

# **BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN LA HEMERA BOVINA**

## **INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN BOVINOS DEL TRÓPICO**



**ROGER DANIEL SALGADO OTERO** MVZ, MSc.

**OSCAR DAVID VERGARA GARAY** Zoot, PhD.

**JULIA EDITH SEHUANES HOYOS** MVZ, Esp.

**MARÍA ANGÉLICA VERGARA AVILEZ** MVZ



# **BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN LA HEMERA BOVINA**

**INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN BOVINOS DEL  
TRÓPICO  
TOMO I**



**UNIVERSIDAD  
DE CÓRDOBA**



***LABRA***

© Roger Daniel Salgado Otero, Oscar David Vergara Garay, Julia Edith Sehuanes Hoyos, María Angélica Vergara Avilez

Primera edición:

ISBN: 978-958-5104-61-7

#### Autores

Roger Daniel Salgado Otero, Médico Veterinario Zootecnista, MSc  
Profesor de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad de Córdoba, Colombia

Oscar David Vergara Garay, Especialista en Biometría, PhD  
Profesor de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad de Córdoba, Colombia

Julia Edith Sehuanes Hoyos,  
Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal - LABRA  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad de Córdoba, Colombia

María Angélica Vergara Avilez  
Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal - LABRA  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad de Córdoba, Colombia

#### Diseño y diagramación

Paola Díaz M

Cindy Correa S

Todos los derechos reservados.

Esta publicación puede ser reproducida en todo o en parte y por cualquier medio, citando la fuente y no puede ser utilizada con fines comerciales.



Para la edición y publicación de este libro en su formato digital se contó con el apoyo económico de la Universidad de Córdoba.



## **PREFACIO**

El presente documento es una obra que plasma con el más riguroso detalle todo lo concerniente con la Biotécnica de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), que esperamos sea de gran apoyo para los estudiantes de pregrado, posgrado y médicos veterinarios en ejercicio de su profesión.

En el tomo I de este libro se explica desde punto vista fisiológico, los aspectos relacionados con la dinámica ovárica, farmacología del ciclo estral, protocolos de sincronización del celo y la ovulación, y los factores que influyen sobre los resultados a la IATF.

Las figuras y tablas presentadas en este texto han sido diseñadas por los autores o se les ha hecho modificaciones para hacer más didáctica su comprensión. Éstas se encaminan a ilustrar con detalle los mecanismos de acción y liberación hormonal, así como la dinámica de las ondas foliculares y los días correspondientes a cada protocolo de sincronización.

Creemos que, por la importancia del tema, el estudio concienzudo realizado y la sencillez en las explicaciones fisiológicas, este libro será de gran utilidad y por lo tanto lo ponemos a su disposición

**Los autores**

## Tabla de Contenido

<i>INTRODUCCCIÓN</i>	11
OBJETIVO GENERAL	11
OBJETIVOS ESPECIFICOS	11
1. <i>FOLICULOGÉNESIS Y OVOGÉNESIS</i>	12
2. <i>FASES DEL DESARROLLO FOLICULAR</i>	14
2.1 Fase Pre-antral	14
2.1.1. Folículos primordiales (FP).	14
2.1.2 Folículos primarios.	15
2.1.3 Folículos secundarios.	16
2.2 Fase Antral	17
2.2.1 Folículos terciarios.	17
2.2.2 Folículos preovulatorio o folículos de Graaf.	18
3. <i>DINÁMICA FOLICULAR</i>	19
3.1 Fase de Reclutamiento	19
3.1.1 Reclutamiento inicial.	19
3.1.2 Reclutamiento cíclico.	19
3.2 Fase de Selección	21
3.3 Fase de Dominancia	23
3.4 Fase de Atresia Folicular	27
4. <i>ONDAS FOLICULARES</i>	28
5. <i>FASES DEL CICLO ESTRAL</i>	31
5.1 Estro (día 0 al 2)	31
5.2 Metaestro (día 2 al 4)	33
5.3 Diestro (día 5 al 17)	34
5.4 Proestro (día 18 al 21)	35
<i>CONCLUSIONES</i>	35
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	36
<i>CAPITULO II</i>	39
<i>ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL DE LA HEMBRA BOVINA</i>	39

