7.06, 14.55 y 10.11 ng/ml respectivamente) no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ). De igual manera, las medias de progesterona plasmática evaluados en el día 21 post-inseminación en las vacas preñadas del T1, T2 y T3 (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) y vacas vacías (6.26, 9.39 y 8.38 ng/ml respectivamente) no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ), por lo que no podemos asegurar que la aplicación de la GnRH provoque un mayor aumento del nivel de progesterona plasmática al día 10 y día 21 post-inseminación en vacas preñadas. Sin embargo, los niveles de progesterona al día 21 en vacas vacías (en especial en T2 y T3) podrían evidenciar una muerte embrionaria temprana o tardía que podrían reflejarse en la extensión o no del ciclo estrual.

Al respecto, Jiménez (2009), menciona que hacia el día 21 - 24 posterior al servicio la medición de progesterona en la leche en vacas preñadas es mayores a 8 ng/ml y al día 35, la proteína B específica de la preñez; así mismo en vacas sin fertilizar y que sufrieron muerte embrionaria temprana al día 21 – 24 posterior al servicio, la medición de progesterona es menor de 8 ng/ml y proteína B específica a la preñez es indetectable.

A si mismo Dunne (2000), Se cree que aproximadamente el 30% de los embarazos fallan durante los primeros 14 días sin detección clínica; durante este período, dado que la transición de mórula a blastocisto es un período crítico para la supervivencia del embrión, la mayoría (80%) se pierde hace 8 días.

Por su parte Diskin y Morris (2008), indican que en los días 14 y 19, aproximadamente el 5-10% pierde la conciencia de la madre sobre el embarazo; luego el período de formación de la placenta, entre los días 18-28 y 30-42, en cada En esta etapa, alrededor del 5-10% de los también se pierden embriones.

## CONCLUSIONES

1. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez de las vacas holstein post-inseminación artificial, haciendo mayor énfasis en el T2 (GnRH, día 5) con 30.2% en comparación al T3 (GnRH, día 7) con 16.4% y T1 (control, sin GnRH) con 7.3% preñeces; así mismo al comparar preñeces del T3 versus T1.
2. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez en vacas holstein de crianza intensiva, con mayor énfasis en las preñeces con el T2 en vacas de primer (31.8%), segundo (29.4%) y con más de tres partos (28.6%) en comparación al T3 ( $p<0.05$ ) y T1; a su vez, las preñeces logradas con T3 son superiores ( $p<0.05$ ) a los del T1.
3. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez en vacas holstein de crianza intensiva en el T2 para vacas de primer (27.5%), segundo (33.3%) y tercer servicio (50.0%) en comparación al T3 ( $p<0.05$ ) y T1; a su vez, las preñeces logradas con T3 son superiores a los del T1 ( $p<0.05$ ).
4. La progesterona sérica total para T1, T2 y T3 al día 10 fueron en promedio 7.2, 12.0 y 10.7 ng/ml, respectivamente; asimismo, al día 21 fueron 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml, sin diferencias entre los tratamientos para ambos casos. De igual manera, la P4 en vacas preñadas en T1, T2 y T3 al día 10 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) como al día 21 post-inseminación (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) no difieren entre sí ( $p<0.05$ ).

## **RECOMENDACIONES**

1. Según los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda la administración de GnRH (acetato de busirelina) 5 días después de la inseminación artificial con semen sexado, en vacas Holstein de sistema intensivo con celo natural.
2. Se recomienda realizar otros estudios, donde se evalúe el efecto de la aplicación de la GnRH (acetato de busirelina) 5 días después de la inseminación artificial en vacas con celo inducido mediante protocolos hormonales, con semen convencional y sexado, y con animales de diferentes sistemas de producción (sistemas semi-intensivo y extensivo).
3. También se recomienda tomar como referencia este estudio para evaluar sus efectos en vacas expuestas a ambientes extremos como las altas temperaturas registradas durante el verano en la costa y selva peruana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, V. (2007). Compendio de reproducción animal. Intervet. sinervia Uruguay/Paraguay. Diciembre.
- Almeyda, J. (1998). Evaluación preliminar de aspectos productivos de vacas criollas en condiciones de explotación intensiva. Tesis Magister Scientiae. Fac. Zootecnia Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima. 141p.
- Aspron, A.M. (2004). Curso de actualización – Manejo reproductivo del ganado vacuno. *International veterinary information service*, New York, USA.
- Ayala Constante, D. y O. Castillo Rosa (2010). Efecto de la aplicación de la GnRH al momento de la inseminación artificial en vacas lecheras implementadas con dispositivos intravaginales. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola panamericana. 14p.
- Baruselli, P.S., Martínez, M.F and BO, G.A. (2014). Dinámica folicular ovárica en la bovina. Argentina: IRAC.
- Barriola, R. (2001). Informe final de las actividades de consultoría desarrolladas en el área de estadísticas agropecuarias. 2004 Set. Disponible desde: <http://www.minag.gob.pe>.
- Bartolomé, J. (2009). Endocrinología y fisiología de la gestación y el parto en el bovino. Conferencia Universidad Nacional de la Pampa. Facultad de Ciencias Veterinarias Argentina.
- Bo, A. G. (2014). Endocrinología del ciclo estral, foliculogenesis y desarrollo folicular en el bovino adulto y prepuber. Argentina: IRAC.
- BonDurant, R.T. (2007). Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. *Theriogenology*. 68: 461-473.
- Borestein, S.J. (2003). Comparación de la eficiencia de dos implantes intra-vaginales con progesterona para la sincronización de celo en bovino Nelore. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; U.A.G.R.M.
- Boyezuk, D. (2007). Ecografía Reproductiva: Precocidad Diagnóstica en Nuestros Establecimiento Ganaderos. (U. N. Plata, Ed.) La Plata, Argentina.
- Brito, R. (2009). Control de la reproducción e infecciones puerperales (selección). Felix Varela. La Habana, Cuba. 60 p.
- Caccia, M. and Bo, A. G. (2014). Principios fundamentales de endocrinología y mecanismo de acción de las hormonas. Argentina: IRAC.

- Carcedo J. and Bo, A. G. (2003). Porcentajes de preñez en vacas y vaquillonas cruza cebú tratadas con dispositivos triu-b nuevos o reutilizados en inseminación artificial a tiempo fijo. Argentina: IRAC.
- Cerón J. H., J. S. Morales (2001). Falla en la concepción en el ganado lechero: Evaluación de terapias hormonales. *Veterinaria México*. 32:279-285.
- Collaguazo V.M. (2016). Determinación de progesterone y porcentaje de preñez en vacas tratadas con GnRH al cuarto, octavo y doceavo día post-inseminación artificial. tesis para obtener título de medicina veterinaria. Universidad Nacional de Cotopaxi – Ecuador.
- DeJarnette J.M., Nebel R.L. Marshal C.E. (2009). Evaluando el éxito del semen clasificado por sexo en rebaños lecheros de EE. UU. En los registros de la granja. *Theriogenology*. 71:49 – 58.
- DeJarnette J.M., Leach M.A. Nebel R.L., Marshal C.E., McCleary C. R., Moreno J. F. (2011). Efecto del ordenamiento sexual y dosis de esperma en las tasas de concepción de vaquillas Holstein: es comparable la fertilidad de los sexos y los convencionales. *J Dairy Sci*. 94: 3477 – 3483. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4214>.
- Diskin, M.G. y Morris D. G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *ReprodDomestAnim*. 43 suppl 2: 260- 7.
- Dunne LD, Disking MG, Sreenan JM. (2000). Embryo andfoetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reprod Sci*. ; 58(1-2): 39-44.
- Echevarría, J. (2006). Endocrinología reproductiva: prostaglandina F2 $\alpha$  en vacas. *Revista electrónica de veterinaria REDVET*, Volumen II, N°01.
- Escurra, E. (2001). Situación de la ganadería lechera en Cajamarca. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 12(2):21-26
- Evans AC. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci*.; 123(3-4): 127-38.
- Evans AC., Williams EJ. Walsh SW. (2010). The Physiology of multifactorial problems limiting the establishment of pregnancy in dairy cows. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38(Supl 2): s277-s315.
- Evaristo, R. (1999). Factores que afectan el intervalo parto-primer servicio en vacas lecheras de crianza intensiva. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 59p.

- Fricke, P.M. y Shaver, R.D. (2001). Mejorando trastornos reproductivos en vacas lecheras. Instituto Bacock, Universidad de Wisconsin. E.E.U.U. 20 p.
- Fortune J.E. (1994). Crecimiento y desarrollo follicular ovarico en mamiferos. Biol Reprod; 50: 225 – 232.
- Franco, J. and Uribe, L. (2011). Bio-salud. Colombia: Vol. 11. 1657-9550.
- Franco, N. (2001). Efectos de la suplementación de multinutrientes durante el periodo seco sobre la actividad reproductiva en vacas lecheras. Tesis Bachillerato. Fac. Zootecnia Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima. 83p.
- Frandsen, R. D. (2009). Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Quinta edición. México: McGraw-Hill Interamericana ISBN 9682521270.
- Fricke, P. M. y R. D. Shaver (2001). Mejorando trastornos productivos en vacas lecheras. Instituto Bacock, Universidad de Wisconsin. E.E.U.U. 20p.
- Gamarra, M. (2001). Situación actual y perspectivas de la ganadería lechera en la cuenca de Lima. Rev. Inv. Vet. Perú, 12(2): 1-13.
- Galina. (2006). Reproducción de animales domésticos. (2a ed). Ed. Limusa. México, DF. p. 66- 87.
- Gallegos De La Hoya, M.P. y Minjares. E. A. (2010). Causas de infertilidad en bovinos lecheros y enfermedades metabólicas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Durango, México.
- García, M. (2004). Uso de base de datos en la investigación pecuaria. Rev. Mundo Veterinario. Perú, 2(5):8-18
- Garner D.L. (2006). Sexado citométrico de flujo de mamíferos esperma. Theriogenology. 65:943 – 957. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.009>.
- Giraudó, J. A. (2014). Sincronización de celos e inseminación artificial. Argentina: IRAC.
- Gispert, C. (2007). Manual merck de veterinaria. España: OCEANO/CENTRUM (MERIAL), 2007. 978-84-7841-081-8.
- Giudice, A. (2015). Semen sexado: más hembras, menos problemas y más leche. Producir XXI, Buenos Aires, 23(279):38-39. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
- González, G. (2006). Reproducción. *Virbac al Día N° 15*. <http://mvz.unipaz.edu.co>. Textos. Preproducción bovinos pdf.
- Gordon, I (1999). Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos. Trad. M. Illera. Acribia, Zaragoza, España. 514p.

