

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS REPETIDORAS DE LA
RAZA HOLSTEIN MESTIZAS CON LA APLICACIÓN DE HCG AL MOMENTO DE
LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL”**

AUTOR:

ÁNGEL DAVID ARÉVALO ANGAMARCA

TUTOR:

DR. FROILÁN PATRICIO GARNICA MARQUINA, MSc.

CUENCA - ECUADOR

2020

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Ángel David Arévalo Angamarca con documento de identificación N° 0106457500, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS REPETIDORAS DE LA RAZA HOLSTEIN MESTIZAS CON LA APLICACIÓN DE HCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médico Veterinario Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor, me reservo los derechos morales en la obra citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, febrero del 2020



Ángel David Arévalo Angamarca

C.I. 0106457500

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS REPETIDORAS DE LA RAZA HOLSTEIN MESTIZAS CON LA APLICACIÓN DE HCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL”**, realizado por Ángel David Arévalo Angamarca, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, febrero del 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'F. Garnica Marquina', written in a cursive style.

Dr. Froilán Patricio Garnica Marquina

C.I. 0101650299

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Ángel David Arévalo Angamarca con documento de identificación N° 0106457500, autor del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS REPETIDORAS DE LA RAZA HOSLTEIN MESTIZAS CON LA APLICACIÓN DE HCG AL MOMENTO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, febrero del 2020



Ángel David Arévalo Angamarca

C.I. 0106457500

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. PROBLEMA.....	13
1.2. DELIMITACIÓN.....	13
1.2.1. Temporal.....	13
1.2.2. Espacial.....	13
1.2.3. Académica:.....	14
1.3. EXPLICACION DEL PROBLEMA.....	14
1.4. OBJETIVOS.....	14
1.4.1. Objetivo General.....	14
1.4.2. Objetivos Específicos.....	15
1.5. HIPÓTESIS:.....	15
1.5.1. Hipótesis alternativa.....	15
1.5.2. Hipótesis nula.....	15
1.6. FUNDAMENTO TEORICO.....	15
2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO Y DOCUMENTAL.....	17
2.1. Reproducción Bovina.....	17
2.2. Importancia de la reproducción.....	17
2.3. Repetición de servicios.....	17
2.4. Detección de estros.....	18

2.4.1. Problemas en la detección de estros	18
2.5. Quistes ováricos.....	18
2.6. Anatomía bovina.....	18
2.6.1. Ovarios.....	19
2.6.2. Oviductos o trompas de Falopio	19
2.6.3. Útero	19
2.6.4. Cérvix	20
2.6.5. Vagina.....	20
2.6.6. Vulva.....	20
2.6.7. Ciclo estral de la vaca	21
2.6.8. Fisiología del ciclo estral en el vacuno	21
2.6.9. Fases del ciclo estral	21
2.6.10. Dinámica folicular	24
2.6.11. Hormonas de la reproducción bovina	24
2.7. Inseminación artificial	30
2.7.1. Ventajas de la inseminación artificial.....	31
2.7.2. Desventajas de la inseminación artificial	31
2.8. Resumen del estado del arte del problema	32
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. MATERIALES	33
3.1.1. Materiales físicos	33
3.1.2. Materiales de oficina.....	34
3.1.3. Materiales químicos.....	34
3.1.4. Materiales biológicos.....	34

3.2. METODOLOGÍA.....	35
3.2.1. Diseño	35
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	37
3.3.1. Material Experimental	37
3.3.2. Selección de la muestra	37
3.3.3. Diseño estadístico	38
3.4. CONSIDERACIONES ÉTICAS	38
4. RESULTADO Y DISCUSIÓN	40
4.1. RECOLECCIÓN	40
4.2. ANÁLISIS	45
4.3. COSTOS	47
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	51
5.1. CONCLUSIONES	51
5.2. RECOMENDACIONES.....	51
6. BIBLIOGRAFÍA.....	53
7. ANEXOS.....	57

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos meteorológicos.....	14
Tabla 2. Materiales de campo.....	33
Tabla 3. Materiales de oficina.....	34
Tabla 4. Materiales Químicos.....	34
Tabla 5. Materiales biológicos.....	34
Tabla 6. Variables dependientes.....	38
Tabla 7. Variables independientes.....	38
Tabla 8. Numero de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento A.....	40
Tabla 9. Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento A con valores transformados a $\sqrt{x+0.5}$	41
Tabla 10. Numero de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento B.....	42
Tabla 11. Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento B con valores transformados a $\sqrt{x+0.5}$	43
Tabla 12. t de student para el factor de preñez de los Tratamientos A= (IA sin hCG), B= (IA con hCG) con datos transformados a $\sqrt{x+0.5}$	45
Tabla 13. Costo total por Tratamiento.....	47
Tabla 14. Costo por Animal (Tratamiento A).....	48
Tabla 15. Costo por Animal (Tratamiento B).....	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preñes tratamiento A	42
Figura 2. Preñes tratamiento B.....	44
Figura 3. Porcentaje de Preñez por tratamiento	45

INDICE DE GRAFICOS

Cuadro 1. Programa de sincronización tratamiento A	36
Cuadro 2. Programa de sincronización tratamiento B	37

Anexos

Foto 1. Preparación, aplicación de DIB y benzoato de estradiol	57
Foto 2. Retiro de DIB y aplicación de Prostaglandina al día 7 de la sincronización.....	57
Foto 3. Aplicaciones de Benzoato de estradiol en el día 8 de la sincronización.	58
Foto 4. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en el día 9 de la sincronización.....	58
Foto 5. Aplicación de hCG después de la inseminación artificial en el día 9 de la sincronización	59
Foto 6. Diagnóstico de gestación mediante Ultrasonografía, después de los 45 días post inseminación artificial.....	59
Foto 7. Hormonas utilizadas para la sincronización de celo e inseminación artificial a tiempo fijo.....	60

RESUMEN

Este estudio se realizó en explotaciones ganaderas de la parroquia Cumbe del Cantón Cuenca, Provincia del Azuay, con la finalidad de evaluar si la aplicación de hCG al momento de la inseminación artificial (IA) incrementa la fertilidad en vacas repetidoras. La investigación se hizo con una población de 40 vacas, las cuales fueron distribuidas en dos grupos experimentales, cada uno con 20 animales. Grupo A recibió un protocolo de E2-P4-PGF2alfa e IA con aplicación de 2000 UI de hCG vía intramuscular; el grupo B recibió el protocolo de E2-P4-PGF2alfa con IA sin aplicación de hCG. La variable analizada fue la preñez; los resultados se registraron mediante una tabulación, para demostrar si el porcentaje de vacas preñadas en el grupo A, era mayor, menor o igual que el obtenido en el grupo B. La inseminación se realizó 52 horas después de retirado el dispositivo intravaginal de progesterona, usando pajillas de 0.5ml de semen comercial. Posterior a los 35 días de la inseminación se realizaron ecografías en vacas que no repitieron celo después de los 21 días post inseminación artificial, para así detectar la preñez o no de las vacas tratadas. Con los datos obtenidos se realizó una tabulación en “t de Student” con igual número de repeticiones, encontrando que no existe una diferencia significativa entre tratamientos, así se puede determinar que la aplicación de hCG post IA estadísticamente no representa un aumento en el índice de preñez, pero matemáticamente obtuvo mayor eficacia el tratamiento A; como resultado, el tratamiento A obtuvo un 55% de efectividad, mientras que el tratamiento B presento un 45% de efectividad. Este resultado muestra que si existe una diferencia entre tratamientos. En cuanto a costo el tratamiento A resulto ser relativamente mayor al tratamiento B, con \$ 6.40 dolaras americanos.

ABSTRACT

This study was carried out in livestock farms in the parish Cumbe, Canton Cuenca, Azuay Province, in order to assess whether the application of hCG at the time of artificial insemination (AI) increases fertility in repeating cows. The research was done with a population of 40 cows, which were distributed in two experimental groups, each with 20 animals. Group A received a protocol of E2-P4-PGF2alfa and AI with application of 2000 IU of hCG intramuscularly; Group B received E2-P4-PGF2alfa protocol with AI without hCG application. The variable analyzed was pregnancy; The results were recorded through a tabulation, to show if the percentage of pregnant cows in group A was greater, less than or equal to that obtained in group B. Insemination was performed 52 hours after the intravaginal progesterone device was removed, using 0.5ml straws of commercial semen. After 35 days of insemination, ultrasounds were performed in cows that did not repeat heat after 21 days after artificial insemination, in order to detect the pregnancy or not of the cows treated. With the data obtained, a "t Student" tabulation was performed with the same number of repetitions, finding that there is no significant difference between treatments, so it can be determined that the application of hCG post IA statistically does not represent an increase in the rate of pregnancy, but mathematically treatment A was more effective; as a result, treatment A obtained a 55% effectiveness, while treatment B presented a 45% effectiveness. This result shows that there is a difference between treatments. In terms of cost, treatment A proved to be relatively greater than treatment B, with \$ 6.40 US dollars.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la actividad ganadera exige, a cada uno de los productores poseer una alta eficiencia en el conocimiento reproductivo para de esta manera incrementar el valor productivo del animal, generando rentabilidad. La falla en la concepción o infertilidad, constituye el problema reproductivo más importante en los hatos lecheros (Hernández C. y Morales R., 2011).

El desempeño reproductivo es el principal componente en cuanto a eficiencia productiva en las explotaciones ganaderas, y uno de los factores que afectan la eficiencia reproductiva es el intervalo entre partos, el cual está directamente influenciado por el anestro post parto. Una nutrición adecuada es esencial para la recuperación de la actividad ovárica luego del parto, cuando el consumo de nutrientes es inadecuado y las reservas corporales están disminuidas, el intervalo parto-primer estro se extiende. La tasa de gestación en el ganado lechero de alta producción, disminuye debido a: una pobre expresión o detección de celos, anestros, baja tasa de concepción y elevadas mortalidades embrionarias (Thatcher, et al., 2002).