<i>INTRODUCCIÓN</i>	40
<i>OBJETIVO GENERAL</i>	41
<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	41
<i>1. HORMONAS PRODUCIDAS EN EL HIPOTÁLAMO</i>	42
1.1 Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (GNRH)	42
1.1.1 Mecanismo de acción.	42
1.2 Gonadotropinas Hipofisiarias	43
1.2.1 Hormona folículo estimulante (FSH).	43
<input type="checkbox"/> Rol de la hormona folículo estimulante	43
1.2.2 Hormona luteinizante (LH).	44
<input type="checkbox"/> Mecanismo de acción	45
<input type="checkbox"/> Rol de la hormona luteinizante	46
<i>2. HOMONAS ALMACENADAS EN LA NEUROHIPÓFISIS.</i>	48
2.1 La Oxitocina	48
2.1.1 Mecanismo de acción.	48
2.1.2 Rol de la oxitocina	49
<i>3. HORMONAS PRODUCIDAS EN LOS OVARIOS</i>	49
3.1 Estradiol (E2)	49
3.1.1 Mecanismo de acción.	49
3.1.2 Rol de los estrógenos	51
3.1.3 Análogos del estradiol	52
<input type="checkbox"/> 17Beta-estradiol (17 BE).	52
<input type="checkbox"/> Benzoato de estradiol (BE).	52
<input type="checkbox"/> Valerato de estradiol (VE).	53
<input type="checkbox"/> Cipionato de estradiol (ECP®).	53
3.2 Progesterona (P4).	53
3.2.1 Mecanismo de acción.	54
3.2.2 Rol de la progesterona	54
3.3 Sistema del Factor de Crecimiento Tipo Insulínico (IGF)	56
3.4 Superfamilia Transformadora del Factor-B De Crecimiento (TGF-B)	57
3.4.1 Inhibinas.	57
3.4.2 La activina.	58
3.4.3 Folistatina.	59
<i>4. ÚTERO</i>	59
4.1 Prostaglandina F2a (PGF2a)	59
4.1.1 Mecanismo de acción.	60
4.1.2 Rol de la prostaglandina F2a	62

<i>5. HORMONAS DE OTRAS ESPECIES USADAS EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN BOVINA</i>	63
5.1 Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)	63
5.2 Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)	64
<i>CONCLUSIONES</i>	65
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	65
<i>CAPITULO III</i>	68
<i>PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y LA OVULACIÓN DE LA HEMBRA BOVINA</i>	68
<i>INTRODUCCIÓN</i>	69
<i>OBJETIVO GENERAL</i>	70
<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	70
<i>1. USO DE PROSTAGLANDINA (PGF<sub>2α</sub>) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACION DE CELOS</i>	70
1.1 Protocolo con una sola aplicación de PGF <sub>2α</sub>	71
1.2 Protocolo con dos aplicaciones de PGF <sub>2α</sub>	74
1.2.1 Ventajas de la sincronización con dos dosis de PGF 2α	77
1.2.2 Desventajas de la sincronización con dos dosis de PGF 2α	77
1.3 Análogos Y Productos Comerciales De PGF <sub>2α</sub>	77
<i>2. USO DE LA GnRH EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO Y OVULACIÓN</i>	80
2.1 Protocolo Ovsynch (GnRH - PGF 2α -GnRH)	80
2.2 Protocolo Presynch-Ovsynch	83
2.3 Protocolo Doble Ovsynch (DOV)	85
2.4 Protocolo P4-synch (CIDR/DIB + GnRH- PGF 2α- GnRH)	87
2.5 Protocolo P4-Cosynch (GnRH- PGF 2α- GnRH/IATF)	88
2.6 Protocolo 7 &7 Synch	92
2.7 Protocolo Web-Synch	93
2.8 Protocolo Heat-Synch	94
2.9 Protocolo J-Synch	95
<i>3. ANÁLOGOS Y PRODUCTOS COMERCIALES DE GnRH</i>	96
<i>4. ROL DE LA PROGESTERONA Y ESTRADIOL (E2) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO Y OVULACIÓN</i>	97