- Gordon, I. (2004). Tecnología de la reproducción de los animales de granja. Trad. David N.M. España, Editorial ACRIBIA, S.A. 429 p.
- Gruzmacher A. (2014). Tratamientos hormonales post-inseminación artificial y su efecto sobre la fertilidad y mantención de la gestación en vacas en lactancia. Tesis de magister. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile.
- Hafez, B (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima Edición. McGraw-Hill ISBN 0-683-30577-8.
- Hafez, E.S.E. (1996). Reproducción e inseminación artificial. Trad. R. Palacios. 6 ed. Interamericana. Carolina del Sur, E.E.U.U. 542 p.
- Hafez, E.S.E and Hafez, B. (2000). Reproducción e inseminación artificial en animales. SOUTH CAROLINA, U.S.A.: Mc. Graw Hill, 2000. 0-683-30577-8.
- Hernández, J. (2000). Causas y tratamientos de la infertilidad en la vaca lechera. Universidad Autónoma de México, D.F. 10 p.
- Hernández, J. M. (2001). (U. A. México, Ed.) Recuperado el 20 de 11 de 2011. [www.mvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010](http://www.mvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010).
- Hernández, H. (2004). Importancia de los registros ganaderos. (2004) Ago. Disponible desde: <http://www.ganaderia.com.mx/articulos/manejo/man004.php>
- Hernández, C. J. (2014). "Causas y Tratamiento de la infertilidad en la vaca lechera". Octubre 29. Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio web: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010.pdf>.
- Hernandez, J. (2016). Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. Primera edición. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hincapie, J. J., E. C. Campo (2002). Técnicas para mejorar la eficiencia reproductiva en animales de granja. Editorial Prografic. Tegucigalpa, Honduras. 445 p.
- Hincapie, J. J; Brito, R; Campo. E. (2005). Reproducción animal aplicada: Fundamentos de Fisiología y Biotecnología. 2a ed. Editorial Litocom. Tegucigalpa, Honduras. 200 p.
- Holy, L. (1987). Bases Biológicas de la Reproducción Bovina. (2º edición ed.). México: DIANA, S.A.



- Iglesias, C. (2002). Aplicación post-parto de GnRH y PGF2 $\alpha$  para estimular la reactivación ovárica y la fertilidad en ganado lechero. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 23p.
- Jimenez, C. (2009). Mortalidad embrionaria en bovinos causas, herramientas diagnósticas y alternativas para su manejo. UN.FMVZ.
- Johnson L.A. y Welch G.R. (1999). Sexo preselección: flujo de alta velocidad clasificación citométrica de espermatozoides X e Y para máxima eficiencia teriogeno, 52(8): 1323 – 1341.
- Kastelic J, Bergfelt D, Gunther O. Relationship (1990). Between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology; 1269-78.
- López, J. (2002). Las nuevas estrategias de información agraria. Ministerio de Agricultura (MINAG). Dirección General de Información Agraria. 2003 Dic. Disponible desde: <http://www.minag.gob.pe>
- López H, Satter LD, Wiltbank MC. (2004). Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. Anim Reprod Sci 81: 209-223. doi: 10.1016/j.anireprosci.- 2003.10.009
- López, A. E. (2008). Reconocimiento materno de la preñez e implantación del embrión: modelo bovino. Anelecta Vet.
- Lussier, J.G. Matton, P. Dufour, J.J. (1987). Las tasas de crecimiento de los folículos en el ovario de la vaca. J Reprod Fertil; 81: 301 – 7.
- Masías, L. (2001). Informe final de la consultoría para el diagnóstico base para el sistema de información agraria. 2003 Dic. Disponible desde: <http://www.minag.gob.pe>
- Mellisho, E. (1998). Evaluación de parámetros reproductivos en vacas Holstein de tres establos de la cuenca lechera de Lima. Tesis Bachillerato. Fac. Zootecnia Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima. 84p.
- Mérida, C. (2007). Comparación de la actividad ovárica de las vacas f1 (brahman – Holstein) durante la época seca y la época lluviosa en un hato de la costa sur de Guatemala. Tesis, Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Monzón, S. (2002). Parámetros reproductivos de vacas Holstein en Santa Rita de Sihuas – Arequipa en el período 1994-1997. Tesis Bachillerato. Fac. Zootecnia Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima. 78p.

- Nebel, R. (1996). Notas de investigación sobre la importancia del primer servicio. Hoard's dairyman en español. Febrero. pp. 165 – 166, México.
- Olivera, S. (2001). Índices de producción y su repercusión económica para un establo lechero. Rev. Inv. Vet. Perú, 12(2):49-54
- Parreño, J. (1991). Evaluación del manejo reproductivo del establo lechero “La Esperanza”, Santa Rita de Sihuas – Arequipa durante el período 1979-julio 1982. Tesis Bachillerato. Fac. Zootecnia Univ. Nac. Agraria La Molina, Lima. 66p.
- Perea, F. (2005). Ecografía Reproductiva. En Manual de Ganadería. (pág. 58 pdf). Trujillo, Venezuela.
- Pérez, E. 1998. Sistemas descentralizados de información pecuaria. Programa de Investigación en Medicina Poblacional, UNA. En: Seminario en reproducción y servicios informáticos en bovinos. Paraguay.
- Pinto Portillo, M.T. y M.R. Chacón García Salas. (2009). Comparación de las concentraciones plasmáticas de Progesterona en vacas implantadas con dispositivos intra-vaginales y vacas gestantes. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 21 p.
- Pitti S. Sánchez D. (2012). Concentración de progesterona y porcentaje de preñez en vacas tratadas con GnRH post-inseminación artificial. Tesis. Departamento de ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras.
- Ramírez, C. (2006). Introducción y sincronización de celo con implante intra-vaginal (CIDR) más estrógenos y prostaglandinas F2 $\alpha$  en vacas holstein friesian mestizas. Tesis Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Escuela de Ingeniería. Ecuador.
- Rippe, C. (2009). El Ciclo Estral. Dairy Cattle Reproduction Conference.
- Schenk J. L., Suh T.K., Seidel G. E. Jr. (2006). Embrión producción de ganado super-ovulado despues de la inseminacion de semen sexado. Theriogenology, 71: 717 – 728.
- Seidel Jr G. E. (2007). Descripcion general del esperma sexado. Theriogen, 68(3): 443 – 446.
- Sheldon, I. y H. Dobson, 1993. Effects of gonadotrophin- release hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of the cattle to first and late services. Veterinary Record. 133:160:163.
- Serrano, J. (2009). Usando semen sexado. Bogotá - Colombia. [jairoserrano.com/2009/02/usando-semen-sexado](http://jairoserrano.com/2009/02/usando-semen-sexado)

- Sepúlveda, N.; Risopatrón, Rodríguez, J.; Pérez, F.E. (2000). Use of nuclear techniques for evaluation of first service conception rate in dairy herds with artificial insemination in Chile. IAEA-TECDOC 1220, Vienna, Austria. 93-100 pp.
- Sienra, R. (2002). Revisión del plan agropecuario N° 90. Grupo de trabajo de la Facultad de Veterinaria de Uruguay. 2004 Mar. Disponible desde: [www.e-campo.com2003](http://www.e-campo.com2003)
- Sintex. (2005). Manejo farmacológico del ciclo estral del bovino. *Laboratorio de Especialidades veterinarias*.
- Sintex. (2005). fisiología reproductiva del bovino. *Laboratorio de especialidades veterinarias*.
- Smith, M. F. (1986). Recent advances in corpus luteum physiology. *J Dairy Sci* 69 (3):911-926.
- Sumano, O. (2006). Farmacología veterinaria. Tercera Edición. México: McGraw-Hill Interamericana. ISBN970-105696-5.
- Stevenson, J. 1995. Mida y entienda la eficiencia reproductiva. *Hoard's dairyman* en español. Abril. pp. 23 -29, México.

#### INTERNET

([https://www.scteti.co.jp/images/psearch/pdf/DSO\\_KIP1458\\_p.pdf](https://www.scteti.co.jp/images/psearch/pdf/DSO_KIP1458_p.pdf)).