Para evitar los problemas de la detección de celos en hatos de cría se han desarrollado protocolos de sincronización de la ovulación que permiten además inseminar animales en un periodo establecido. Estos tratamientos se conocen con el nombre de protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). El uso de las hormonas liberadoras de gonadotrofinas (GnRH) o de la gonadotrofina coriónica humana (hCG) al momento de la inseminación, es una alternativa para enfrentar la falla en la concepción debido a que sincronizan la ovulación retardada y mejora el desarrollo del cuerpo lúteo (Hernández, C., et al., 1998)

La finalidad de la investigación presente es establecer el mecanismo de acción de la hormona (hCG) Gonadotropina Coriónica Humana, al momento de la inseminación artificial en vacas repetidoras, evaluando su eficacia en cuanto a la tasa de preñez.

1.1. PROBLEMA

La aplicación de esta alternativa de inseminación artificial, protocolo E2-P4-PGF2 alfa, Gonadotropina coriónica humana (hCG) en una muestra de bovinos de la raza Holstein mestizos, en la parroquia de Cumbe, pretende evaluar el comportamiento de la hormona ya referida en el afán de obtener mayores tasas de preñez del ganado; por lo que generara una alternativa de protocolo de sincronización para inseminación artificial a tiempo fijo, esto en caso de ser aprobada la hipótesis alternativa. De esta manera se garantizará un aumento en la productividad ganadera y en el ingreso económico del ganadero.

Esta técnica de inseminación artificial se ha utilizado en varias ocasiones, en muestras de bovinos de la raza Holstein y otras, en sectores ganaderos del Austro ecuatoriano y en diversas partes del mundo, obteniendo resultados de diferente grado de eficacia. La presente investigación pretende establecer parámetros de aplicación para la zona específica de estudio.

Por último, el estudio se direcciona a aplicar los conocimientos adquiridos durante los estudios académicos, al campo, es decir llegar a la aplicación de lo aprendido con una visión de conseguir experiencias que servirán en el ámbito profesional.

1.2. DELIMITACIÓN

1.2.1. Temporal

El proceso investigativo tuvo una duración de 400 horas, distribuidas en el proceso experimental y escrito.

1.2.2. Espacial

La investigación se realizó en las principales zonas ganaderas de la provincia de manera principal en la parroquia de Cumbe, la cual se encuentra ubicada en la provincia del Azuay cantón Cuenca.

Tabla 1. *Datos meteorológicos.*

Coordenadas (UTM)	17M718083;9684295
Superficie	Puesto 3.º - Total 72 km ²
Altitud	Media - 2885 m s. n. m.
Clima	15° C
Población (2010)	Puesto 3.º
• Total	329 928 hab. ¹
• Densidad	4673,86 hab/km ²
• Metropolitana	661 685 (Conurbación de Cuenca) hab.

Fuente: (Google maps 2019)

1.2.3. Académica:

El presente trabajo investigativo, se fomenta en el fortalecimiento de la reproducción animal, lo cual es de gran importancia para establecer una buena producción dentro de la industria reproductiva.

1.3. EXPLICACION DEL PROBLEMA

Actualmente la mayoría de las explotaciones ganaderas se encuentran usando la inseminación artificial a tiempo fijo, al igual que todos sus protocolos y combinación de diversas hormonas con el objetivo de mejorar sus hatos ganaderos, esto ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas para tratar de incrementar el porcentaje de preñez y como una manera de tratar los problemas reproductivos en vacas que les resulta dificultoso preñarse.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General.

- Evaluar el porcentaje de preñez en vacas Holstein mestizas aplicando hCG en el momento de Inseminación Artificial, en protocolos de sincronización de la ovulación E2-P4-PGF2 alfa.

1.4.2. Objetivos Específicos.

- Determinar los porcentajes de preñez utilizando hCG al momento de la Inseminación Artificial.
- Analizar los costos beneficio con la aplicación de este protocolo de inseminación artificial.

1.5. HIPÓTESIS:

1.5.1. Hipótesis alternativa

Ha: La aplicación de la hormona hCG en el momento de la inseminación contribuye a aumentar la tasa de preñez de los vacunos.

1.5.2. Hipótesis nula

Ho: La aplicación de la hormona hCG en el momento de la inseminación no contribuye a aumentar la tasa de preñez de los vacunos.

1.6. FUNDAMENTO TEORICO

De acuerdo a los bajos porcentajes de preñez obtenidos en las diferentes explotaciones ganaderas, han llevado a buscar las alternativas más apropiadas para poder generar e incrementar los índices de preñez y obtener mejores resultados.

Considerando que la reproducción es parte importante en la producción de las explotaciones ganaderas y teniendo en cuenta que mediante monta natural puede generar riesgos por el hecho que se puede provocar la diseminación de enfermedades de transmisión sexual, así como también se dificulta el poder llevar un control y seguimiento exacto en animales gestantes.

Mientras que con la inseminación artificial a tiempo fijo justamente con la acción de la hormona Gonadotrofina Coriónica Humana (hCG) podríamos elevar los porcentajes de preñez mediante su mecanismo de acción dentro de un protocolo de sincronización de celo y consigo

se podría llevar registros, programar partos, evitar diseminación de enfermedades y mejorar genéticamente los hatos ganaderos.

2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Reproducción Bovina

El proceso reproductivo constituye la esencia de la renovación biológica en todas las especies. Una alta eficiencia reproductiva es requisito indispensable para el éxito económico, tanto de la ganadería lechera como de la de carne. La baja eficiencia reproductora se traduce en mermas directas en la producción láctea y cosecha de becerrada, e indirectamente en la producción anual de carne (menos becerros destetados). El proceso reproductivo está regulado por el sistema endocrino e influenciado fuertemente por las condiciones ambientales en que se desenvuelven los animales (Gasque, 2016, p.1-10).

2.2. Importancia de la reproducción

La reproducción es una función de lujo y es el punto de partida de la producción. El conocimiento del ciclo estral y sus diferentes fases permite al veterinario realizar una evaluación del “estatus” reproductivo, productivo y del sistema en general. Es de fundamental importancia el conocimiento del ciclo estral para la evaluación reproductiva y en la regulación artificial o natural del ciclo sexual, (sincronización de celo: prostaglandina). El conocimiento del ciclo permite también la definición del tiempo de espera voluntario para el inicio de los servicios. Permite definir los momentos de este proceso en el año. Hoy en día en Uruguay se están viendo disminuidos los periodos de manifestación de celo, lo que implica cambiar los actuales sistemas de inseminación (Bearden, 1982, p. 89).

2.3. Repetición de servicios

Una vaca repetidora o repeat breeder es una vaca que no ha concebido después de tres o más servicios asociados con estros verdaderos. En hatos con fertilidad normal, donde las tasas de concepción se encuentran alrededor del 50 al 55%, es de esperarse que cerca del 9 al 12% de las vacas sean repetidoras Si más del 15% de las vacas requieren más de tres servicios, se

debería considerar el problema de vaca repetidora como de gran significancia para el predio, requiriendo una valoración desde los registros de reproducción (Brunner, 2019, pp. 1-2).

2.4. Detección de estros

2.4.1. Problemas en la detección de estros

Gustavino (2007) divide a los principales problemas de la detección de celo en fisiológicos y de manejo.

2.4.1.1. Fisiológicos.

- La corta duración del celo.
- Tendencia a manifestarse en el horario de 18 a 6 hs (horario de difícil observación).
- Un único indicador: la pasividad a la monta.

2.4.1.2. De Manejo.

- La identificación de los animales es errónea, llevando a fallas en los registros de datos.
- Poco conocimiento por parte del responsable sobre detección.
- No se le brinda el debido tiempo a la actividad de detección. Se trata de detectar cuando se realizan otras actividades

2.5. Quistes ováricos

Los quistes ováricos en las vacas lecheras se mencionan como la causa principal de pérdida económica y disfunción reproductiva en producciones lecheras (Garverick , 1997) y las vacas a las que se les diagnostica quistes a menudo exhiben intervalos entre partos abiertos (Bartlett, et al., 1986, p. 15).

2.6. Anatomía bovina

Los órganos del aparato reproductor femenino (de la hembra) incluyen ovarios, oviductos, el útero, cuello uterino, la vagina y los genitales externos. Los órganos genitales internos (el 1° de 4 componentes) están sostenidos por el ligamento ancho. Este ligamento consta del

mesoovario que sostiene al ovario el mesosálpinx que sostiene al oviducto punto y coma y él mesometrio que sostiene al útero en bovinos y ovinos la inserción del ligamento ancho es dorsolateral en la región del íleon de modo que el útero está dispuesto como los cuernos de un carnero con la convexidad dorsal y los ovarios situados cerca de la pelvis (Hafez y Hafez, 2002, p. 13).

2.6.1. Ovarios

El ovario, a diferencia del testículo, permanece en la cavidad abdominal. Realiza tanto funciones exocrinas (liberación de óvulos) como endocrinas(esteriodogénesis). El tejido predominante del ovario es la corteza. Las células germinales primordiales se originan fuera de la gónada y emigran a través del mesenterio el saco vitelino hacia las crestas genitales (Hafez y Hafez, 2002, pp. 13-14)

2.6.2. Oviductos o trompas de Falopio

Son dos tubos finos y flexuosos de 20 a 35 cm de largo, que comunica el útero con los ovarios. Es el lugar donde se realiza la fecundación (unión del óvulo con el espermatozoide) (Robson y Aguilar, 2004, p. 3).

2.6.3. Útero

El útero consta de dos cuernos uterinos un cuerpo y un cuello. Las proporciones relativas de las distintas partes así como la forma y disposición de los cuernos uterinos varían con la especie. En la cerda, el útero es bicorne. Los cuernos están flexionados o enrollados y pueden medir hasta unos 120 a 150 centímetros de longitud mientras que el cuerpo del útero es corto. Dicha longitud es una adaptación anatómica para la producción exitosa de camadas grandes. En vacas, ovejas y yeguas, el útero es bipartido. Estos animales tienen un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente (que en la yegua es más grande). En rumiantes,

el epitelio uterino tiene varias carúnculas. Ambos lados del útero están unidos a las paredes pélvicas y abdominal por el ligamento ancho (Hafez y Hafez, 2002, p. 21).