4.1 Protocolo de Sincronización de Estro con Norgestomet y Valerato de Estradiol (Crestar) _____	98
Variaciones del protocolo Crestar. _____	100
4.2 Protocolo PEPE (Progesterona-Estrógeno- Prostaglandina- Estrógeno) _____	103
4.3 Análogos y Productos Comerciales Estradiol y Progesterona. _	110
5. <i>ROL DE LA GONADOTROPINA CORIONICA EQUINA (eCG) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO Y OVULACIÓN</i> _____	111
<i>CONCLUSIONES</i> _____	113
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> _____	114
<i>CAPITULO IV</i> _____	124
<i>TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y FACTORES QUE INFLUYEN EN LOS RESULTADOS</i> _____	124
<i>INTRODUCCIÓN</i> _____	125
<i>OBJETIVOS</i> _____	125
<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i> _____	125
1. <i>TRABAJO PREVIO A LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y LA OVULACIÓN.</i> _____	126
2. <i>TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA)</i> _____	127
2.1 Materiales necesitados para la IA _____	127
2.2 Manejo del material seminal y armado de la pistola de IA _____	128
3. <i>TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL</i> _____	129
4. <i>VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL</i> _	130
4.1 Ventajas de la Inseminación Artificial _____	130
4.2 Desventajas de la Inseminación Artificial _____	130
5. <i>FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LOS RESULTADOS A LA IA o IATF</i> __	131
5.1 Factores Inherentes al Personal _____	131
5.2 Factores Inherentes al Ambiente _____	132
5.2.1 Sanidad. _____	134
5.3 Factores Inherentes al Animal _____	136
5.3.1 Raza. _____	136
5.3.2 Categoría animal. _____	137
5.3.3 Condición corporal. _____	138
5.3.4 Estado ovárico. _____	139
5.3.5 Grado de desarrollo uterino. _____	141

5.3.6 Manejo del amamantamiento. _____	141
5.3.7 Calidad seminal. _____	146
<i>CONCLUSIONES</i> _____	<i>148</i>
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> _____	<i>148</i>

## **PREFACIO**

El presente documento es una obra que plasma con el más riguroso detalle todo lo concerniente con la Biotécnica de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), que esperamos sea de gran apoyo para los estudiantes de pregrado, posgrado y médicos veterinarios en ejercicio de su profesión.

En el tomo I de este libro se explica desde punto vista fisiológico, los aspectos relacionados con la dinámica ovárica, farmacología del ciclo estral, protocolos de sincronización del celo y la ovulación, y los factores que influyen sobre los resultados a la IATF.

Las figuras y tablas presentadas en este texto han sido diseñadas por los autores o se les ha hecho modificaciones para hacer más didáctica su comprensión. Éstas se encaminan a ilustrar con detalle los mecanismos de acción y liberación hormonal, así como la dinámica de las ondas foliculares y los días correspondientes a cada protocolo de sincronización.

Creemos que, por la importancia del tema, el estudio concienzudo realizado y la sencillez en las explicaciones fisiológicas, este libro será de gran utilidad y por lo tanto lo ponemos a su disposición

**Los autores**

# **CAPITULO I**



## **DINÁMICA OVÁRICA Y CICLO ESTRAL DE LA HEMBRA BOVINA**

## **INTRODUCCIÓN**

La dinámica ovárica (DO) ha sido estudiada desde mediado del siglo XX, pero su mayor desarrollo lo ha alcanzado en las últimas dos décadas gracias a la utilización de herramientas como la ultrasonografía.

La DO comprende los procesos de ovogénesis y foliculogénesis, que se inician desde las primeras etapas de la gestación y permiten el desarrollo del ovocito y del folículo, estructuras que se convierten en la unidad funcional del ovario y están estrechamente relacionadas con la fertilidad de la hembra.

A continuación, se describirá la dinámica ovárica de la hembra bovina mediante la explicación de las fases del desarrollo folicular, ondas foliculares, y del ciclo estral.

### **OBJETIVO GENERAL**

Identificar los procesos de foliculogénesis y ovogénesis de la hembra bovina y su relación con la fertilidad

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Conocer las fases del desarrollo folicular de la hembra bovina
- Identificar las fases de reclutamiento, selección y dominancia folicular de la hembra bovina haciendo énfasis en las diferencias entre animales *Bos taurus* y *Bos indicus*.
- Identificar las fases del ciclo estral de la hembra bovina y sus aspectos fisiológicos.