# ANEXOS

### Anexo 1. Ficha de datos del grupo control (T1)

Nº	Nº Arete	Muestra día 10 P4	Muestra día 21 P4	Edades vacas (años)	Nº de parto	Nº de servicio	Diagnóstico de preñez
1	4566	0.9	3	7	5	2	Vacía
2	22069	10	1.9	2	1	2	Vacía
3	4896	3.1	2.2	4	3	2	Vacía
4	4965			4	3	1	Vacía
5	4726	9	7	6	3	3	Vacía
6	5045	4.6	1.8	3	2	1	Vacía
7	2917	5.5	17	2	1	1	Preñada
8	2006	6	2.1	3	2	1	Vacía
9	5178	2	8.5	2	1	1	Vacía
10	9169			2	1	1	Vacía
11	2807	5.9	5.2	4	3	1	Vacía
12	5192			2	1	1	Vacía
13	2696			6	4	1	Vacía
14	0037	4.8	19	3	2	1	Vacía
15	2905	28	7.5	3	1	1	Vacía
16	9136	2.1	10	3	2	2	Vacía
17	5211	12.5	6.4	2	1	3	Vacía
18	5070	1.6	10.5	3	2	2	Vacía
19	5063	3	7	3	2	3	Vacía
20	5203			2	1	2	Vacía
21	5122	14	2	3	2	3	Vacía
22	4061	12	13	7	5	2	Preñada
23	4698			6	4	2	Vacía
24	2839			4	2	2	Vacía
25	5149			3	2	1	Vacía
26	5239			2	1	1	Vacía
27	2889	5.8	9	3	2	1	Vacía
28	4833	12	8	5	3	1	Vacía
29	4694	4.8	6.9	6	4	1	Vacía
30	5324	3	1.7	2	1	1	Vacía
31	4642	8	5.3	6	4	1	Vacía
32	5137			3	2	3	Vacía
33	9084			6	4	2	Vacía
34	5247			2	1	1	Vacía
35	4441			8	6	1	Vacía
36	5228			2	1	1	Vacía
37	2962			2	1	1	Vacía
38	5295			2	1	1	Vacía
39	5304			2	1	1	Vacía
40	9171			2	1	1	Preñada
41	5262			2	1	1	Vacía
42	5289			2	1	1	Vacía
43	2987			2	1	1	Vacía
44	5276			2	1	1	Vacía
45	5290			2	1	1	Preñada
46	2679			6	4	1	Vacía
47	3292			3	2	1	Vacía
48	2862			3	2	1	Vacía
49	4447			8	5	1	Vacía
50	9167			2	1	1	Vacía
51	2729			5	4	1	Vacía
52	5129			3	2	1	Vacía
53	2884			3	2	1	Vacía
54	4746			5	3	1	Vacía
55	5321			2	1	1	Vacía

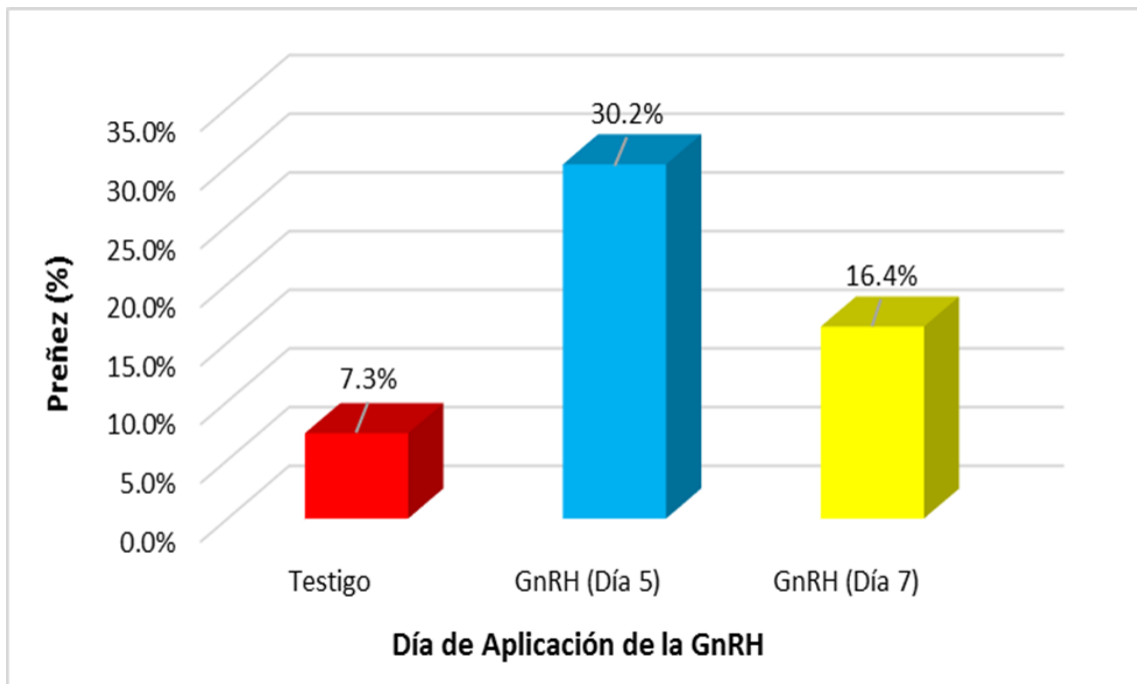
**Anexo 2. Ficha de datos tratamiento T2 (Aplicación de GnRH día 5 post-inseminación)**

Nº	Nº Arete	Muestra día 10 P4	Muestra día 21 P4	Edades vacas (años)	Nº de parto	Nº de servicio	Diagnóstico de preñez
1	5190	17	18	2	1	1	Preñada
2	4585	20	1.7	7	5	2	Vacía
3	9161			2	1	2	Preñada
4	9158	6	8.5	2	1	3	Vacía
5	2606			8	6	1	Vacía
6	1995	36	21	3	2	1	Preñada
7	5100	17	6.4	3	2	1	Vacía
8	1905	17	60	5	3	1	Vacía
9	9133	7	1.9	3	2	1	Vacía
10	5248	20	0.8	2	1	1	Vacía
11	5271	9	10.5	2	1	1	Vacía
12	4986			5	3	1	Vacía
13	2782			4	3	1	Vacía
14	4848	7	12	5	3	1	Preñada
15	2865	16	8.5	3	2	1	Vacía
16	4847	4.5	10.5	5	3	2	Vacía
17	2849	21	6.4	3	2	3	Preñada
18	5083	4.3	3.8	3	2	2	Vacía
19	2847			3	2	2	Vacía
20	5116	12	19	3	2	2	Preñada
21	4783	5.6	2.4	5	2	2	Vacía
22	4734	1.8	13	6	3	2	Vacía
23	2950			2	1	1	Vacía
24	2750			5	4	1	Vacía
25	3280			4	3	2	Preñada
26	4502	5.2	8.5	8	6	1	Preñada
27	5132	6.8	10.5	3	2	1	Preñada
28	2882	4.3	1.7	3	2	1	Vacía
29	5225	7	11	2	1	1	Preñada
30	2851	20	1.8	3	2	1	Vacía
31	5018			3	2	3	Vacía
32	9155			2	1	3	Preñada
33	2886			3	2	1	Preñada
34	2940			2	1	1	Vacía
35	5309			2	1	1	Vacía
36	5328			2	1	1	Vacía
37	5314			2	1	1	Preñada
38	2969			2	1	1	Vacía
39	3318			2	1	1	Vacía
40	5300			2	1	1	Vacía
41	2960			2	1	1	Vacía
42	5242			2	1	1	Preñada
43	5303			2	1	1	Vacía
44	2072			2	1	1	Preñada
45	2883			3	2	1	Vacía
46	5272			2	1	1	Vacía
47	4951			4	2	1	Vacía
48	1921			4	3	1	Preñada
49	5264			2	1	1	Vacía
50	2778			5	4	1	Vacía
51	4519			7	5	1	Vacía
52	5000			4	2	1	Vacía
53	9159			2	1	1	Vacía

**Anexo 3. Ficha de datos tratamiento T3 (Aplicación de GnRH día 7 post-inseminación)**

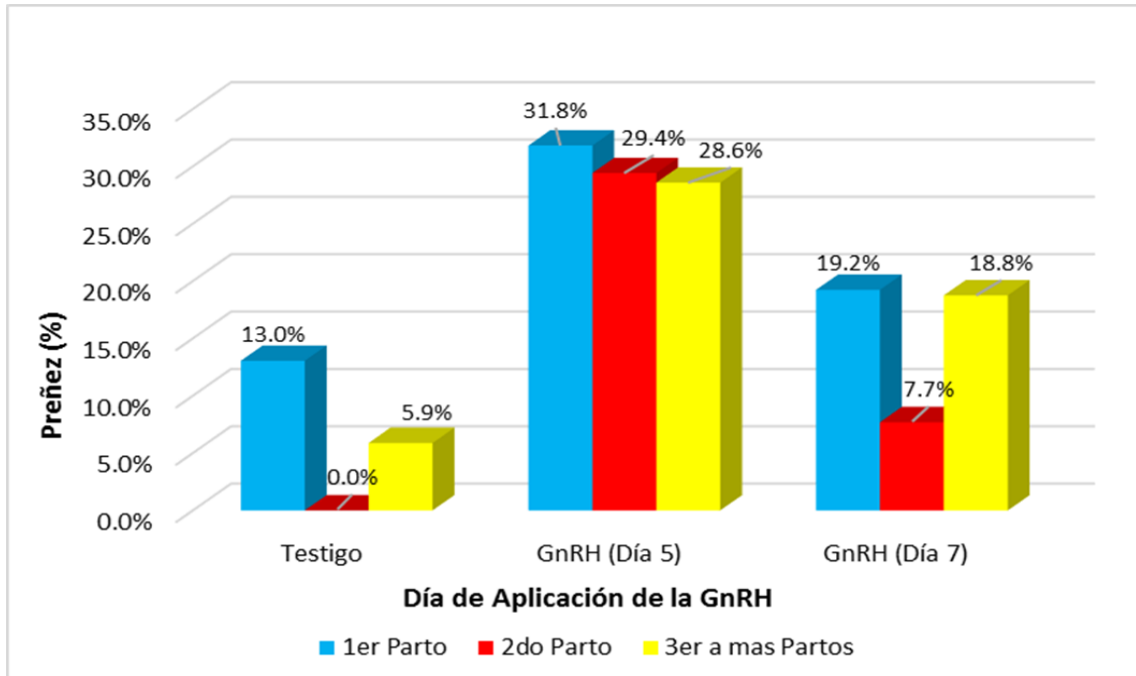
Nº	Nº Arete	Muestra día 10 P4	Muestra día 21 P4	Edades vacas (años)	Nº de parto	Nº de servicio	Diagnóstico de preñez
1	9160	45	1.5	2	1	3	Vacía
2	1932	26	20	4	3	2	Vacía
3	1967	18	1.7	4	2	3	Vacía
4	4866	9	19	4	3	2	Vacía
5	2084	11	2.8	2	1	1	Vacía
6	2963	4	10	2	1	1	Vacía
7	2965	2.3	10	2	1	1	Vacía
8	1909	8	18	5	3	2	Preñada
9	2079	17	30	2	1	2	Vacía
10	4844	1.3	10.1	5	3	1	Vacía
11	5318	12	5.3	2	1	1	Vacía
12	5082	7.5	2.8	3	2	1	Vacía
13	3283			4	3	1	Preñada
14	4867			4	3	1	Vacía
15	1907	26	19	5	3	1	Preñada
16	5173	7	8	3	1	3	Vacía
17	4609	8	1.9	6	4	1	Vacía
18	4512	3.1	15	7	5	2	Vacía
19	1973	1.2	3.2	3	2	2	Vacía
20	4972			3	2	3	Vacía
21	4737	4.5	3.9	6	5	3	Vacía
22	5249	14	11	2	1	3	Vacía
23	3310	11	15	2	1	2	Preñada
24	2959			2	1	2	Vacía
25	3289			3	2	1	Vacía
26	2974			2	1	1	Vacía
27	4788	1.3	3.5	5	3	1	Vacía
28	5081	12	3.1	3	2	1	Vacía
29	3298	6	8	3	2	1	Vacía
30	4733	2.1	4.6	6	4	1	Vacía
31	2711			6	5	1	Vacía
32	2859			3	2	3	Vacía
33	9148			3	2	1	Preñada
34	2801			4	2	1	Vacía
35	2909			3	2	1	Vacía
36	4579			7	5	1	Vacía
37	5226			2	1	1	Preñada
38	2966			2	1	1	Preñada
39	2954			2	1	1	Vacía
40	3320			2	1	1	Vacía
41	5299			2	1	1	Vacía
42	2106			2	1	1	Vacía
43	5163			3	2	1	Vacía
44	5308			2	1	1	Vacía
45	2978			2	1	1	Vacía
46	5279			2	1	1	Vacía
47	5232			2	1	1	Vacía
48	2948			2	1	1	Vacía
49	5319			2	1	1	Preñada
50	3311			2	1	1	Vacía
51	9150			3	1	1	Vacía
52	5021			3	2	1	Vacía
53	4794			5	3	1	Vacía
54	1928			4	3	1	Vacía
55	5292			2	1	1	Preñada