2.6.4. Cérvix

El cuello uterino forma parte del útero y es una estructura de tipo cilíndrica con bordes transversales o espirales alternados, llamados anillos (generalmente son tres), los cuales representan el segundo obstáculo para la IA. El cervix mide de 8 a 10 cm. Y entre sus principales funciones están las de facilitar el transporte de los espermatozoides hacia la luz del útero mediante la producción de moco, actúa como reservorio de espermatozoides y durante el celo, la musculatura lisa del cervix se relaja bajo la influencia de estrógenos posibilitando la apertura del canal cervical lo cual facilita la IA. En contraste con esto, durante la gestación y el diestro conducto cervical queda sellado por un moco viscoso que actúa como barrera contra el transporte de esperma y la invasión de bacterias (Bespín, Rivero, y Morgado, 2007, p. 151)

2.6.5. Vagina

La pared vaginal consta de epitelio superficial, una capa muscular y una serosa. Su capa muscular no está tan bien desarrollada como las partes externas del útero; consiste en un estrato circular interno grueso y otro longitudinal externo delgado; este último se continúa alguna distancia en el interior del útero. La capa muscular es rica en vasos sanguíneos paquetes nerviosos grupos de células nerviosas y tejido conectivo laxo y denso. La vaca es la única que presenta un esfínter muscular anterior además del esfínter posterior presente en los demás mamíferos domésticos (Hafez y Hafez, 2002, p. 27).

2.6.6. Vulva

Forma el orificio sexual externo y se compone de dos labios. Inmediatamente por delante de la unión de los labios, en el piso vulvar, se encuentra el clítoris, que constituye un vestigio del pene (Robson y Aguilar, 2004, p. 4)..

2.6.7. Ciclo estral de la vaca

Durante la vida reproductiva, las hembras de las especies domésticas presentan ciclos estrales, los cuales comprenden una serie de eventos ováricos, endocrinos y conductas recurrentes que tienen la finalidad de que ocurra la ovulación, el apareamiento y la gestación (Galina y Valencia, 2008, pág. 156). Esta actividad cíclica reproductiva (ciclos estrales) aparece en la pubertad a los 12 -15 meses en el ganado lechero (Manteca, 2009).

En los bovinos, el ciclo estral tiene una duración media de 21 días en las vacas y 20 días en las vaconas, considerándose normal siempre que esté comprendido entre 18 y 24 días. No obstante, los ciclos que se inician en el posparto temprano son más cortos, aproximándose a los 15 días (Quintela, 2013, p. 33).

2.6.8. Fisiología del ciclo estral en el vacuno

Un ciclo estral inicia con el momento de receptibilidad sexual o estro y concluye con el siguiente estro. Si después de la cópula se logra la fertilización, los ciclos estrales se ven interrumpidos por un anestro fisiológico. Adicionalmente, eventos patológicos como infecciones reproductivas, persistencia del cuerpo lúteo (CL), malnutrición y estrés, pueden causar la inhibición de los ciclos estrales (Galina y Valencia, 2008, p. 157).

2.6.9. Fases del ciclo estral

2.6.9.1. Fases del ciclo Estral

En un ciclo de 21 días, el proestro dura 1-3 días, el estro de 8 a 24 horas, el metaestro 2 - 4 días y la fase intermedia (diestro) 12-14 días. En el 65% de las hembras, la separación entre dos celos es 19-24 días; aproximadamente el 15% muestra un celo renovado al cabo de 3 y 18 días, y un porcentaje similar al cabo de 24 días (Busch y Waberski, 2007). El ciclo estral se divide en cuatro etapas:

2.6.9.1.1. Proestro

Esta fase inicia cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y las concentraciones de progesterona se disminuyen. Aquí aumenta la producción de estradiol e inhibina secretados por el o los folículos que comenzaron su desarrollo durante el diestro (Galina y Valencia, 2008).

Esta etapa se caracteriza por el incremento de la frecuencia de los pulsos de secreción de la hormona luteinizante (LH) que conducen a la maduración final del folículo ovulatorio y al incremento de estradiol, lo que desencadena el estro (Hernández, 2016). Por lo que, la creciente producción de estrógenos foliculares inicia la preparación del aparato reproductivo para el apareamiento.

La duración del proestro está determinada por el grado de desarrollo en el que se encuentre el folículo que es aproximadamente tres días. El final de esta etapa coincide con el inicio de la receptibilidad sexual (Galina y Valencia, 2008).

2.6.9.1.2. Estro

En esta etapa la hembra acepta la cópula o la monta de una compañera. Esta conducta es determinada por un incremento significativo de las concentraciones de estradiol producido por un folículo preovulatorio y por la ausencia de un cuerpo lúteo.

La conducta estral tiene como fin llamar la atención del macho para el apareamiento. Por efecto de los estrógenos la hembra está inquieta, camina más, interactúa con sus compañeras y acepta la monta de otra hembra (conducta homosexual). También los estrógenos provocan turgencia del útero, edema en los genitales externos y producción de moco cervical. La duración del estro es de 12 a 18 h y es afectada por el tipo de ganado y por las condiciones ambientales. El inicio del estro guarda una relación temporal con la secreción ovulatoria de LH (pico de LH), ya que los estrógenos al mismo tiempo que provocan la conducta estral también

desencadenan el pico de LH. Entre el inicio del estro y el pico de LH transcurren de 2 a 6 horas, y en algunos casos estos dos eventos ocurren simultáneamente. La ovulación mantiene una relación temporal constante con el pico de LH, en general, la ovulación ocurre de 28 a 30 h después del pico de LH, o, visto de otra manera, de 30 a 36 h después del inicio del estro. Para un mejor entendimiento y manejo de la nomenclatura del ciclo estral el estro se considera como el día cero del ciclo (Hernández y Ortega, 2009, p. 12).

2.6.9.1.3. Metaestro

Esta fase dura cuatro días y los síntomas que se observan son: tranquilidad sexual con posible duración del reflejo del abrazamiento, la vulva se torna plegada, en algunas hembras el flujo sanguinolento más o menos oscuro (hemorragia proestral) más frecuente en las vaquillas que en las vacas (Sequeira, 2013, p. 52).

El metaestro, es el periodo comprendido desde el final del celo (rotura del folículo) hasta la formación del cuerpo lúteo. Durante los 3 días siguientes se desarrollará el CL a partir de las paredes del folículo roto. Es en esta fase del ciclo cuando se libera el ovulo. Una vez producida la ovulación, las células de la teca y de la granulosa del folículo se hacen sensibles a la LH y, por su estímulo, forman el cuerpo lúteo o cuerpo amarillo, que empezará a producir progesterona. Esta hormona es la responsable de preparar el útero para la gestación y de inhibir la actividad cíclica estral (Ungerfeld, 2003, p. 39).

2.6.9.1.4. Diestro

El diestro es la etapa de mayor duración del ciclo estral (12 a 14 días). Durante esta etapa el cuerpo lúteo mantiene su plena funcionalidad lo que se refleja en niveles sanguíneos de progesterona mayores de 1 ng/ml. Además, en esta fase se presentan ondas de desarrollo folicular, por lo cual se pueden observar folículos de diferente tamaño. Después de 12-14 días de exposición a progesterona el endometrio comienza a secretar PGF₂ en un patrón pulsátil, el

cual termina con la vida del cuerpo lúteo y con el diestro. En términos endocrinos cuando el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad, es decir, cuando las concentraciones de progesterona disminuyen por debajo de 1 ng/ml, termina el diestro y comienza el proestro. Cabe mencionar que durante esta etapa la LH se secreta con una frecuencia muy baja, y la FSH tiene incrementos que coinciden con el inicio de las ondas de desarrollo folicular (Hernández y Ortega, 2009, pp. 14-15).

Los síntomas que se manifiestan son: silencio sexual, vulva plegada, mucosa vestibular de color rosado pálido, desaparición del brillo de la superficie y la humedad (órganos sin flujo) (Sequeira, 2013, p. 52).

2.6.10. Dinámica folicular

El proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos antrales que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio se conoce como dinámica folicular y se refiere al crecimiento de dichas estructuras en oleadas o grupos. Durante un ciclo estral pueden ocurrir una o más oleadas (Lucy, Savio, Badinga, De la Sota, y Thatcher, 1992).

Como se esquematiza, en cada oleada, un grupo de folículos es reclutado o escogido para que salgan del estado de latencia e inicien un proceso de crecimiento. De este conjunto, uno o varios son seleccionados y finalmente uno de ellos se convierte en dominante (en hembras monotocas), mientras el resto sufre atresia en tanto que el folículo dominante de la última oleada en un ciclo estral (CE) está destinado a ovular (Savio, Boland, y Roche, 1990).

2.6.11. Hormonas de la reproducción bovina

Las hormonas son sustancias orgánicas químicamente complejas de diversa naturaleza en función de la glándula que las produce. Pueden ser de tipo fenológico (tiroideas), proteico o glicoproteico (hipofisarias), polipéptido (hipotalámicas) o esteroideo (sexuales) (Elli, 2005). Se transportan a distintas regiones corporales a través del torrente circulatorio donde ejercen

su acción sobre determinadas células diana, regulando así todo el metabolismo del cuerpo (Fuller, 2008).

Las hormonas de la reproducción se dividen en dos tipos, según el tipo de reproducción que ejercen:

- Las hormonas primarias de la reproducción
- Las hormonas metabólicas que influyen en la reproducción.

Las primeras forman parte directa de varios aspectos de la reproducción como la espermatogénesis, la ovulación, el comportamiento sexual, la fecundación, la implantación, el mantenimiento de la gestación, el parto, la lactación y el comportamiento materno.