## **1. FOLICULOGÉNESIS Y OVOGÉNESIS**

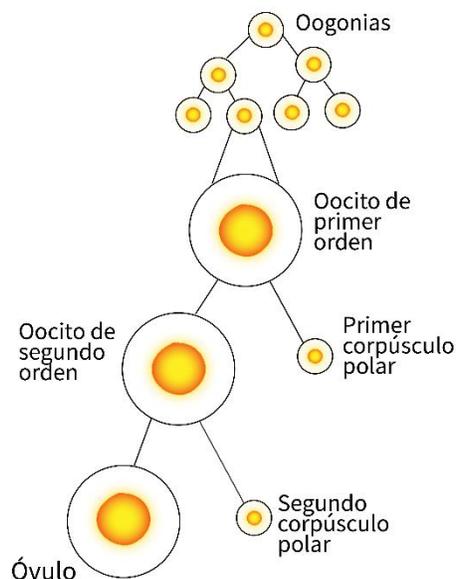
Los ovarios son los principales órganos del aparato reproductor de la hembra encargados formación de óvulos y la producción de hormonas como estrógenos y progesterona que participan en el ciclo estral de cualquier especie. En su superficie se encuentran dos estructuras claramente identificadas: folículos (FCLs) y cuerpo lúteo (CL). Los FCLs surgen de un proceso de formación denominado foliculogénesis y en su interior alberga a un único ovulo que se desarrolla a través de una constante división celular conocida como ovogénesis, mientras que el cuerpo lúteo se forma después de la ovulación; ambos procesos garantizan la fertilidad de la hembra.

Para una mayor comprensión la foliculogénesis se ha dividido en dos fases, la primera es conocida como pre-antral, es independiente de gonadotropinas y se caracteriza por el crecimiento de folículos hasta 250 micras de diámetro y la segunda corresponde a la fase antral dependiente de gonadotropinas que permite obtener un folículo preovulatorio o de Graff. Este proceso se presenta durante los periodos prepuberal, puberal, ciclo estral, primeros meses de gestación y anestro posparto del bovino y en él intervienen factores producidos ya sea por el ovocito, las células de la granulosa (CG) o células de la teca (CT), en distintos momentos y bajo el control endocrino, autocrino o paracrino.

Por su parte, la ovogénesis comienza con las ovogonias que derivan de las células germinales primordiales del embrión (día 50 hasta el día 130 de la gestación) y culmina con la formación del ovocito II.

Durante el proceso embrionario se distinguen dos etapas claramente definidas, la primera es iniciada a partir del día 80 de la gestación donde las ovogonias empiezan su división meiótica, pero no avanzan más allá de la etapa de diploteno de la profase I. La meiosis es reiniciada durante la ovulación cuando las ovogonias pasan a la metafase II dando origen oocito secundario (célula haploide) y al primer corpúsculo polar.

La segunda etapa ocurre alrededor del día 95 donde comienza un proceso de degeneración que elimina a más del 60% de los ovocitos producidos durante este período. En la Figura 1 se detalla el proceso de ovogénesis en el bovino



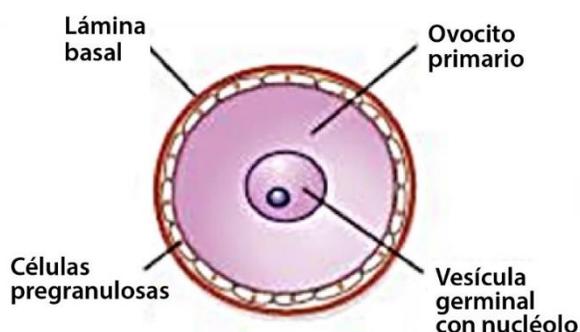
**Figura 1.** Proceso de ovogénesis en la hembra bovina (Imagen Adaptada del Compendium de Reproducción Animal, 2008).

## 2. FASES DEL DESARROLLO FOLICULAR

### 2.1 Fase Pre-antral

#### 2.1.1. Folículos primordiales (FP).

Los FP se forman durante la vida fetal de los bovinos aproximadamente a los 80 días de la gestación y se caracterizan porque el núcleo y los cromosomas de las ovogonias están bloqueados en fase de diploteno de la primera división meiótica hasta que ocurre la ovulación (180 días) y las ovogonias están rodeadas por una sola capa plana de CG limitado por una membrana basal que lo separa del estroma del ovario (Figura 2).