**Anexo 4.** Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado en vacas holstein de crianza intensiva

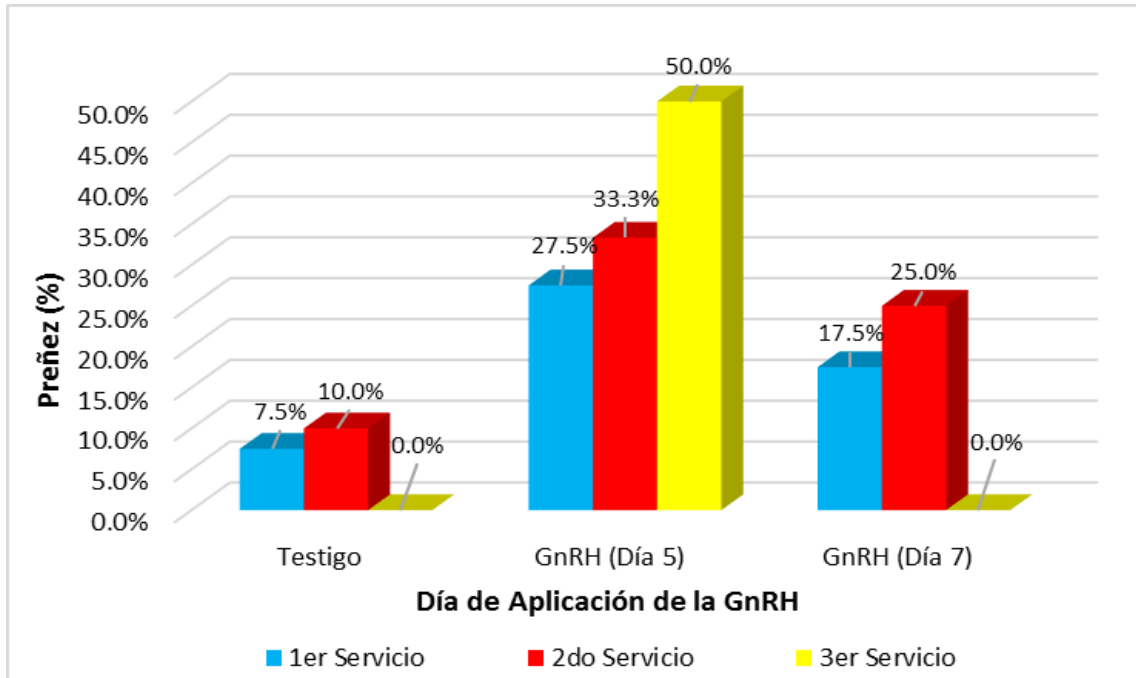




**Anexo 5.** Porcentaje de preñez con la aplicación de GnRH (acetato de busarelina) al día 5 o 7 post- inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de parto



**Anexo 6.** Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas holstein, según el número de servicio



**Anexo 7.** Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos total de progesterona al día 10 y día 21 en vacas vacías según tratamientos con acetato de buserelina

Progesterona sérica (ng/ml)	Día de Aplicación de la GnRH											
	Testigo				GnRH (Día 5)				GnRH (Día 7)			
	n	$\bar{X} \pm DE$	Mín	Máx	n	$\bar{X} \pm DE$	Mín	Máx	n	$\bar{X} \pm DE$	Mín	Máx
Día 10	22	7.2 ± 6.0	0.9	28.0	22	12 ± 8.3	1.8	36.0	24	10.7 ± 10.1	1.2	45.0
Día 21	22	6.4 ± 4.4	1.7	19.0	22	10.8 ± 12.4	0.8	60.0	24	9.5 ± 7.6	1.5	30.0

**Anexo 8.** Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos de progesterona al día 10 y día 21 en vacas preñadas según los tratamientos con acetato de buserelina

<b>Rangos</b>			
	<b>Tratamientos</b>	<b>n</b>	<b>Rango promedio</b>
Niveles séricos de Progesterona al día 10	T1 (Control, sin GnRH)	2	5,25
	T2 (GnRH, día 5)	8	6,94
	T3 (GnRH, día 7)	3	8,33
	Total	13	
Niveles séricos de Progesterona al día 21	T1 (Control, sin GnRH)	2	6,50
	T2 (GnRH, día 5)	8	6,38
	T3 (GnRH, día 7)	3	9,00
	Total	13	

<b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b>		
	<b>Niveles séricos de Progesterona al día 10</b>	<b>Niveles séricos de Progesterona al día 21</b>
Chi-cuadrado	,762	1,036
G1	2	2
Sig. asintótica	,683	,596

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamientos

**Anexo 9.** Prueba de Kruskal-Wallis para niveles séricos de progesterona al día 10 y día 21 en vacas vacías según los tratamientos con acetato de buserelina

<b>Rangos</b>			
	Tratamientos	n	Rango promedio
Niveles séricos de Progesterona al día 10	T1 (Control, sin GnRH)	20	24,03
	T2 (GnRH, día 5)	14	33,14
	T3 (GnRH, día 7)	21	28,36
	Total	55	
Niveles séricos de Progesterona al día 21	T1 (Control, sin GnRH)	20	26,93
	T2 (GnRH, día 5)	14	26,07
	T3 (GnRH, día 7)	21	30,31
	Total	55	

<b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b>		
	<b>Niveles séricos de Progesterona al día 10</b>	<b>Niveles séricos de Progesterona al día 21</b>
Chi-cuadrado	2,687	,730
G1	2	2
Sig. Asintótica	,261	,694

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamientos

**Anexo 10.** Panel fotográfico



**Foto 1.** Instalaciones del establo “El Sequión”.



**Foto 2.** Aplicación de GnRH a las vacas en estudio



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. CESAR GUZMAN SANTARIA**  
**R.D. N° 321-2019-UNSCH-FCA-D**

En la ciudad de Ayacucho a los trece días del mes de diciembre del año dos mil veintitrés, siendo las dieciocho horas, se reunieron en el auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, bajo la presidencia del señor Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias Dr. Felipe Escobar Ramírez, los miembros del jurado conformado por Dr. Luis Arturo Rodríguez Zamora, Mg. Alfredo Pozo Curo como asesor, M.Sc. Teodoro Espinoza Ochoa y Mg. Florencio Cisneros Nina; actuando como secretario de actas el Mtro. Rodolfo Alca Mendoza, para recibir la sustentación de la Tesis titulada: **Efecto de la Aplicación de la GnRH al día 5 o 7 post - inseminación sobre la preñez en vacas lecheras de crianza intensiva.** para obtener el Título Profesional de Medico Veterinario presentado por la Bachiller **CESAR GUZMAN SANTARIA.**

El señor Decano, previa verificación de los documentos exigidos solicitó se proceda con la sustentación y posterior defensa de la tesis en un periodo de cuarenta y cinco minutos de acuerdo al reglamento de grados y títulos vigente. Terminado la exposición, los miembros del Jurado, formularon sus preguntas, aclaraciones y/o observaciones correspondientes. Luego se invito a los miembros del jurado pasar a otra aula para la deliberacion y calificación del trabajo de tesis, cabe señalar que, por acuerdo unánime de los miembros del jurado el titulo de la tesis debe ser corregido por: **Aplicación de GnRH post - inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas Holstein de crianza intensiva;** el resultado de la evaluación fue:

Jurado evaluador	Exposición	Respuestas a las preguntas	Generación de conocimiento	Promedio
Dr. Luis Arturo Rodríguez Zamora	18	16	18	17
Mg. Alfredo Pozo Curo	16	15	16	16
M.Sc. Teodoro Espinoza Ochoa	13	13	13	13
Mg. Florencio Cisneros Nina	16	15	16	16
<b>PROMEDIO GENERAL</b>				<b>16</b>

Acto seguido se invita al sustentante y publico en general para dar a conocer el resultado final. Firman el acta.