Las hormonas metabólicas son necesarias para el bienestar general, y el estado metabólico del animal, lo cual permite que ocurra la reproducción. En general, las hormonas metabólicas influyen en el crecimiento, desarrollo y metabolismo, y puede considerarse que permiten la acción de la reproducción (Hafez y Hafez, 2002, pp. 38-39).

2.6.11.1. Hormonas hipotalámicas

Las hormonas del hipotálamo que regulan la reproducción son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH o LH-RH), ACTH y el factor inhibidor de prolactina (*prolactin inhibiting factor*, PIF). El hipotálamo es también la fuente de oxitocina y vasopresina que están almacenadas en la neurohipófisis lóbulo posterior de la hipófisis (Hafez y Hafez, 2002, p. 38)

Controla la liberación de las gonadotropinas hipofisiarias: hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), su secreción es en forma pulsátil y su frecuencia depende de factores como: época del año, etapa del ciclo estral, edad, estado nutricional, entre otros, culminando en un mayor o menor desarrollo folicular, adicionalmente en forma cíclica es secretado un pico preovulatorio el cual es inducido por los estrógenos provenientes de folículos

maduros concluyendo en la secreción de un pico preovulatorio de LH (Galina y Valencia, 2008, p. 119).

2.6.11.2. Hormonas adenohipofisarias

Son glicoproteínas producidas y liberadas por la hipófisis anterior, de donde se vierten al torrente sanguíneo, para así alcanzar su órgano objetivo: las gónadas (ovarios). Favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir. La síntesis y la liberación de las hormonas hipofisarias gonadotrópicas, son reguladas por la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas (GnRH), misma que provee el enlace entre los sistemas nervioso y endócrino (Prieto y Velázquez, 2002, p. 253).

Según Hafez y Hafez (2002) mencionan la hipófisis secreta dos tipos de hormonas:

Adenohipofisarias: Son secretadas por el lóbulo anterior de la hipófisis, secreta tres hormonas gonadotrópicas: FSH, LH y prolactina (PRL) entre otras.

Neurohipofisarias: Las hormonas de este lóbulo posterior difieren de las otras hormonas hipofisarias en que ellas no se originan en esta glándula, si no que únicamente se almacenan ahí hasta que se necesitan. La oxitocina (hormona para la secreción de la leche) y vasopresina (hormona antidiurética o ADH), se producen en el hipotálamo de donde son transferidas a esta estructura de la hipófisis, a través de los axones del sistema nervioso (pp. 38-39).

2.6.11.2.1. Hormona Folículo estimulante (FSH).

La hormona foliculoestimulante promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graff. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por sí sola, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno. En el macho la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos de los testículos y es responsable de la espermatogénesis hasta el estado de espermatocito secundario posteriormente

andrógenos de los testículos apoyan las etapas finales de la espermatogénesis (Hafez y Hafez, 2002, p. 38).

2.6.11.2.2. Hormona Luteinizante (LH)

Las hormonas gonadotropinas luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH) se producen y secretan por la hipófisis, y la gonadotropina coriónica (HCG) es de origen placentario: la LH y la FSH son las que regulan la función reproductora en los mamíferos ejercen sus acciones primarias sobre las gónadas (Daughady, 1987). La LH estructuralmente tiene dos cadenas polipeptídicas la cadena alfa (a) y la cadena beta (b) que es la encargada de la especificidad de acción a los receptores de cada hormona (Charles, 1990). Su cuantificación es útil para la predicción y determinación de la ovulación, además para el estudio y tratamiento de la infertilidad y la planificación familiar (Mateo de Acosta, 1985). También es útil en el diagnóstico y pronóstico de los pacientes con tumores pituitarios secretores de gonadotropinas especialmente de LH (White, 1990).

2.6.11.2.3. Gonadotropinas placentarias.

La placenta secreta varias hormonas, ya sea idénticas a, o con una actividad biológica similar a la a la hormona de la reproducción en los mamíferos: gonadotropina coriónica equina (eCG) gonadotropina coriónica humana (hCG), lactógeno placentario (PL), y proteína B (Hafez y Hafez, 2002, p. 45).

2.6.11.2.4. Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)

La glucoproteína hCG consiste en subunidades alfa y beta con peso molecular de 40000 daltons. La subunidad alfa tiene 92 aminoácidos y dos cadenas de carbohidratos. La subunidad alfa de hCG es similar a las subunidades alfa de LH humano, porcino, ovino y bovino. La subunidad beta tiene 145 aminoácidos y 5 cadenas de carbohidratos. La hCG es principalmente luteinizante y lúteotrópica tiene poca actividad de FSH. La hCG es sintetizada por las células

sincitiotróficas en la placenta de los primates; se encuentra hCG tanto en la sangre como en la orina. Su presencia en la orina durante las primeras etapas de la preñez es la base de varias pruebas de embarazo en humanos, realizada en el laboratorio. Esta es detectada en la orina 8 días después de la concepción por pruebas inmunológicas sensibles (Hafez y Hafez, 2002, p. 45).

2.6.11.2.5. Mecanismo de acción

La hCG lleva a cabo sus efectos al unirse con el receptor de LH/hCG, que pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G y presenta amplia distribución en diferentes tejidos. Debido a la similitud estructural entre la hCG y la LH, ambas se unen al mismo receptor, aunque las acciones de la hCG son más potentes, ya que tiene mayor afinidad por el receptor y mayor vida media en la circulación sanguínea (Rao y Lei, 2007, p. 2).

El gen del receptor está localizado en el cromosoma 2q21 y está constituido por 11 exones. Los exones 1-10 codifican para la mayor parte del dominio extracelular, mientras que el exón 11 codifica para una pequeña parte del dominio extracelular, la región transmembranal y la región intracelular que contiene el extremo carboxilo terminal (Ziecik , et al., 2007, p. 53).

Las funciones mejor documentadas de la hCG están relacionadas con eventos reproductivos, particularmente con el embarazo. Se ha demostrado que la hCG es necesaria para evitar la luteólisis, así como para mantener la síntesis y la secreción de P4 por las células del cuerpo lúteo (Jameson y Hollenberg , 1993, p. 204).

2.6.11.2.6. Hormonas neurohipofisarias

Las hormonas de la hipófisis posterior (neurohipófisis) difieren de las otras hormonas hipofisarias en que ellas no se originan en la hipófisis, sino únicamente se almacenan hasta que se necesiten. Las dos hormonas, oxitocina (secreción de leche y parto) y vasopresina (hormona antidiurética o ADH), en realidad se producen en el hipotálamo. Estas hormonas son

transferidas del hipotálamo a la hipófisis posterior, siguiendo la vía de los axones del sistema nervioso (Hafez y Hafez, 2002, p. 39).

Oxitocina. Sintetizada en el núcleo supraóptico del hipotálamo es transportada por los axones de los nervios hipotalámicos, en pequeñas vesículas rodeadas de una membrana. Además, se produce en el cuerpo lúteo. La secreción de oxitocina es estimulada vía neurogénica por el amamantamiento, ordeño, parto, dilatación cervical o vaginal o el estímulo clitoridiano, siendo la acetilcolina el modulador estimulante y la adrenalina y la noradrenalina los agentes inhibidores. La oxitocina causa la contracción de la célula mioepiteliales (células musculares lisas) que rodean los alveolos de la glándula mamaria provocando la descarga de leche (Hafez y Hafez, 2002, p. 40).

2.6.11.3. Hormonas Gonadales y del Tracto Reproductor de la Vaca

2.6.11.3.1. Estrógeno.

Esteroides secretados por la teca interna del folículo ovárico es responsable del comportamiento sexual, características sexuales secundarias y posee un efecto anabólico. Los estrógenos derivan del ciclopentano-perhidro-fenantreno, poseen un núcleo esteroide formado de tres anillos con seis carbonos cada uno y un ciclo pentano.

Existen diferentes preparados comerciales de estrógenos, que se diferencian en cuanto a su efecto farmacológico principalmente a su vida media o duración. Esta respuesta debe ser considerada cuando se administran en combinación con progestágenos en los programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), ya que la respuesta en la dinámica folicular variará de acuerdo con el tipo de estrógeno utilizado, la dosis aplicada y el momento de la aplicación (al comienzo o al fin del tratamiento). Dentro de los diferentes tipos de estrógenos disponibles en el mercado se pueden citar:

17 Beta-Estradiol (17_E). Estrógeno natural, vida media muy corta (24-36 horas)

Benzoato de Estradiol (BE). Se caracteriza por ser de vida media corta (3 días)

Valerato de Estradiol (VE). Tiene vida media larga, variando entre 7 a 9 días

Cipionato de Estradiol (ECP). Posee vida media muy larga, entre 10 a 12 días (Gutiérrez, 2008)

2.6.11.3.2. Progesterona.

La progesterona es el prostágeno natural más prevalente, y es secretada por las células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal. La progesterona es transportada en la sangre por una globulina de enlace, al igual que los andrógenos y estrógenos. La secreción de progesterona es estimulada por la LH principalmente.

La progesterona realiza las siguientes funciones:

Prepara el endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretarias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio.

Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral.

Desarrolla el tejido secretor (alveolos) de las glándulas mamarias.

En concentraciones altas inhibe el estro y la oleada ovulatoria de LH. Así, la progesterona es importante en la regulación hormonal del ciclo estral.

Inhibe la movilidad uterina (Hafez y Hafez, 2002, p. 43).

2.7. Inseminación artificial

“La inseminación artificial puede definirse como la biotecnología para la aplicación de semen en el tracto genital de una hembra en el momento efectivo para la fecundación” (Giraldo, 2007, p.51).

La inseminación artificial (artificial insemination, AI) es la técnica individual más importante creada para el mejoramiento genético de animales, debido a que unos pocos machos seleccionados producen suficientes espermatozoides para inseminar miles de hembras al año (Hafez y Hafez, 2002, p.387).