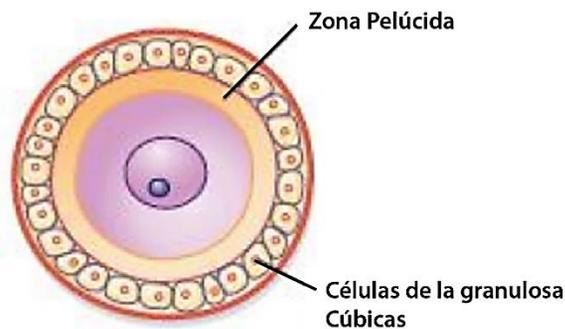


**Figura 2.** Estructura del folículo primordial de la hembra bovina.

Al nacimiento de las terneras se ha estimado la presencia de 100.000 a 150.000 FP que serán conducidos a uno de dos hechos: la degeneración por atresia (sufrida por el 99% o más) o la ovulación alcanzada por muy pocos. Se debe aclarar que no existe relación entre el número de folículos y el tamaño de la camada, así como la duración de la vida reproductiva de los animales.

### 2.1.2 Folículos primarios.

Esta etapa se inicia en el segundo tercio de la gestación de la hembra bovina y se caracteriza porque el ovocito comienza a rodearse de una capa celular amorfa de glicoproteínas denominada zona pelúcida a través de la cual, las células de la granulosa (células cúbicas) emiten prolongaciones citoplasmáticas (uniones gap) que permiten el intercambio de iones y moléculas con el ovocito (Figura 3).



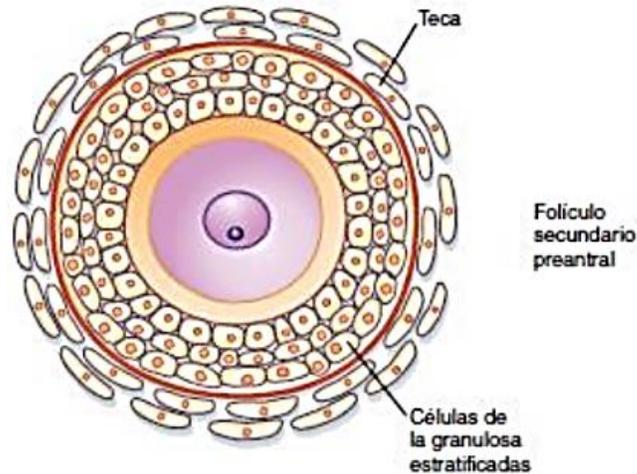
**Figura 3.** Estructura del folículo primario de la hembra bovina.

El cambio de CG planas a células cúbicas se logra gracias a la acción de citoquinas, proteínas morfogenética ósea (BMP) y el factor transformante de crecimiento (TGF), éste último asociado con la velocidad de proliferación de las células de la granulosa.

Hay dos eventos importantes en esta fase, el primero corresponde a la expresión de receptores para la FSH en las células de la granulosa, el cual es posible gracias a la acción de las Activinas; y un segundo evento se manifiesta como consecuencia del anterior y tiene que ver con el crecimiento y diferenciación del ovocito asociado con un mayor desarrollo del folículo primario por acción de la FSH.

### 2.1.3 Folículos secundarios.

Este estadio se caracteriza por un aumento de tamaño y número de las células cubicas de la granulosa que rodean al ovocito I (Figura 4).



**Figura 4.** Estructura del folículo secundario de la hembra bovina.

En esta fase también se observan cambios en el estroma cortical que originan una capa concéntrica de células alargadas denominadas células de la teca (CT). El desarrollo de la teca está acompañado por un aumento en la vascularización que le permite a la sangre transportar nutrientes y gonadotropinas hacia el folículo y llevar los productos de desecho del mismo.

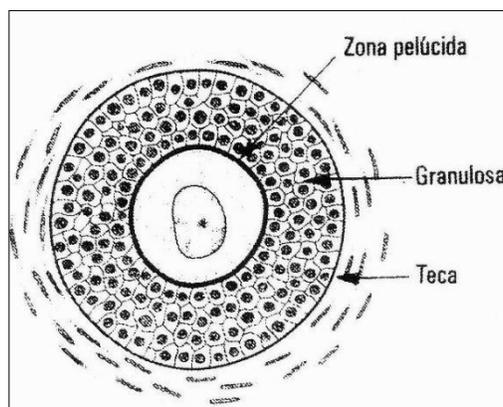
Las células de la teca cercanas a la membrana basal forman la teca interna, mientras que las células más periféricas que están en contacto con el estroma la teca externa, ambas expresan receptores para la LH (LHR). A medida que van proliferando las CG y CT el folículo aumenta su tamaño y confluye con la formación de una cavidad llena de líquido denominada antro.