*Dr. Luis Arturo Rodríguez Zamora*  
**Presidente**

*Mg. Alfredo Pozo Curo*  
**Asesor**

*M.Sc. Teodoro Espinoza Ochoa*  
**Jurado**

*Mg. Florencio Cisneros Nina*  
**Jurado**

*Mtro. Rodolfo Alca Mendoza*  
**Secretario Docente**



**UNSCH**

FACULTAD DE CIENCIAS  
**AGRARIAS**

## CONSTANCIA DE CONTROL DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

El que suscribe, presidente de la comisión de docentes instructores responsables de operativisar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de **TESIS** de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, autorizado por RR N° 294-2022-UNSCH-R; hace constar que el trabajo titulado;

### **Aplicación de la GnRH post-inseminación con semen sexado sobre la preñez de vacas Holstein de crianza intensiva**

Autor : Cesar Guzman Santaria

Asesor : Alfredo Pozo Curo

Ha sido sometido al control de originalidad mediante el software TURNITIN UNSCH, acorde al Reglamento de originalidad de trabajos de investigación, aprobado mediante la RCU N° 039-2021-UNSCH-CU, arrojando un resultado de **ventiuno (21 %)** de índice de similitud, realizado con **depósito de trabajos estándar**.

En consecuencia, se otorga la presente Constancia de Originalidad para los fines pertinentes.

**Nota:** Se adjunta el resultado con Identificador de la entrega: 2276781404

Ayacucho, 23 de enero de 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA  
Facultad de Ciencias Agrarias  
  
M. Sc. Walter A. Mateu Mateo  
Pdte. Comisión Turnitin - FCA



# Aplicación de la GnRH post-inseminación con semen sexado sobre la preñez de vacas Holstein de crianza intensiva

*por Cesar Guzman Santaria*

---

**Fecha de entrega:** 23-ene-2024 12:07p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2276781404

**Nombre del archivo:** Cesar\_guzman\_santaria\_2024\_TESIS\_2.pdf (1.11M)

**Total de palabras:** 21704

**Total de caracteres:** 113220

# Aplicación de la GnRH post-inseminación con semen sexado sobre la preñez de vacas Holstein de crianza intensiva

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.utc.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>5</b> %
<b>2</b>	<b>cybertesis.unmsm.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>3</b> %
<b>3</b>	<b>dspace.ucuenca.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>3</b> %
<b>4</b>	<b>dspace.ups.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>5</b>	<b>1library.co</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>6</b>	<b>www.reproduccionanimal.org</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>7</b>	<b>docplayer.es</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>8</b>	<b>repositorio.unsch.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>9</b>	<b>produccionbovina.files.wordpress.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %

10	<a href="http://iracbiogen.com">iracbiogen.com</a> Fuente de Internet	<1 %
11	Joel Hernández Cerón. "Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos Lecheros", Universidad Nacional Autónoma de México, 2016 Publicación	<1 %
12	<a href="http://mauricioraga.blogspot.com">mauricioraga.blogspot.com</a> Fuente de Internet	<1 %
13	Submitted to Pontificia Universidad Católica del Ecuador - PUCE Trabajo del estudiante	<1 %
14	<a href="http://repositorio.uta.edu.ec">repositorio.uta.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://www.ridaa.unicen.edu.ar">www.ridaa.unicen.edu.ar</a> Fuente de Internet	<1 %
17	<a href="http://aprenderly.com">aprenderly.com</a> Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo

# Aplicación de la GnRH post-inseminación con semen sexado sobre la preñez de vacas Holstein de crianza intensiva

César Guzmán Santaria<sup>1</sup>

[Cesar.guzmán.24@unsch.edu.pe](mailto:Cesar.guzmán.24@unsch.edu.pe)<sup>1</sup>

Alfredo Pozo Curo<sup>2</sup>

[Alfredo.pozo@unsch.edu.pe](mailto:Alfredo.pozo@unsch.edu.pe)<sup>2</sup>

Área de investigación: Biotecnología

Línea de investigación: Medicina y salud animal, salud pública y saneamiento ambiental.

## RESUMEN

La investigación tuvo como objetivos determinar la tasa de preñez y la progesterona sérica (P4) en vacas Holstein de crianza intensiva tratadas con acetato de buserelina (AB) a los 5 o 7 días postinseminación artificial. Se realizó en la Sociedad Ganadera “El Sequión S. A.” Lurín – Lima, 2016. Se utilizaron 163 vacas menor o igual a tres servicios, distribuidas aleatoriamente en tres grupos T1 (control, sin AB) = 55, T2 (AB, día 5) = 53, y T3 (AB, día 7) = 55 vacas. Las vacas fueron inseminadas con semen sexado importado y a celo natural detectados por podómetros. El diagnóstico de preñez se realizó mediante ecografía a los 35 días. La P4 se determinó con el kit DIASource PROG-RIA-CT al día 10 y 21 post-inseminación. Se usaron las pruebas estadísticas de chi cuadrado y Kruskal-Wallis para determinar la preñez y los niveles de P4, respectivamente, mediante el programa SAS<sup>®</sup>. La tasa de preñez tras la aplicación de AB post inseminación artificial se ve mejorada significativamente ( $p < 0.05$ ), especialmente, con T2 (30.2%) comparados con T3 (16.4%) y T1 (7.3%), entre T3 versus T1. La tasa de preñez en T2 fue diferente ( $p < 0.05$ ) a T1 y T3, igual, entre T3 versus T1 en vacas de primer, segundo y más de tres partos. La P4 total para T1, T2 y T3 al día 10 con 7.2, 12.0, 10.7 ng/ml, así como para el día 21 con 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml post-inseminación, no difieren entre sí ( $p < 0.05$ ). La P4 en vacas preñadas en T1, T2 y T3 al día 10 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) como al día 21 post-inseminación (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) no difieren entre sí ( $p < 0.05$ ). La aplicación de GnRH al día 5 o 7 post inseminación mejora significativamente la tasa de preñez: No se asegura que la aplicación de la GnRH provoque un aumento del nivel de progesterona plasmática a los días 10 y 21 post-inseminación artificial.

**Palabras claves:** GnRH, progesterona, preñez, bovino, semen sexado.

## SUMMARY

The research aimed to determine the pregnancy rate and serum progesterone (P4) in intensively reared Holstein cows treated with buserelin acetate (AB) at 5 or 7 days post-artificial insemination. It was held at the Sociedad Ganadera "El Sequión S. A." Lurín – Lima, 2016. A total of 163 cows were used less than or equal to three servings, randomly distributed into three groups: T1 (control, no AB) = 55, T2 (AB, day 5) = 53, and T3 (AB, day 7) = 55 cows. The cows were inseminated with imported sexed semen and in natural heat detected by pedometers. The diagnosis of pregnancy was made by ultrasound at 35 days. P4 was determined with the DIAsource PROG-RIA-CT kit at day 10 and day 21 post-insemination. Chi-square and Kruskal-Wallis statistical tests were used to determine pregnancy and P4 levels, respectively, using the SAS® program. The pregnancy rate after the application of post-artificial insemination AB was significantly improved ( $p < 0.05$ ), especially with T2 (30.2%) compared to T3 (16.4%) and T1 (7.3%), between T3 versus T1. The pregnancy rate at T2 was different ( $p < 0.05$ ) at T1 and T3, equal, between T3 versus T1 in first, second and more than three calving cows. Total P4 for T1, T2 and T3 at day 10 with 7.2, 12.0, 10.7 ng/ml, as well as for day 21 with 6.4, 10.8 and 9.5 ng/ml post-insemination, do not differ from each other ( $p < 0.05$ ). P4 in pregnant cows at T1, T2 and T3 at day 10 (8.75, 14.0 and 15.07 ng/ml, respectively) and at day 21 post-insemination (15.0, 14.55 and 10.11 ng/ml, respectively) do not differ from each other ( $p < 0.05$ ). The application of GnRH on day 5 or 7 post-insemination significantly improves the pregnancy rate; It is not assured that the application of GnRH will cause an increase in plasma progesterone level at days 10 and 21 post-artificial insemination.

**Key words:** GnRH, progesterone, pregnancy, bovine, sexed semen.

## INTRODUCCIÓN

La producción de bovinos de raza lechera, actividad agropecuaria que depende de la eficiencia reproductiva de las matrices. Las vacas de la raza Holstein en sistemas intensivos, deben proveer de un becerro al año y presentar una lactación de 305 días. De la productividad de las matrices depende el retorno económico del productor, y la productividad de las matrices depende del manejo al cual son expuestas, debido a que los factores ambientales actúan directamente sobre la respuesta productiva y reproductiva (López, 2002).

Con el objetivo de mejorar la respuesta reproductiva de las matrices y garantizar una gestación y un parto al año, se han implementado diferentes estrategias que actúan sobre la fisiología reproductiva de las vacas. Estrategias nutricionales, técnicas de evaluación ginecológica y tratamientos hormonales, han permitido que el manejo reproductivo en los establos sea más eficiente, permitiendo el incremento de la fecundidad en los centros de producción (López, 2002).

Los tratamientos hormonales, para la inducción del estro y la sincronización de la ovulación, estimulan el crecimiento del folículo ovulatorio y garantizan la ovulación del mismo, incrementando de esta forma las posibilidades de preñez. Los protocolos hormonales han permitido el desarrollo de las biotecnologías de reproducción asistida, como la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y la multiovulación y transferencia de embriones (MOET). Sin embargo, en los hatos lecheros aún se observan retrasos de los intervalos “parto – concepción” y “parto – parto”, muchas veces causadas por la pérdida embrionaria temprana, y que a su vez incrementa el número de servicios (Gallegos, 2010).

La repetición de servicios en una vaca, es una condición que indica un problema de fertilidad, problema que está relacionado con diferentes factores externos o internos, los cuales evitan que una vaca quede preñada. Entre los factores que se han identificado están: el aumento de la producción de leche, la deficiente alimentación, la condición corporal, el estrés por calor, abortos espontáneos, retención de placenta, metritis posparto, endometritis, quistes en los ovarios y otros factores; Una vez conseguida la unión de los gametos masculino y femenino (espermatozoide y ovocito), el desarrollo del embrión, su implantación y posterior desarrollo fetal, dependerán de la progesterona (P4) producida por el cuerpo lúteo (CL) durante la gestación (Gallegos, 2010).