2.7.1. Ventajas de la inseminación artificial

- Mejoramiento genético: permite aumentar el número de crías por toro y por año. En un servicio natural se utiliza un 3 a 4 % de toros, lo que significa que un toro puede servir entre 25 a 35 vacas por servicio. En la I.A. de un solo eyaculado se pueden obtener 240 pastillas.
- Fácil transporte de material genético: resulta más económico transportar semen que el toro.
- Conservación prolongada del semen: durante muchos años, aún después de muerto el animal.
- Reducción o eliminación de toros de los rodeos.
- Prevención y control de enfermedades: la I.A. elimina el contacto directo entre el macho y la hembra, con lo que se previenen enfermedades de transmisión venérea (Vibriosis y Tricomoniasis) y otras.
- Mantenimiento de registros seguros (Robson y Aguilar 2004, p.3).

2.7.2. Desventajas de la inseminación artificial

- El costo inicial de equipo
- Las enfermedades pueden difundirse cuando se utilizan sementales enfermos.
- La consanguinidad tiende a incrementarse cuando se utilizan sementales de una sola línea genética durante muchos años.

- Implica de un dominio de la técnica. Es necesario que el técnico inseminador sea entrenado en una empresa especializada que cuente con bastante experiencia.
- Requiere una muy buena elección del celo (capacitar personal) (Galina, Salteil, y Valencia 1986, pp.57-59).

2.8. Resumen del estado del arte del problema

Uno de los mayores problemas en las explotaciones de ganado destinado a la producción de carne y leche son bajos índices reproductivos; Bajos porcentajes de fertilidad y altos números de días abiertos que provocan pérdidas económicas muy importantes (Sosa, 2000).

Sin embargo, es importante realizar esta investigación debido a que permite evaluar el porcentaje de preñez en vacas repetidoras utilizando un antibiótico de inseminación artificial. Históricamente la proporción de hembras inseminadas en el país ya supera al 4 % del rodeo nacional. Con la aparición de técnicas de inseminación a tiempo fijo la utilización aumentar estimándose que hoy es utilizada entre 7 y 8 por ciento de los rodeos. La Inseminación artificial a Tiempo Fijo es una técnica que, mediante la utilización de hormonas, permite sincronizar los celos y ovulaciones con lo cual es posible inseminar una gran cantidad de animales en un periodo corto de tiempo (Raso, 2012, p. 203).

La gran ventaja de la inseminación artificial es el aprovechamiento del potencial genético de reproductores de excelentes características para diseminar estas cualidades en pos de mejorar la genética. Durante muchos años especialmente en el siglo anterior se desarrollaron sistemas de colecta y procesamiento de semen bovino, así mismo se han tecnificado los protocolos de inseminación en condiciones comerciales. En el Ecuador la Inseminación artificial bovina no es una técnica ajena y en los últimos años su uso y tecnificación ha mejorado significativamente.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales físicos

Tabla 2. *Materiales de campo*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Cámara digital	Unidad	1
Esferográfico	Unidad	1
Cuaderno de campo	Unidad	1
Overol	Unidad	1
Botas	Unidad	1
Soga	Unidad	1
Cafetera	Unidad	1
Guantes ginecológicos	Caja	1
Pistola de inseminar	Unidad	1
Catéter de inseminar	Caja	1
Jeringas 3 cc	Caja	1
Agujas	Caja	1
Papel higiénico	Caja	1
Corta pajuelas	Unidad	1
Pajuelas	Unidad	40
Lubricante	Unidad	1
Termo de agua	Unidad	1
Termo de nitrógeno	Unidad	1
Ecógrafo	Unidad	1

3.1.2. Materiales de oficina

Tabla 3. *Materiales de oficina*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Hojas de papel Boom (A4)	Paquete	1
Laptop	Unidad	1
Impresora	Unidad	1
Esferográficos	Unidad	1

3.1.3. Materiales químicos

Tabla 4. *Materiales Químicos*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Benzoato de estradiol	Dosis	40
Progesterona	Dispositivos	40
Cloprostenol sódico	Dosis	40
hCG	Dosis	20

3.1.4. Materiales biológicos

Tabla 5. *Materiales biológicos*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Vacas	Unidad	40
Estudiante	Unidad	1

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. Diseño

La investigación se realizó en explotaciones ganaderas de la parroquia Cumbe del Cantón Cuenca, Provincia del Azuay, la misma tuvo una duración de seis meses desde su aprobación.

Para esta investigación se utilizaron 40 vacas Holstein mestizas, con problemas de fertilidad, teniendo un peso promedio de 300 kg con una condición corporal de entre 3 y 3.5. Su principal aporte alimentario sería el pasto común de la zona, potreros mixtos, en la mayoría de los casos Trébol (*Trifolium repens*), Ray-grass (*Lolium perenne*), Pasto azul (*Poa pratensis*) y Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). En algunos casos, en las explotaciones ganaderas se suplementan variadamente con alimento balanceado, heno, silo y sales minerales.

Antes de aplicar los tratamientos en las vacas ya seleccionadas, se realizó una evaluación general sanitaria, para descartar cualquier tipo de enfermedad. Posteriormente se realizó tacto rectal para evaluar la condición del aparato reproductor de las vacas, descartando problemas infecciosos, patológicos y funcionales. Así también se tomó en cuenta el estado de los ovarios mediante palpación rectal. Luego de esto se realizó la sincronización de celos en las vacas del T1 con el protocolo E2 P4 PGF2 alfa y hCG en el momento de la inseminación artificial. A las vacas del T2 se les aplicó el mismo protocolo E2 P4 PGF2 alfa sin HCG en el momento de la inseminación artificial. La Inseminación artificial a tiempo fijo se llevó a cabo después de las 52 horas de retirado el dispositivo de progesterona.

Al momento de la inseminación se realizó la respectiva aplicación de la hCG en el grupo A del tratamiento.

- Grupo A:

Día 0.- Aplicación de Benzoato de estradiol (Grafoleon) 2 mg/vaca. Aplicación de progesterona, (DIB).

Día 7.- Retiro del dispositivo de progesterona (DIB). Aplicación de cloprostenol sódico (sincrosio) 150 ug/vaca.

Día 8.- aplicación de Benzoato de estradiol (Grafoleon) 1mg/vaca.

Día 9.- IATF, aplicación de hCG (FERTIVET) 2000 UI/vaca.

Cuadro 1. *Programa de sincronización tratamiento A*

BE	DIB	PGF 2 alfa	BE	IATF
Dia0-----			Dia7 -----	Dia8 -----
2mg/vaca		150ug/vaca	1mg/vaca	HCG (2000 UI)
				Dia9

- Grupo B:

Día 0.- Aplicación de Benzoato de estradiol (Grafoleon) 2 mg/vaca. Aplicación de progesterona, (DIB).

Día 7.- Retiro de dispositivo de progesterona (DIB). Aplicación de cloprostenol sódico (sincrosio) 150 ug/vaca.

Día 8.- aplicación de Benzoato de estradiol (Grafoleon) 1mg/vaca.

Día 9.- IATF.

Cuadro 2. Programa de sincronización tratamiento B

BE	DIB	PGF 2 alfa	BE	IATF
Dia0-----	-----	-----Dia7	-----Dia8	-----Dia9
2mg/vaca		150 ug/vaca	1mg/vaca	

La inseminación de las vacas se realizó 52 horas después de retirado el dispositivo intravaginal de progesterona, mediante la técnica recto-vaginal con una pistola de inseminación de acero inoxidable, usando pajillas de 0.5ml de semen comercial con una concentración de 20×10^6 espermatozoides por pajilla.

Posterior a la inseminación de las vacas y aplicación de los tratamientos se realizó el diagnóstico de gestación por medio de ultrasonido a partir de los 35 días post inseminación.

Una vez concluida la toma de datos de gestación, se realizó el análisis estadístico mediante la prueba de T de student.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1. Material Experimental

Se utilizaron 40 animales con problemas para alcanzar la preñez, previamente seleccionados mediante examen del sistema reproductivo con palpación rectal, ayudando a excluir a los animales que no estén dentro de los parámetros. Después de la evaluación las vacas seleccionadas para la investigación fueron marcadas y registradas.

3.3.2. Selección de la muestra

Se dividió en dos grupos de forma aleatoria, siendo el tratamiento A inseminación Artificial a tiempo fijo con aplicación de hCG y tratamiento B sin sin aplicación de hCG, cada uno compuesto por 20 animales, se anotó en una libreta de registros el número de cada vaca correspondiente a cada tratamiento.

3.3.3. Diseño estadístico

El diseño estadístico usado fue “t de Student” con dos tratamientos A (Inseminación Artificial con aplicación de hCG) y B (Inseminación Artificial sin aplicación de hCG)

3.3.3.1. Variables en estudio

Tabla 6. *Variables dependientes*

Concepto	Categoría	Indicadores	Índice
Comportamiento			
de la vaca para lograr la preñez	Biológica	Ovulación	Presencia/Ausencia
		Concepción	Si / No

Tabla 7. *Variables independientes*

Concepto	Categoría	Indicadores	Índice
Hcg	Física	Dosis	UI

3.4. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para realizar la presente investigación se tuvo en cuenta el bienestar animal, incluyendo proveerle un lugar apropiado para su mantenimiento, una buena alimentación y agua a su disposición, durante la investigación se buscó evitar totalmente cualquier tipo de sufrimiento y estrés hacia el animal.

En cuanto al investigador, se buscó manejar medidas preventivas para evitar contagios y contaminaciones hacia las personas y los animales involucrados, mediante el uso de guantes, y vestimenta de trabajo adecuada, se utilizaron materiales desechables e individuales para cada animal.