## 2.2 Fase Antral

### 2.2.1 Folículos terciarios.

Esta fase se inicia en la pubertad y los folículos de 250 a 500 micras de diámetro, se caracterizan por la presencia de cavidad antral. El antro se forma por el acúmulo de fluido producto del gradiente osmótico de moléculas como hialurona, versican y acuaporinas que atraen los líquidos procedentes de los capilares de la teca.

Los ovocitos de los folículos antrales se caracterizan por estar rodeados por varias capas de células cúbicas de la granulosa, y los folículos por tener una teca interna constituida por tejido conectivo y una teca externa formada por una capa de colágeno que le brinda protección. A nivel molecular, se resalta el aumento en el número de células de la granulosa que favorece la síntesis de inhibinas y folistatina, quienes a su vez propician un efecto de retroalimentación negativa contra la FSH, dando como resultado que la liberación de LH estimule los receptores LHR en las CG (Figura 5).



**Figura 5.** Estructura del folículo terciario de la hembra bovina (imagen Adaptada de Tresguerres & Castillo, 2008).

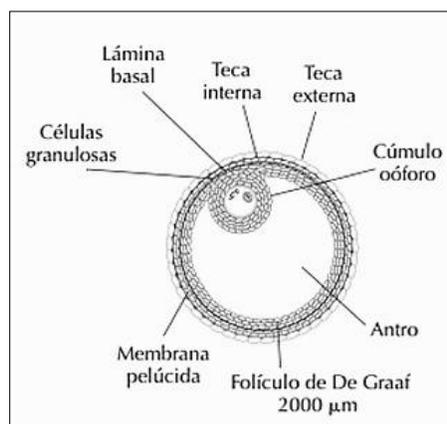
En cuanto al número de fLCs, se tiene conocimiento que en una ternera pueden existir entre 20 a 50 folículos antrales. Los fLCs pequeños crecen lentamente (tardan 27 días en pasar de 0.13 a 0.67 mm) y a medida que

aumenta su diámetro también se acelera la velocidad de crecimiento (6.8 días para pasar de 0.68 a 3.67 mm) proceso controlado por gonadotropinas y factores autocrinos - paracrinos.

### 2.2.2 Folículos preovulatorio o folículos de Graaf.

Se le ha denominado folículo de Graaf gracias a las investigaciones realizadas por el médico holandés Regnier De Graaf en 1672, donde reconoció el verdadero papel del ovario en su publicación titulada "Nuevo tratado referente a los órganos generativos de las mujeres". Concluyendo que estos folículos poseen la capacidad de responder al estímulo de la LH, hormona encargada de desencadenar cambios morfológicos y bioquímicos que activarán la meiosis e iniciarán el proceso de ovulación. En la vaca el folículo preovulatorio es de 10 a 20 mm de diámetro aproximadamente.

El folículo de Graaf no difiere de los folículos terciarios, pero se caracteriza por un mayor tamaño en el antro folicular que eleva la presión interna favoreciendo la expulsión del ovocito. En este folículo se puede apreciar una teca externa e interna con riego sanguíneo, una membrana basal, el cúmulo ooforus y una corona radiata (figura 6).



**Figura 6.** Estructura del folículo de Graaf de la hembra bovina. (Imagen Adaptada de Tresguerres & Castillo, 2008).

### **3. DINÁMICA FOLICULAR**

Se refiere al proceso de crecimiento folicular continuo, donde la regresión de los FCLs antrales conduce al desarrollo del folículo preovulatorio. Para mayor entendimiento se describirá a continuación las fases de: reclutamiento, selección y dominancia folicular.

#### **3.1 Fase de Reclutamiento**

En cada ciclo ovárico es reclutado un grupo de folículos primordiales que crecen de manera continua gracias a los niveles circulantes de FSH. Este estímulo hormonal permite la transición de folículos primordiales a folículos antrales donde uno o varios son seleccionados para la ovulación. El reclutamiento es inicial y cíclico.