La P4, estimula la liberación del interferón tau (IFN $\tau$ ) por parte del embrión, con el fin de estimular el reconocimiento materno de la gestación, y además inhibe la cascada luteolítica durante la gestación. Sin embargo, en circunstancias donde las concentraciones de P4 son bajas, se ha observado el aumento de los pulsos de la hormona luteinizante (LH), que a su vez resulta en el aumento de las concentraciones de estradiol (E2) y prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), responsable de la lisis del CL y los abortos espontáneos (López, 2002).

Una estrategia que busca incrementar los niveles de P4, durante el desarrollo embrionario temprano, es la administración de los análogos de GnRH, 7 o 12 días después de la IATF, según Pitti J. y Sánchez D. (2012); o 4, 8 o 12 días después de la IATF según Collaguazo (2016). Administraciones realizadas con el propósito de prevenir los abortos espontáneos y disminuir la infertilidad de los hatos.

La administración de la GnRH permite hacer un control reproductivo del ciclo estral de las vacas. Clínicamente es usada para la prevención de la mortalidad embrionaria, inducción de la ovulación, tratamiento de disfunción ovárica o del anestro posparto y el control del desarrollo folicular en programas de sincronización del celo para IATF y transferencia de embriones; Estudios anteriores, han reportado que el uso de GnRH, en hembras bovinas post IATF, permite la formación de cuerpos lúteos accesorios, el incremento de la concentración de P4 circulante y los índices gestación

De esta forma el objetivo general de este estudio fue determinar el efecto de la administración de un análogo de GnRH (Acetato de buserelina) el día 5 o 7 post-inseminación artificial con semen sexado sobre el porcentaje de preñez en vacas Holstein de crianza intensiva. Mientras que los objetivos específicos fueron;

- Evaluar el efecto de aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas Holstein de crianza intensiva.
- Evaluar el efecto de aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas Holstein de crianza intensiva.
- Evaluar los niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación.

## **METODOLOGÍA**

### **2.1 Ubicación**

Se efectuó en las instalaciones del establo Sociedad Ganadera “El Sequión S.A.”, ubicado en el Km. 38.5 de la Antigua Panamericana Sur, distrito de Lurín, provincia de Lima, región de Lima. Entre los meses de setiembre a diciembre del año 2016.

### **2.2. Materiales y equipos**

#### **Equipos**

- Refrigeradora
- Centrífuga
- Equipo de ELISA
- Ecógrafo para diagnóstico de preñez

#### **Materiales**

- Material biológico (163 vacas raza holstein, 1 a 3 servicios, edad de 2 a 8 años y un periodo de lactación menores a 120 días)
- Análogo de GnRH (acetato de buserelina)
- Tubos vacutainer sin anticoagulante (rojo)
- Agujas N° 21 y 18
- Capuchón
- Jeringas de 1ml
- Algodón y alcohol
- Guantes obstétricos y quirúrgicos
- Gel ecográfico
- Micro pipetas de 100 ul y 50 ul
- Crioviales
- Kits para determinación de progesterona
- Tubos eppendorf
- Coche de inseminación
- Tanque de nitrógeno-nitrógeno líquido
- Semen sexado importado
- Termo y Pistola de inseminación
- Fundas
- Tijera



## 2.4. Procedimiento

En el presente trabajo se inseminaron vacas (raza Holstein) que presentaron sólo celo natural, la cual fue determinado con el podómetro que poseen individualmente, corroborado con la palpación rectal, las vacas en estudio fueron menores o iguales a tres servicios, con una edad mayor de 2 años hasta los 8 años, con una condición corporal de 2.25 a 2.75 que fue evaluado por el profesional encargado de la inseminación; y que no hayan presentado ningún problema post-parto. Las vacas sólo se tomaron por única vez en el estudio, en caso la vaca no preñó y presentó celo ya no se consideraron por segunda vez. Las vacas fueron asignadas en tres tratamientos en forma aleatoria: T1 (testigo = 55 vacas), T2 (aplicación de GnRH al quinto día post-inseminación = 53 vacas) y T3 (aplicación de GnRH al séptimo día post-inseminación = 55 vacas). La aplicación del análogo de GnRH (acetato de buserelina, 1ml/vaca o una dosis de 0.0042mg, Gonavet Veyx<sup>®</sup>, Lab. Ecuphar) se realizó en las horas de la mañana vía intramuscular; a los 5 ó 7 días post-inseminación de acuerdo al tratamiento que perteneció. La inseminación se realizó con semen sexado (concentración de  $2.0 \times 10^6$ ) importado de Estados Unidos y el diagnóstico de preñez se le practicó a partir del día 35 post-inseminación ayudados de un ecógrafo.

La toma de muestra sanguínea se realizó a los 10 y 21 días, posterior a la inseminación artificial. La muestra de sangre se tomó de la vena coccígea en tubos vacutainer, sin coagulante (tapa roja) y en una cantidad de muestras de vacas para cada grupo experimental de manera aleatoria (T1: 22 muestras, T2: 22 muestras y T3: 24 muestras).

Las muestras sanguíneas colectadas fueron llevadas inmediatamente culminado la extracción al Laboratorio de Reproducción Animal de la UNMSA, demorando en el trayecto aproximadamente de 1 hora con 30 minutos para su extracción de suero sanguíneo, mediante centrifugación con una gravedad 2500 rpm por 15 minutos y una vez extraído se procedió a congelamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , durante el tiempo que se completaba el total de muestras aproximadamente 2 meses.

Los sueros obtenidos en el Laboratorio de Reproducción Animal de la UNMSA, fueron llevados al Laboratorio Clínico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, para el análisis de los niveles de progesterona (P4), mediante el kit DIASource PROG-RIA-CT, de las diferentes vacas en estudio.

## 2.5. Análisis estadístico

Los datos se procesaron con el paquete estadístico SAS. Se utilizó la prueba estadística de chi cuadrado para determinar la tasa de preñez entre grupos experimentales y la prueba no paramétrica Kruskal – Wallis para comparar los niveles de progesterona. Asimismo, se consideró diferencias significativas cuando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Efecto de la aplicación de la GnRH al día 5 o 7 post inseminación sobre la tasa de preñez en vacas Holstein de crianza intensiva

**Tabla 1**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas Holstein de crianza intensiva*

Diagnóstico de Preñez	Día de aplicación del análogo de GnRH						Total	
	T1 (Testigo)	T2 (Análogo GnRH, Día 5)		T3 (Análogo GnRH, Día 7)				
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Preñadas	4	7.3 <sup>a</sup>	16	30.2 <sup>b</sup>	9	16.4 <sup>c</sup>	29	17.8
Vacías	51	92.7 <sup>a</sup>	37	69.8 <sup>b</sup>	46	83.6 <sup>c</sup>	134	82.2
<b>Total</b>	55	100.0	53	100.0	55	100.0	163	100.0

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba chi cuadrado. n = número de animales.

En la tabla 1. se presentan los resultados del porcentaje de preñez en vacas Holstein con celo natural que fueron tratados con acetato de buserelina (análogo de la GnRH) al día 5 (T2) o día 7 (T3) post-inseminación artificiales con semen sexado importado. En general, se puede observar que la aplicación del análogo de la GnRH incide significativamente ( $p < 0.05$ ) en el éxito del porcentaje de preñez de las vacas, haciendo un mayor énfasis al día 5 de aplicación post-inseminación con 30.2% de vacas preñadas en comparación al día 7 con 16.4% y el grupo testigo (T1, sin aplicación de GnRH) con 7.3% de preñeces. No existen reportes sobre el uso de análogos de GnRH post inseminación artificial con semen sexado sobre la tasa de preñez en vacas lecheras. Sin embargo, nuestros resultados, son inferiores comparados a los de Pitti y Sánchez (2012) quienes usando semen convencional lograron preñeces acumuladas de 60%, 53% y 53% para los tratamientos con GnRH al día 7, al día 12 y control, concluyendo que la aplicación de acetato de buserelina no mejoró los parámetros reproductivos. En

contraposición, Collaguazo (2016), manifiesta las ventajas del uso del acetato de buserelina aplicado al día 8 post-inseminación con semen convencional mejorando los porcentajes de preñez (60%) en vacas Holstein de tercer parto en comparación a la aplicación del acetato de buserelina al día 4, al día 12 o su control (sin análogo de GnRH).

Con respecto al uso de semen sexado, los porcentajes de preñez en vacas lecheras es baja en comparación al uso de semen convencional, como lo reporta DeJarnette (2009), quien usando semen sexado “X” con dosis de  $5.0 \times 10^6$ ,  $3.5 \times 10^6$  y  $2.1 \times 10^6$  espermatozoides, logró 30.3%, 29% y 27% de preñeces en vacas lecheras de 1 a 3 partos, respectivamente. Estos resultados de preñez son muy similares al nuestro, en especial, logradas usando acetato de buserelina al día 5 post inseminación artificial. Por lo tanto, el semen sexado disminuye claramente la viabilidad espermática en comparación al semen convencional, además la concentración del semen sexado es menor (2 millones) en comparación con las pajillas del semen convencional (>15 millones) (Schenk, 2006; DeJarnette *et al.*, 2011) influyendo en los resultados de la tasa de preñez.

La mejora de las tasas de preñez con la aplicación del acetato de buserelina en especial al día 5 post inseminación artificial, podría ser explicada en razón de que, ocurrida la ovulación, se evidencia un pequeño incremento de FSH, originando la nueva emergencia folicular que al día 5 coincidiría con niveles altos de producción de estrógenos detectados en el fluido folicular del folículo dominante en  $990 \pm 30$  ng/ml, al día 7 con  $201 \pm 73$  ng/ml y al día 11 sólo con  $9 \pm 5$  ng/ml, cantidades reportadas por Fortune *et al.* (2001). Dichos niveles de estrógenos del día 5 o día 7, ocasionaría un feed back positivo al hipotálamo para producir GnRH y así estimular la secreción de gonadotropinas en la hipófisis en especial LH, el cual es requerida para apoyar la formación y función temprana del cuerpo lúteo de la ovulación previa, reorganizando los restos tisulares del folículo para dar lugar a un cuerpo lúteo como lo manifiesta Acuña (2007) o probablemente la formación de cuerpos lúteos accesorios o folículos luteinizados. Al respecto, Baruselli (2014) menciona que las células de la íntima se vuelven células de menor diámetro, llamadas células lúteas pequeñas, mientras que las células de la granulosa se vuelven células lúteas más grandes, igualmente denominadas células lúteas grandes. Los dos tipos de células lúteas secretan progesterona, pero las células pequeñas poseen casi todos los receptores de LH y poseen una respuesta seis veces más grande cuando se exponen a la LH. y posiblemente tienen mayor acción los días 4 – 5 post-inseminación, que las células grandes en términos de la secreción de progesterona. El incremento inicial de la secreción de progesterona desde el cuerpo lúteo es necesario entre el día 3 al día 7 o que el

endometrio uterino garantice un ambiente apropiado para el desarrollo embrionario del día 6 al día 13, son algunos factores de entre otros, que afectan el establecimiento de la preñez en vacas lecheras (Evans *et al.*, 2010).