Se trató de realizar todos los procedimientos de la manera más rápida posible para evitar que aumente los niveles de estrés en los animales tratados y se tuvo en cuenta el bienestar

animal y el texto de la norma ISO 26000 que ha incorporado el tema específicamente en dos de sus apartados centrales:

- Principio de la responsabilidad social, en bienestar animal es considerado como parte de la conducta ética de la organización, establece que el bienestar debería incluir la provisión de condiciones decentes de mantenimiento, procreación, producción, transporte y uso de acuerdo con las pautas establecidas por el Código de Salud de Animales Terrestres de los Organización Mundial de Sanidad Animal.
- Principio Ambiental, reconoce el Bienestar animal como un elemento asociado a la protección del medio y la biodiversidad.

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1. RECOLECCIÓN

Tabla 8. *Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento A*

	Propietario	N.	Edad	C.	No.	Condición	Valor
		Vaca	meses	Corporal	Partos		
1	AngamarcaM.		96	3.4	4	Preñada	1
2	Angamarca M.		40	3	1	Preñada	1
3	Guamán J.		45	3.5	0	Preñada	1
4	Aguaysa C.		60	3.5	4	No Preñada	0
5	Aguaysa C.		65	3.5	3	No Preñada	0
6	Aguaysa C.	Brown	36	3.3	1	No Preñada	0
7	Villa R.		58	3	2	Preñada	1
8	Villa L.		43	3.2	2	No Preñada	0
9	Angamarca Z.	45	69	3.3	2	No Preñada	0
10	Angamarca Z.	63	56	3.3	4	Preñada	1
11	Angamarca Z.	105	52	3.3	5	Preñada	1
12	Tirado Z.		80	3.1	4	No Preñada	0
13	Tirado Z.		75	3.1	3	No Preñada	0
14	Gualan R.		11	3.4	6	Preñada	1
15	Gualan R.		10	3.4	5	No Preñada	0
16	Toral G.	30	48	3.2	1	Preñada	1
17	Toral G.	39	45	3.2	1	Preñada	1
18	Zhingri R.		40	3.5	1	No Preñada	0
19	Zhingri R.		50	3.2	2	Preñada	1
20	Villansanca.	Ginger	42	3.3	1	Preñada	1

Tabla 9. Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento A con valores transformados a $\sqrt{x+0.5}$

Valor original	Valor transformado
1	1.22
1	1.22
1	1.22
0	0.70
0	0.70
0	0.70
1	1.22
0	0.70
0	0.70
1	1.22
1	1.22
0	0.70
0	0.70
1	1.22
0	0.70
1	1.22
1	1.22
0	0.70
1	1.22
1	1.22

- Preñada = 1

- No preñada = 0

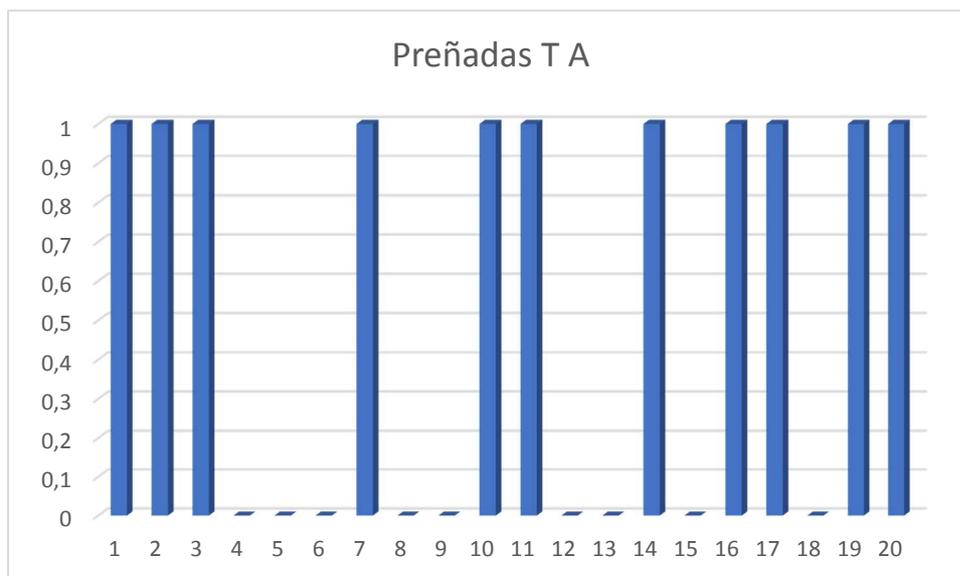


Figura 1. Preñez tratamiento A

Tabla 10. Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento B

	Propietario	N.	Edad	C.	No.	Condición	Valor
		Vaca	(meses)	Corporal	Partos		
1	Ordoñez C.		44	3	1	No Preñada	0
2	Orellana D.		30	3.5	1	No Preñada	0
3	Griselda		24	3	0	Preñada	1
4	Griselda.		35	3.5	0	Preñada	1
5	Griselda.		23	3.5	0	No Preñada	0
6	Mejia T.		60	3.3	2	No Preñada	0
7	Angamarca M.		41	3.5	1	Preñada	1
8	Angamarca M.		24	3	0	No Preñada	0
9	Tirado P.		40	3.3	1	No Preñada	0
10	Zhingri R.		42	3.3	1	Preñada	1
11	Toral G.	38	52	3.3	1	Preñada	1
12	Toral G.	32	80	3.1	1	No Preñada	0
13	Toral G.	135	26	3.5	0	Preñada	1

14	Villansaca M.	Nila	60	3.4	3	Preñada	1
15	Villansaca M	Camila	52	3.4	1	No Preñada	0
16	Villansaca M	Alin	58	3.2	3	Preñada	1
17	Villansaca M	Katy	48	3.2	2	Preñada	1
18	Villansaca M	Lupe	60	3.5	4	No Preñada	0
19	Villansaca M	Paola	50	3.4	5	No Preñada	0
20	Villansaca M.	Juliet	38	3.3	1	No Preñada	0

Tabla 11. *Número de vacas preñadas y no preñadas del Tratamiento B con valores transformados a $\sqrt{x+0.5}$*

Valor original	Valor transformado
0	0.70
0	0.70
1	1.22
1	1.22
0	0.70
0	0.70
1	1.22
0	0.70
0	0.70
1	1.22
1	1.22
0	0.70
1	1.22
1	1.22

0	0.70
1	1.22
1	1.22
0	0.70
0	0.70
0	0.70

- Preñada = 1
- No preñada = 0

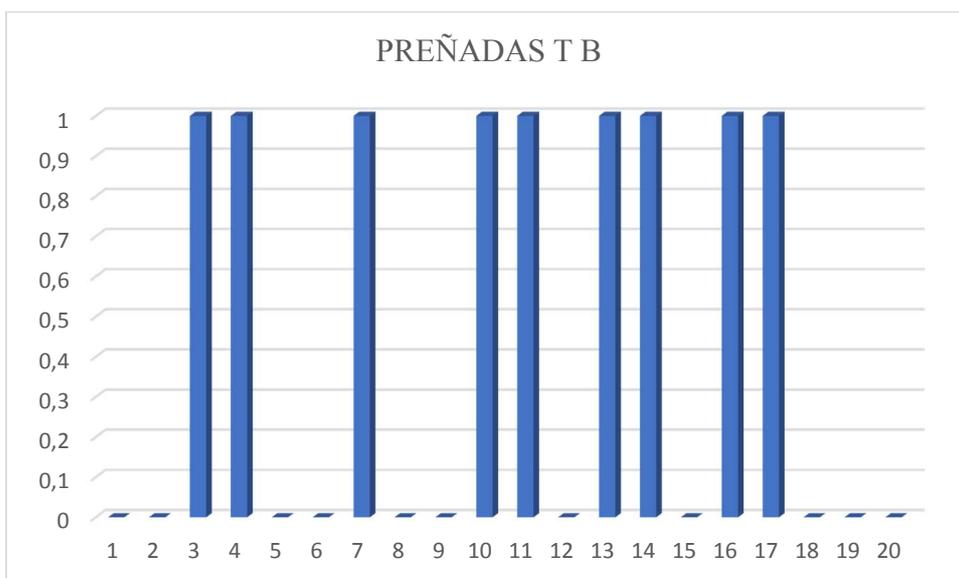


Figura 2. Preñez tratamiento B

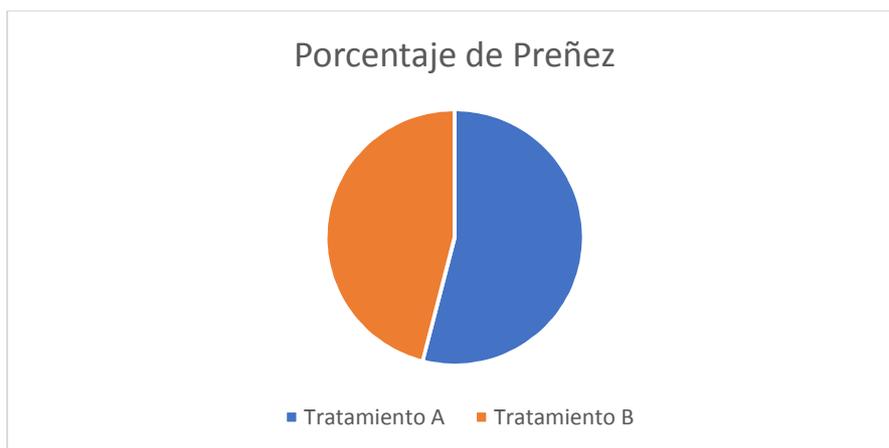


Figura 3. Porcentaje de Preñez por tratamiento

4.2. ANÁLISIS

Tabla 12. *t* de student para el factor de preñez de los Tratamientos A= (IA sin hCG), B= (IA con hCG) con datos transformados a $\sqrt{x+0.5}$

t cal	5%	1%
0,81	2,09	2,86

Sd= 0.064

x=0.966

t. cal= 0.81 ns

CV= 6.621%

El *t* de Student muestra que el porcentaje de preñez de los dos tratamientos no tiene diferencias significativas. El análisis dio como resultado que el valor calculado no supera los valores tabulares al 5% y 1%, por lo tanto, los porcentajes de preñez no son significativos, el cual nos lleva a aceptar la hipótesis nula, “La aplicación de la hormona hCG (Gonadotropina

Coriónica Humana) al momento de la Inseminación Artificial en vacas repetidoras, no tiende a mejorar la Tasa de fertilidad”. Esto concuerda con la investigación de (Morales, R, et al., 1998), quien menciona que las concentraciones de progesterona en las vacas que recibieron hCG fueron similares a las de las vacas del grupo testigo. El tratamiento con hCG al momento de la inseminación no ha tenido ningún efecto sobre la función del cuerpo lúteo y fertilidad de las vacas.