##### **3.1.1 Reclutamiento inicial.**

Es considerado un proceso continuo que inicia poco después de la formación del folículo, pero antes de la pubertad. Este reclutamiento se caracteriza por el paso lento de folículo primordial a folículo antral, teniendo una duración aproximada de cuatro a seis meses.

##### **3.1.2 Reclutamiento cíclico.**

El reclutamiento cíclico tiene inicio después de la pubertad y resulta del incremento en la producción de activina, quien a su vez permite la elevación pasajera en los niveles de FSH. Los folículos de esta cohorte (8 a 41 folículos de 3-4 mm) tienen la habilidad de responder a la FSH y aumentar su tamaño transitoriamente, evento caracterizado por la expresión de mRNA que codifica para la elaboración de las aromatasas P450 arom y P450 scc en las células de la granulosa que se encargan de

la transformación de androstenidiona en estradiol (ver capítulo II). En la Figura 7 se evidencia la fase de reclutamiento folicular.



**Figura 7.** Reclutamiento folicular, caracterizado por la reactivación de la meiosis, evento FSH dependiente.

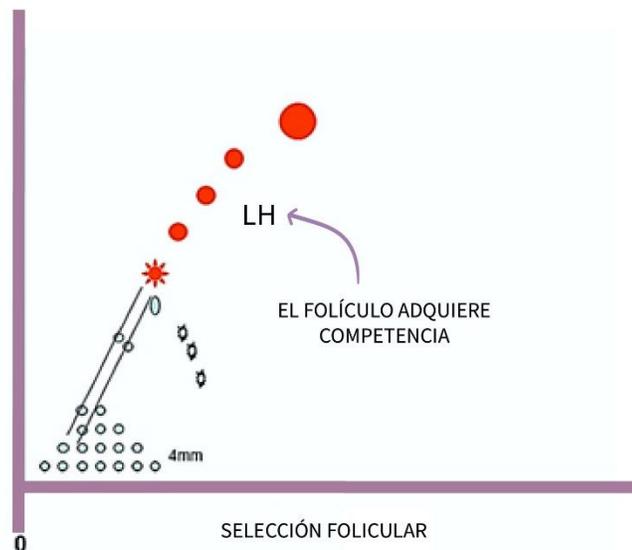
El reclutamiento cíclico puede ser detectado por ultrasonido como el crecimiento de un grupo de folículos en el día 0 del ciclo y posteriormente a los días 10 y 16 en vacas con tres oleadas.

Existen diferencias entre el número de folículos antrales reclutados en bovinos *Bos taurus* y *Bos indicus*, al respecto, Sartori *et al* (2013), reportaron la reclusión de  $42.7 \pm 5$  folículos durante la emergencia de una onda folicular en Vacas Nelore, mientras que en vacas Holando el número de folículos fue de  $19.7 \pm 3.2$ . Así mismo, Carvalho *et al* (2008), determinaron que en los animales *Bos indicus* el número de folículos reclutados por onda es mayor ( $33.4 \pm 3.2$ ), respecto a hembras *Bos taurus* ( $25.4 \pm 2.5$ ).

Diferencias que podrían ser explicadas por la mayor concentración de insulina y factor de crecimiento insulínico (IGF I) en bovinos *Bos indicus* (ver capítulo II).

### 3.2 Fase de Selección

La selección folicular ocurre al final de la fase de crecimiento y es el proceso por el cual un único folículo evade la atresia y adquiere competencia para alcanzar la ovulación. Los folículos que inician esta fase tienen un tamaño promedio de 6 a 9 mm y se les puede detectar mediante ultrasonografía los días 2 al 4 del ciclo estral. En bovinos *Bos taurus*, la selección se inicia cuando el folículo tiene un tamaño aproximado de 8 a 9 mm de diámetro, mientras en *Bos indicus* ocurre con el diámetro es de 5 a 7 mm. En la Figura 8 se evidencia la fase de selección folicular.