### 3.2 Efecto de la aplicación de la GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de partos en vacas Holstein de crianza intensiva.

**Tabla 2**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas Holstein, según el número de parto.*

Número de parto	Día de aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina)		
	T1 (Testigo) %	T2 (Análogo GnRH, Día 5) %	T3 (Análogo GnRH, Día 7) %
1er. Parto	13 <sup>a</sup> (3/23)	31.8 <sup>b</sup> (7/22)	19.2 <sup>c</sup> (5/26)
2do. Parto	0 <sup>a</sup> (0/15)	29.4 <sup>b</sup> (5/17)	7.7 <sup>c</sup> (1/13)
> 3 partos	5.9 <sup>a</sup> (1/17)	28.6 <sup>b</sup> (4/14)	18.8 <sup>c</sup> (1/16)

Nota: Letras iguales en sentido horizontal indican que hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba de Chi cuadrado.

En la Tabla 2. se presenta el porcentaje de preñez a la aplicación del análogo de la GnRH post-inseminación artificial al T2 (GnRH, día 5) y T3 (GnRH, día 7) y control (T1, sin GnRH) en vacas de primer, segundo y con más de tres partos, no muestran diferencia estadística entre sí; sin embargo, las preñeces del T2 en vacas de primer parto (31.8%), segundo parto (29.4%) y con más de tres partos (28.6%) muestran diferencia estadística en comparación al T3 ( $p < 0.05$ ) y T1 (control), a su vez, las preñeces logradas con T3 muestran diferencia estadística en comparación ( $p < 0.05$ ) al T1.

No hay reportes similares donde se usen análogos de la GnRH post inseminación con semen sexado en vacas lecheras según el número de partos. Sin embargo, DeJarnette *et al.* (2009) en 2369 servicios con semen sexado “X” en vacas post-parto con 86 días en lactancia y 1.9 partos en promedio, reportaron tasas de preñez similares para vacas de 1° parto (30.4%), 2° parto (31.1%) y 3° parto (25.6%). Estos resultados, comparados con los obtenidos en el presente trabajo, son similares, en especial, con la tasa de preñez lograda con vacas del primer, segundo y más de tres partos en el T2 (GnRH, día 5).

Según López et al. (2004) en un estudio encontraron que a pesar de más partos, las vacas con mayor número de partos tenían menos probabilidades de ser servidas. Esto, puede deberse a la producción de leche de los animales, ya que los niveles de producción aumentan con la paridad. Las vacas primitivas produjeron menos leche que las vacas multíparas, y las vacas con mayor producción de leche tuvieron un período de estro más corto que las vacas con menor producción de leche (6,9 y 10,6 h, respectivamente).

De otro lado, Hernández (2016) menciona que tres oleadas de vacas tienen tasas de fertilización más altas que las vacas con solo dos oleadas; esto se debe a que las vacas en dos oleadas tienen más tiempo dominante (7 días) para ovular folículos que en tres oleadas (4 días), lo que afecta el potencial del ovocito para convertirse en un embrión vivo.

Por su parte Cerón y Morales, (2001) mencionan que las características de las poblaciones de folículos de vaca varían ampliamente, por lo que, se debe considerar el tamaño del folículo al aplicar GnRH. Esto pudiera justificar mayor tasa de preñez en el T2 (aplicación de acetato de buserelina al día 5 post-inseminación) ya que a los 2 -3 días sean detectados la tasa de crecimiento del folículo destinado a convertirse dominante, llegando así a los 5 días un folículo dominante, en la cual la concentración del estradiol en el líquido folicular es mucho más alta (Lussier, 1987).

### **3.3. Efecto de aplicación de GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre el porcentaje de preñez, según el número de servicios en vacas Holstein de crianza intensiva.**

**Tabla 3**

*Porcentaje de preñez con la aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación con semen sexado sobre la preñez en vacas Holstein, según el número de servicio.*

Número de servicio	Día de aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina)		
	T1 (Testigo) %	T2 (Análogo GnRH, Día 5) %	T3 Análogo GnRH, Día 7) %
1er. Servicio	7.5 <sup>a</sup> (3/40)	27.5 <sup>b</sup> (11/40)	17.5 <sup>c</sup> (7/40)
2do. Servicio	10 <sup>a</sup> (1/10)	33.3 <sup>b</sup> (3/9)	25 <sup>c</sup> (2/8)
3er. Servicio	0 <sup>a</sup> (0/5)	50 <sup>b</sup> (2/4)	0 <sup>c</sup> (0/7)

Nota: letras diferentes en sentido horizontal indican que hay diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

En la tabla 3. se presenta el porcentaje de preñez a la aplicación de acetato de buserelina (análogo de la GnRH) post inseminación artificial al día 5 o 7 y control en vacas preñadas con uno, dos o tres servicios, sin mostrar diferencias entre sí; sin embargo, las preñeces con el T2 (GnRH, día 5) en vacas de primer (27.5%), segundo (33.3%) y tercer servicio (50.0%), si muestran diferencia estadística en comparación al T3 (GnRH, día 7) ( $P < 0.05$ ) y T1 (control), a su vez, las preñeces logradas en T3 también muestran diferencia estadística con respecto T1 (control) ( $p < 0.05$ ).

No hay reportes similares donde se usen análogos de la GnRH post inseminación con semen sexado en vacas lecheras según el número de servicios. Sin embargo, el porcentaje de preñez del primer servicio (PPPS), las diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ) entre el tratamientos T2 con respecto al T3 y el control; este resultado es inferior a lo que obtuvieron Sheldon y Dobson (1993) de 60%, al aplicar 10 $\mu$ g de GnRH (Buserelina) en 520 vacas a los 11 días post-inseminación artificial con semen convencional y similar a los de Iglesias (2002) de 26.36% al aplicar 84  $\mu$ g de GnRH (Acetato de Buserelina) en 44 vacas de razas lecheras a los 12 días post-inseminación artificial con semen convencional.

La baja fertilidad puede ser causada por: involución uterina insuficiente, infección uterina o la presencia de un folículo o quiste del cuerpo lúteo, que puede ser causado por una alta producción de leche., Fricke y Shaver (2001). Por su parte Gordon (1999) menciona que Las características de las poblaciones de folículos de vaca varían ampliamente, por lo que se debe considerar el tamaño del folículo al aplicar GnRH. Así mismo Cerón y Morales (2001) determinaron que aplicar GnRH solo tendrá un efecto positivo en la fertilidad de vacas con un diámetro de folículo de 15 mm.

El PPSS, las diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos T2 con respecto al T3 y el control este resultado es similar a los hallados por Iglesias (2002) de 35,71%, al aplicar 84 $\mu$ g de GnRH (acetato de buserelina) en 44 vacas de razas lecheras a los 12 días post-inseminación artificial con semen convencional y superiores a los logrados por Ayala y Castillo (2010) de 20%, al aplicar 150  $\mu$ g de GnRH (acetato de buserelina) en 56 vacas lecheras al momento de inseminación artificial con semen convencional.

Así mismo, Hernández (2016) menciona que al inseminar vacas lecheras (Holstein) con semen convencional, el porcentaje de concepción fue de 30% al primer servicio, 31% al segundo servicio, 36% al tercer servicio y 35% al cuarto servicio. Al respecto, se observa en los resultados que las vacas de tercera y cuarta ración tuvieron

tasas de concepción más altas que las vacas de primera y segunda ración; el efecto del número de raciones sugiere que algunas de las causas de la infertilidad de las vacas se vinculan con la proximidad del puerperio, de esta manera, al acumular más días de leche, se puede observar un aumento en la fertilidad.

Las vacas en los dos primeros servicios estuvieron expuestas a elementos que podrían conducir a fallas en la concepción, como el balance energético negativo. (niveles bajos BEN 10 a 20 días, niveles moderados de BEN 70 a 80 días y niveles más profundos hasta 100 días) o cualquier dificultad vinculada con el puerperio y las vacas con tres o más servicios se mantienen alejadas de estos factores. Hay evidencia de que el balance energético afecta la función del cuerpo lúteo en el segundo y tercer ciclo posparto y reduce el potencial de los ovocitos para convertirse en embriones viables.

Los porcentajes de preñez se redujeron en las vacas servidas más de 3 veces, lo que concuerda con la conclusión de Cerón y Morales (2001) de que la capacidad para evitar la regresión lútea grávida fue menor en las vacas servidas repetidamente.

### 3.4. Niveles de progesterona sérica al día 10 y 21 post- inseminación artificial en vacas vacías y preñadas tratadas con GnRH (Acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación

**Tabla 4**

*Niveles de progesterona sérica total al día 10 y 21 en vacas Holstein de crianza intensiva, tratadas con GnRH (acetato de buserelina) a los 5 ó 7 días post-inseminación con semen sexado.*

Progesterona sérica (ng/ml)	Día de Aplicación de la GnRH					
	T1		T2 (Análogo GnRH, día 5)		T3 (Análogo GnRH, día 7)	
	n	Media ± D.S.	n	Media ± D.S.	n	Media ± D.S.
Día 10	22	7.2 <sup>a</sup> ± 6.0	22	12. 0 <sup>a</sup> ± 8.3	24	10.7 <sup>a</sup> ± 10.1
Día 21	22	6.4 <sup>a</sup> ± 4.4	22	10.8 <sup>a</sup> ± 12.4	24	9.5 <sup>a</sup> ± 7.6

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) a la prueba no paramétrica kruskal – wallis. n = Número de animales.