Si bien los datos estadísticos obtenidos resultaron ser no significativos, matemáticamente el tratamiento A con 55% de preñez en relación el tratamiento B con 45%, resultó ser el mejor al tener mayor número de preñes, por lo que se corrobora con lo que menciona (Velasgui, E., 2012), que al final del experimento, se determinó el mayor porcentaje de tasa de concepción y fertilidad en las vacas Holstein Mestizas tratadas con hCG post inseminación artificial, con un valor de 85.71% mientras que las vacas pertenecientes al tratamiento testigo alcanzaron un menor valor con 42.86% de fertilidad, lo que hallan directamente relacionado con la calidad del cuerpo lúteo.

El CV= 2,85% calculado se encuentra dentro de los parámetros aceptables para este tipo de investigación lo cual da la confiabilidad a los datos.

En el Tratamiento A 11 vacas resultaron preñadas y nueve no respondieron al tratamiento; en el Tratamiento B nueve vacas repetidoras resultaron preñadas y 11 no respondieron al tratamiento. La investigación arrojó un dato importante, ya que las nueve vacas que no resultaron preñadas del tratamiento A regresaron en celo fértil en un tiempo de 18 a 24 días post inseminación artificial, a lo que se realizó inseminación artificial con lo cual se obtuvo 9 vacas preñadas en el celo repetido. En el caso del tratamiento B de las 11 vacas no preñadas, repitieron celo nueve, en un tiempo de 18 a 25 días, a las que se repitió la inseminación artificial de las cuales seis de las nueve se preñaron y los tres sobrantes no se preñaron. Esto se corrobora con la investigación realizada por (Larriva, F., 2013) en la que evaluó la tasa de preñez en vacas

Holstein de alta cruza inseminadas en el celo de retorno producido tras un protocolo de sincronización con progestágenos, en el mismo menciona que luego de la aplicación de los dos tratamientos, se comparó los resultados y se determinó que la tasa de preñez con un celo natural es de un 77.8% y a la inseminación artificial a tiempo fijo es de 50%; e inferimos que la inseminación en el celo natural tras un protocolo de sincronización con progestágenos es un 27,8% más eficiente.

4.3. COSTOS

Tabla 13. *Costo total por Tratamiento*

ACTIVIDAD	UNIDAD	COSTO UNITARIO USD	CANTIDAD	COSTO TOTAL USD
Fertivet- hCG	UI	16.50	10	165.00
Grafoleón – B.E.	MI	8,50	2	20
Sincrocio (Prostaglandina)	MI	28,50	4	114
Pajuelas	Unidad	10	40	400
Jeringas de 3 ml	Caja	10	2	20
Dispositivo Intravaginal (DIB)	Unidad	70	4	280
Termo de nitrógeno	Unidad	750.00	1	750.00
Nitrógeno liquido	Kilos	2.90	20	58.00
Aplicador de dispositivo	Unidad	8.00	1	8.00
Guantes ginecológicos	Caja	10	1	10
Papel	Caja	5.00	1	5.00
Catéteres	Funda	0.40	50	40
Pistola de inseminar	Unidad	50	1	50

Termo para descongelar				
pajuelas	Unidad	10	2	20
Tijeras	Unidad	0.5	2	1
		Subtotal costos directo		1,941
		Costos indirectos		
Internet				
Horas		0,3	100	30
Trasporte	USD	4,5	90	90
Empastado	USD	20	1	20
Impresiones y gastos de oficina	Unidad			50
		Subtotal costos indirectos		190
		Subtotal costos directos		1,941
		Costo total USD		2,131

Como observamos en la tabla 13, la investigación realizada tuvo un costo total de \$2,131 de dólares americanos, utilizados en los tratamientos de las 40 vacas Holstein mestizas, las cuales fueron repartidas en dos tratamientos diferentes, con 20 vacas cada tratamiento.

Tabla 14. *Costo por Animal (Tratamiento A)*

Costo por Animal			
Material	Cantidad	Valor Unitario	Valor Total (USD)
Jeringas 3ml	1	0.20	0.20
Guantes ginecológicos	1	0.10	0.20
Catéter de inseminación	1	0.25	0.25
Papel Higiénico	1	0.10	0.10

Agujas descartables	1	0.15	0.15
Papel	1	0.25	0.25
Pajuelas	1	0.10	0.10
Dispositivo intravaginal DIB	1	7.00	7.00
Aplicador de dispositivo	1	2.00	2.00
Benzoato de estradiol (Grafoleon)	1	0.20	0.20
Prostaglandina (Sincrocio)	1	2.85	2.85
HCG (Fertivet)	1	6.40	6.40
Ecógrafo	1	15.00	15.00
Transporte	1	2.00	2.00
		Total	36.70

En el tratamiento A el coste es mayor al del tratamiento B ya que se utilizó hCG adicional en el tratamiento A.

Tabla 15. *Costo por Animal (Tratamiento B)*

Costo por Animal			
Material	Cantidad	Valor Unitario	Valor Total (USD)
Jeringas 3ml	1	0.20	0.20
Guantes ginecológicos	1	0.10	0.20
Catéter de inseminación	1	0.25	0.25
Papel Higiénico	1	0.10	0.10
Agujas descartables	1	0.15	0.15
Papel	1	0.25	0.25
Pajuelas	1	0.10	0.10
Dispositivo intavaginal DIB	1	7.00	7.00

Aplicador de dispositivo	1	2.00	2.00
Prostaglandina (Sincrocio)	1	2.85	2.85
Benzoato de estradiol (Grafoleon)	1	0.20	0.20
Ecógrafo	1	15.00	15.00
Transporte	1	2.00	2.00
		Total	30.30

Tomando en cuenta la tabla 14 y 15 se observa que el Tratamiento A es más costoso que el B por el uso de hCG, mas la diferencia es de tan solo \$6.40 dólares americanos. Se corrobora con lo que menciona (VELASTEGUI, Edwin., 2012), “Además, se estableció una mayor rentabilidad en el grupo de vacas tratadas con la utilización de hCG post inseminación artificial”.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

En base a los resultados de la presente investigación se concluye que:

Según el análisis de “t de student”, los tratamientos A (IA con la aplicación de hCG) y B (IA sin la aplicación de hCG) no tienen diferencia significativa estadísticamente. Pero matemáticamente el tratamiento A es mejor que el tratamiento B.

El porcentaje de preñez para las vacas de tratamiento A es de 55% en vacas repetidoras y para el tratamiento B es de 45%, lo que quiere decir que el tratamiento A presentó mayor concepción.

El tratamiento A con la aplicación de hCG presentó un costo de \$36.70 dólares americanos, mientras que el tratamiento B sin aplicación de hCG presento un costo de \$30.30 dólares americanos; resultando ser el tratamiento A el de mayor costo.

Se debe tomar en cuenta que los resultados obtenidos en la inseminación artificial influyen factores como manejo, alimentación, factores ambientales, genéticos, etc. Asunto que puede darse solución, aumentando el número de Unidades Experimentales.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de hCG post inseminación en vacas repetidoras

El tratamiento A (IA con la aplicación de hCG) se puede realizar en hatos con vacas que presenten problemas reproductivos siempre y cuando se haga una evaluación del estado funcional de los ovarios.

Es recomendable continuar con las investigaciones con otros tipos de hormonas, con la finalidad de mejorar la eficiencia reproductiva en hatos ganaderos.

Profundizar esta investigación con un mayor número de unidades experimentales en vacas para obtener resultados más concretos.

Recomendable también seguir la investigación de la inseminación artificial en los celos repetidos después de un tratamiento de sincronización de celo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bartlett, P., Ngategize, P., Kaneene, J., Kirk, J., Anderson, S., & Mather, E. (1986). Cystic follicular disease in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and economic impact. *Preventive Veterinary Medicine*, 15-33.
- Bearden, J. (1982). *Reproducción Animal Aplicada*. México: El Manual Moderno.
- Bespin, A., Rivero, I., & Morgado, A. (2007). HISTORIA Y USO DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN LA AGROPECUARIA “LA FUNDACIÓN”, ESTADO GUÁRICO. *I Simposio: Tecnologías apropiadas para la ganadería de los llanos de Venezuela*, 149-171.
- Brunner, M. (14 de octubre de 2019). *Repeat Breeding*. Obtenido de Dairy Integrated Reproductive Management:
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.441.9911&rep=rep1&type=pdf>
- Busch, W., & Waberski, D. (2007). *Manual de inseminación artificial de los animales domésticos y de explotación zootécnica*. Zaragoza, España: ACRIBIA.
- Charles, W. (1990). The antigenic structure of the human glycoprotein hormone alpha subunit. Characterization of anti-alpha monoclonal antibodies. *Endocrinology*, 127(6), 2977-84.
- Daughady, W. (1987). *Hormonas glicoproteicas*. En: Daughady WH. *Tratado de Endocrinología* (5ta ed.). La Habana: Científica- Técnica.
- Elli, M. (2005). *Manual de Reproducción en Ganado Vacuno*. Zaragoza, España: SERVET.
- Fuller, M. (2008). *Enciclopedia de nutrición y producción animal*. Zaragoza, España: ACRIBIA S.A.

- Galina , C., Salteil, A., & Valencia, J. (1986). *Reproducción Animales Domésticos*. México: Limusa S.A.
- Galina, C., & Valencia, J. (2008). *Reproducción de animales domésticos*. México: LIMUSA.
- Garverick , H. (1997). Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci*, 80(5), 995-1004.
- Gasque, R. (2016). REPRODUCCIÓN BOVINA. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1-10.
- Giraldo, J. (2007). Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos. *REVISTA LASALLISTA DE INVESTIGACIÓN*, 4(1), 51-57.
- Gustavino, E. (23 de Mayo de 2007). *Detección de Celos en Bovinos*. Obtenido de Engormix: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/deteccion-celos-bovinos-t27010.htm>
- Gutiérrez, J. (11 de Mayo de 2008). *Hormonas de la Reproducción Bovina*. Obtenido de Scribb.com: <https://es.scribd.com/document/265404293/hormonoas-reproduccion-bovina-pdf>
- Hafez, E., & Hafez, B. (2002). *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández, J. (2016). *Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos Lecheros*. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández, J., & Ortega, Á. (2009). *MANUAL DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN BOVINOS*. México: UNAM.
- Hernández, C. & Morales, R., Falla en la concepcion en el ganado lechero: Evaluacion de terapias hormonales. *Vet. Mex.* 2011. 32: 279-287.

- Morales, R., Hernández, C., Vásquez, G. Efectos del Tratamiento con hCG al momento de la Inseminación Artificial sobre la Función del cuerpo lúteo y fertilidad de vacas Holstein repetidoras. *Vet Mex.* 1998. 29 269-272.
- Lucy , M., Savio, J., Badinga, L., De la Sota, R., & Thatcher, W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Animal Sci*, 70, 3615-3626.
- Larriva, F. 2013. Taza de Preñez en vacas Holstein de Alta Cruza Inseminadas en el Celo de Retorno tras un Protocolo de Sincronización con Progestágenos. Universidad de Cuenca. p. 1. obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/515>
- Manteca, X. (2009). *Etología veterinaria*. Barceona, España: Multimédica Ediciones Veterinarias.
- Mateo de Acosta, O. (1985). *Manual de diagnóstico y tratamiento en Endocrinología y Metabolismo*. La Habana: Científico- Técnica.
- Prieto, B., & Velázquez, M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Rev Fac Med UNAM*, 45(6), 252-257.
- Quintela, L. (2013). *Ecografía y reproducción en la vaca*. España: UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOS.
- Raso, M. (12 de Junio de 2012). *Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (I.A.T.F)*. Obtenido de Inta.gob.ar: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ganaderia46_inseminacion_ovina.pdf
- Robson, C., & Aguilar, D. (2004). Inseminación Artificial en Bovinos. *Sitio Argentino de Producción Anima*, 1-30.
- Sagbay, C. (2012). Efecto de la Gonadotropina Coriónica equina (eCG) aplicada al momento de retirar el dispositivo de Progesterona (P4) sobre el porcentaje de preñes en vacas

Holstein post-parto. *Tesis Pregrado previo Título de Médico Veterinario Zootecnista*.
Universidad Politecnica Salesiana, Cuenca.

Savio , J., Boland, M., & Roche, J. (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 88, 581-588.

Sequeira, L. (2013). *Compendio sobre reproducción animal*. Managua: UNA.

Sosa, H. (2000). Efecto de los implantes de progestágeno post-servicio de inseminación artificial en la fertilidad de vacas repetidoras. *Tesis previo Título Ing. Agronomo*.
Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras.

Thatcher, W., Moreira, F., Pancarci, S., Bartolome, J., Santos, J., Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function: Domestic Animal Endocrinology. 2002; 23: 243-254

Ungerfeld, R. (2003). *Reproducción de los Animales Domésticos*. Montevideo: Melibea.

Velastegui, E. (2012). Administración de GnRH y hCG Post Inseminación Artificial, para Incrementar la Fertilidad en Vacas Holstein Mestizas. *epoch.edu.ec*. p. 5.
Recuperado de <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/2083>

White, M. (1990). LH and FSH secretion and response to GnRH and patients with clinically functionless pituitary adenoma. *Clin. Endocrinology*, 32(6), 681-9.

7. ANEXOS

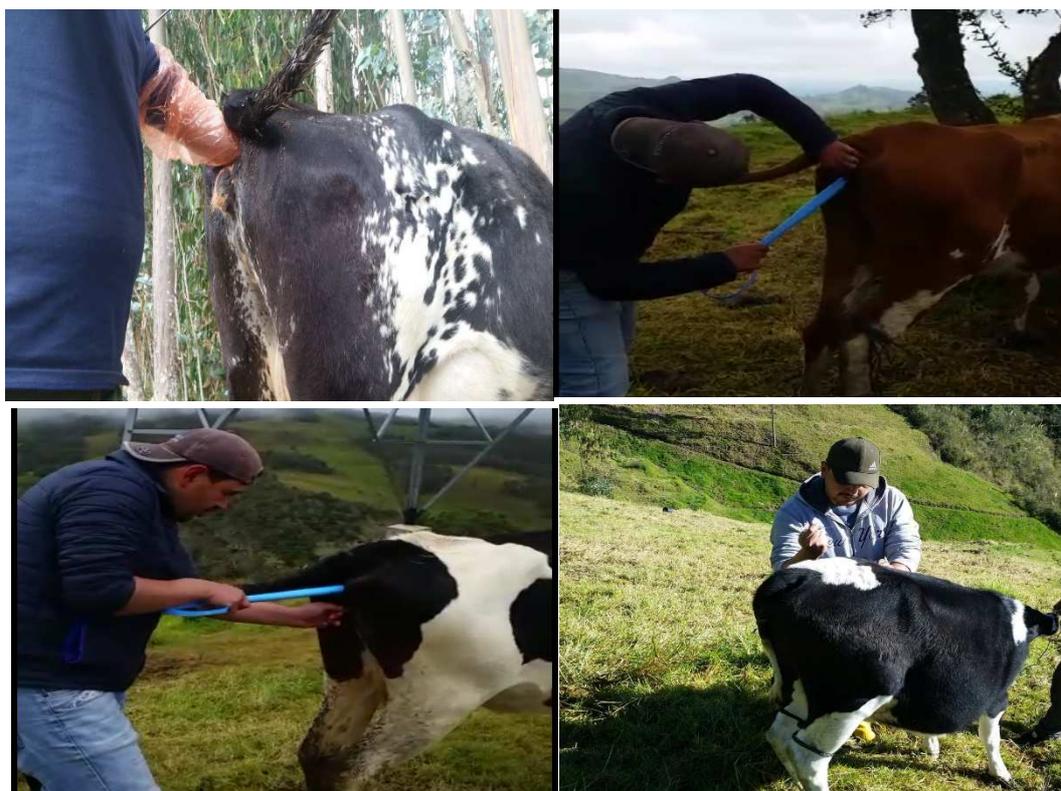


Foto 1. Preparación, aplicación de DIB y benzoato de estradiol

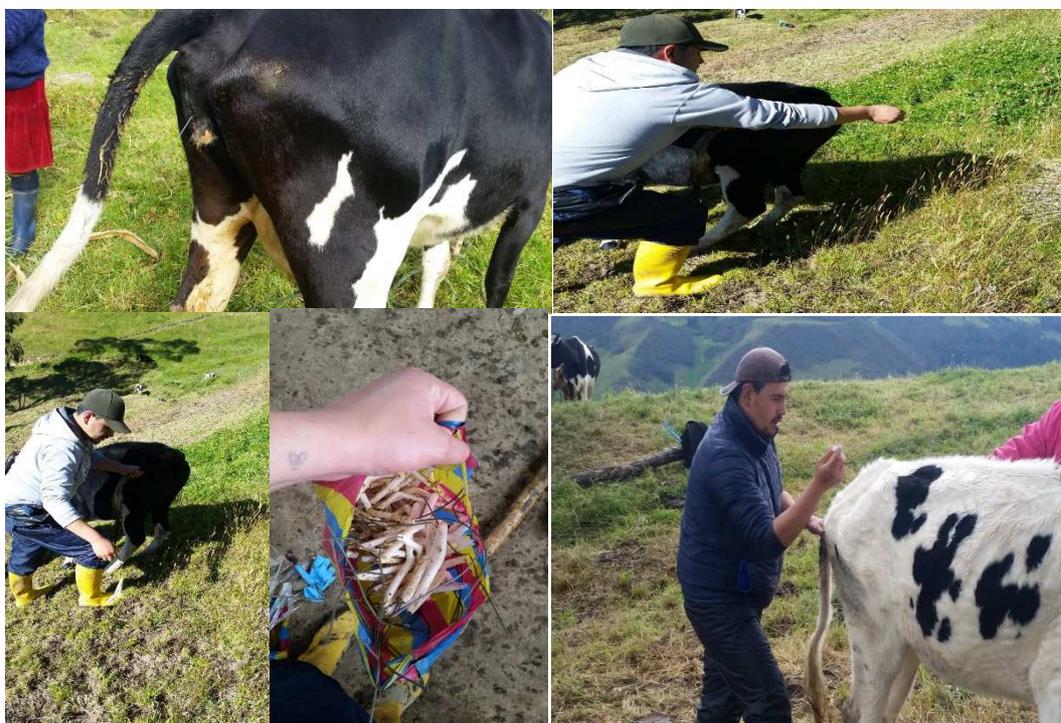


Foto 2. Retiro de DIB y aplicación de Prostaglandina al día 7 de la sincronización.



Foto 3. Aplicaciones de Benzoato de estradiol en el día 8 de la sincronización.



Foto 4. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en el día 9 de la sincronización.



Foto 5. Aplicación de hCG después de la inseminación artificial en el día 9 de la sincronización



Foto 6. Diagnóstico de gestación mediante Ultrasonografía, después de los 45 días post inseminación artificial.



Foto 7. Hormonas utilizadas para la sincronización de celo e inseminación artificial a tiempo fijo.