En la tabla 4. se presentan los niveles de progesterona plasmática total (ng/ml) medidas al día 10 y 21 post-inseminación y que fueron tratadas con análogo GnRH (acetato de buserelina) al día 5 o 7 post-inseminación artificial.

Se puede observar que las medias de progesterona plasmática evaluadas en el día 10 post-inseminación en las vacas del T1 (Sin GnRH), T2 y T3 cuyos valores fueron de

7.2, 12.0 y 10.7 ng/ml, respectivamente, no evidencian diferencias significativas entre sí ( $p < 0.05$ ).

De igual manera, respecto a las medias de progesterona plasmática evaluados al día 21 post-inseminación en las vacas del T1, T2 y T3 cuyos valores fueron de 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml, respectivamente, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ), por lo que no podemos asegurar que la aplicación de la GnRH provoque un incremento significativo del nivel de progesterona plasmática al día 10 y día 21 post-inseminación. Sin embargo, podemos manifestar que este ligero incremento de progesterona al día 10 y al día 21 en el T2 podría deberse a la mejor organización tisular del cuerpo lúteo de las células tecales pequeñas favorecidas por la LH hipofisiaria adicional producto de la aplicación exógena del acetato de buserelina.

Collaguazo (2015), muestra en sus resultados del grupo testigo una concentración de 12,47 ng/ml de progesterona (P4) al día 11, cifra mayor a nuestro resultado (T1=7,2 ng/ml) cuya diferencia podría estar relacionada al posible aumento del tejido lúteo o que el cuerpo lúteo se encuentre en la etapa de su máximo desarrollo.

Kastelic *et al.* (1990) consideran que el incremento de la P4 sérica puede estar influenciado por la edad, el número y la calidad del cuerpo lúteo auxiliar formado, el cuerpo lúteo en gestación o el cuerpo lúteo en estro.

El análisis de los niveles séricos de P4 en el grupo de control (T1) identificó posibles diferencias en el momento de la formación del cuerpo hemorrágico y, por lo tanto, de la formación del cuerpo lúteo; esto puede determinar el número y los diferentes niveles de concentración de las células lúteas utilizadas para la secreción de P4.

Kastelic *et al.* (1990), en novillas, demostró que el área de tejido lúteo determinada por ultrasonografía se correlacionó positivamente con las concentraciones circulantes de P4; por lo tanto, se informó que el CL derivado de ciclos cortos era pequeño ( $10 \pm 2,0$  mm) y los niveles de P4 eran  $2,75 \pm 0,55$  ng/ml, mientras que los valores de P4 de los CL de ciclos normales posteriores fueron de  $10,15 \pm 0,58$  ng/ml, lo que sugiere que los CL de ciclo corto son funcionalmente similares en longitud a los ciclos normales, pero producen menos P4 debido a su pequeño tamaño.

Por su parte, Smith (1986) se encontró que el nivel de P4 en la sangre de las vacas preñadas se mantuvo más o menos en 10 ng/ml durante todo el embarazo; comenzó a disminuir alrededor de 15 a 30 días antes del parto, alcanzando solo 0.5-1 ng/ml en el parto ml de sangre.



**Tabla 5**

*Niveles de progesterona (ng/ml) al día 10 y 21 en vacas Holstein de crianza intensiva vacías y preñadas tras la aplicación de GnRH (acetato de buserelina) a los 5 o 7 días post-inseminación con semen sexado.*

Niveles de progesterona (ng/ml)	Condición	Tratamientos					
		T1 (control)		T2 (Análogo GnRH, Día 5)		T3 (Análogo GnRH, Día 7)	
		n	Promedio ± DE	n	Promedio ± DE	n	Promedio ± DE
Día 10 post-inseminación	Preñadas	2	8.75 <sup>a</sup> ±4.60	8	14.00 <sup>a</sup> ±10.51	3	107 <sup>a</sup> ±9.57
	Vacías	20	7.06 <sup>a</sup> ±6.24	14	14.55 <sup>a</sup> ±15.12	21	10.11 <sup>a</sup> ±10.29
Día 21 post-inseminación	Preñadas	2	15.00 <sup>a</sup> ±2.83	8	14.55 <sup>a</sup> ±4.61	3	17.33 <sup>a</sup> ±2.08
	Vacías	20	6.26 <sup>a</sup> ±4.21	14	9.39 <sup>a</sup> ±15.12	21	8.34 <sup>a</sup> ±7.39

Nota: Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. n = Número de animales.

En la tabla 5 se presentan los niveles de progesterona plasmática en vacas Holstein vacías y preñadas tras la aplicación de análogo de GnRH (acetato de buserelina) a los 5 ó 7 días post IA medida al día 10 y 21 post-inseminación. Se puede observar que las medias de progesterona plasmática evaluados al día 10 post-inseminación en las vacas preñadas del T1, T2 y T3 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) y vacas vacías (7.06, 14.55 y 10.11 ng/ml respectivamente) no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ). De igual manera, las medias de progesterona plasmática evaluados en el día 21 post-inseminación en las vacas preñadas del T1, T2 y T3 (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) y vacas vacías (6.26, 9.39 y 8.38 ng/ml respectivamente) no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ( $p < 0.05$ ), por lo que no podemos asegurar que la aplicación de la GnRH provoque un mayor aumento del nivel de progesterona plasmática al día 10 y día 21 post-inseminación en vacas preñadas. Sin embargo, los niveles de progesterona al día 21 en vacas vacías (en especial en T2 y T3) podrían evidenciar una muerte embrionaria temprana o tardía que podrían reflejarse en la extensión o no del ciclo estrual.

Al respecto, Jiménez (2009), menciona que hacia el día 21 - 24 posterior al servicio la medición de progesterona en la leche en vacas preñadas es mayores a 8 ng/ml y al día 35, la proteína B específica de la preñez; así mismo en vacas sin fertilizar y que sufrieron muerte embrionaria temprana al día 21 - 24 posterior al servicio, la medición de progesterona es menor de 8 ng/ml y proteína B específica a la preñez es indetectable.

A si mismo Dunne (2000) indica que aproximadamente el 30% de los embarazos fallan durante los primeros 14 días sin detección clínica; durante este período, dado que la transición de mórula a blastocisto es un período crítico para la supervivencia del embrión, la mayoría (80%) se pierde a los 8 días.

Por su parte Diskin y Morris (2008), indican que en los días 14 y 19, en forma aproximada el 5-10% de las madres “pierde la conciencia” de la madre sobre el embarazo; luego el período de formación de la placenta, entre los días 18-28 y 30-42, en cada En esta etapa, alrededor del 5-10% de los también se pierden embriones.

### CONCLUSIONES

1. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez de las vacas holstein post-inseminación artificial, haciendo mayor énfasis en el T2 (GnRH, día 5) con 30.2% en comparación al T3 (GnRH, día 7) con 16.4% y T1 (control, sin GnRH) con 7.3% preñeces; así mismo al comparar preñeces del T3 versus T1.
2. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez en vacas holstein de crianza intensiva, con mayor énfasis en las preñeces con el T2 en vacas de primer (31.8%), segundo (29.4%) y con más de tres partos (28.6%) en comparación al T3 ( $p<0.05$ ) y T1; a su vez, las preñeces logradas con T3 son superiores ( $p<0.05$ ) a los del T1.
3. La aplicación de la GnRH (acetato de buserelina) incide significativamente ( $p<0.05$ ) en mayor porcentaje de preñez en vacas holstein de crianza intensiva en el T2 para vacas de primer (27.5%), segundo (33.3%) y tercer servicio (50.0%) en comparación al T3 ( $p<0.05$ ) y T1; a su vez, las preñeces logradas con T3 son superiores a los del T1 ( $p<0.05$ ).
4. La progesterona sérica total para T1, T2 y T3 al día 10 fueron en promedio 7.2, 12.0 y 10.7 ng/ml, respectivamente; asimismo, al día 21 fueron 6.4, 10.8 y 9.5 ng/ml, sin diferencias entre los tratamientos para ambos casos. De igual manera, la P4 en vacas preñadas en T1, T2 y T3 al día 10 (8.75, 14.0 y 15.07 ng/ml, respectivamente) como al día 21 post-inseminación (15.0, 14.55 y 10.11 ng/ml, respectivamente) no difieren entre sí ( $p<0.05$ ).

## REFERENCIAS

- DeJarnette J.M., Nebel R.L. Marshal C.E. (2009). Evaluando el éxito del semen clasificado por sexo en rebaños lecheros de EE. UU. En los registros de la granja. *Theriogenology*. 71:49 – 58.
- DeJarnette J.M., Leach M.A. Nebel R.L., Marshal C.E., McCleary C. R., Moreno J. F. (2011). Efecto del ordenamiento sexual y dosis de esperma en las tasas de concepción de vaquillas Holstein: es comparable la fertilidad de los sexos y los convencionales. *J Dairy Sci*. 94: 3477 – 3483. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4214>.
- Gallegos De La Hoya, M.P. y Minjares. E. A. (2010). Causas de infertilidad en bovinos lecheros y enfermedades metabólicas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Durango, México.
- Hernández, J. (2016). Causas y tratamientos de la infertilidad en la vaca lechera. Universidad Autónoma de México, D.F. 10 p.
- López, J. (2002). Las nuevas estrategias de información agraria. Ministerio de Agricultura (MINAG). Dirección General de Información Agraria. 2003 dic. Disponible desde: <http://www.minag.gob.pe>
- López, A. E. (2008). Reconocimiento materno de la preñez e implantación del embrión: modelo bovino. *Anelecta Vet*.

## INTERNET

([https://www.sceti.co.jp/images/psearch/pdf/DSO\\_KIP1458\\_p.pdf](https://www.sceti.co.jp/images/psearch/pdf/DSO_KIP1458_p.pdf)).