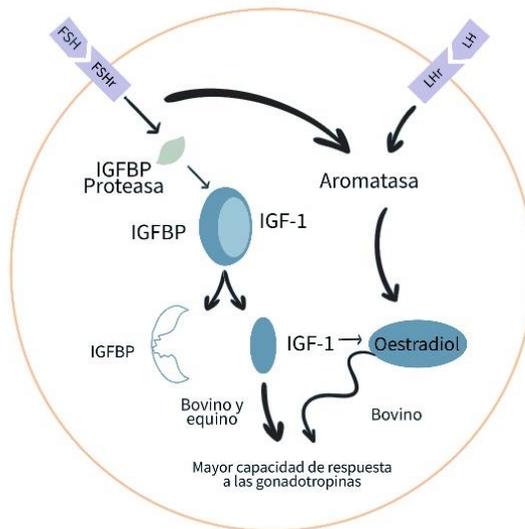


**Figura 8.** Fase de selección folicular.

Muchos autores han sugerido que el proceso de selección puede llevarse a cabo mediante dos vías: la vía pasiva donde el FD inhibe indirectamente

el crecimiento de los folículos subordinados reduciendo las concentraciones de FSH, y la vía activa en la que el FD secreta inhibinas que impiden el crecimiento de los demás folículos.

Actualmente, la vía pasiva ha sido mejor estudiada al respecto, se ha asociado la disponibilidad de los factores de crecimiento insulínico (IGF) tipo I y II con el proceso pasivo de selección. Los IGF I y II tienen un rol importante en el proceso de aromatización y el incremento de los receptores de LH en las células de la granulosa, evento que permite el incremento en la producción endógena de estradiol y la consecuente retroalimentación negativa contra la FSH. La acción de los IGFs está modulada por las proteínas unidoras (IGFBPs) que pueden modificar su producción según sea el caso (Figura 9).



**Figura 9.** Rol del factor de crecimiento insulínico en la en la reproducción animal

El principal evento morfológico observado en el proceso de selección es la divergencia, la cual corresponde al tiempo en que el FD y el folículo subordinado más desarrollado crecen a tasas diferentes antes de que este

último manifieste atresia. La divergencia según Dorneles et al (2017) se puede desarrollar de tres maneras:

- El FD y el folículo subordinado divergen gradualmente en el diámetro entre los días cero y cuatro de la onda folicular.
- El FD y el folículo subordinado tienen diámetros semejantes hasta el momento de la divergencia.
- Ocasionalmente un folículo subordinado puede ser más grande que el futuro FD, pero crece a menor tasa y no alcanza el estado decisivo.

### **3.3 Fase de Dominancia**

Es la etapa de desarrollo folicular que comprende desde la divergencia hasta el momento en que el folículo dominante produce la máxima cantidad de estradiol antes de desarrollar atresia u ovular, proceso conocido como desviación.

En bovinos de raza holandesa (*Bos taurus*), el desvío comienza alrededor del día 2,8 después de la emergencia, cuando el FD alcanza 8,5 mm de diámetro y el folículo subordinado 7.2 mm (Ginther et al., 1997), y en novillas de raza Nelore (*Bos indicus*), se describe un periodo de 2.5 a 2.7 días después de la ovulación con un diámetro del FD de 5.4 a 6.2 mm y el folículo subordinado 5.4 a 5.8 mm (Gimenes et al., 2008). En resumen, los datos indican que la divergencia folicular en *Bos indicus* ocurre con diámetros inferiores a los reportados para *Bos taurus*.

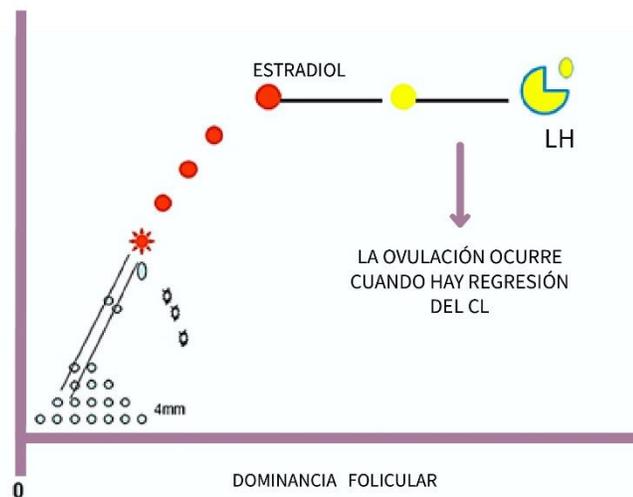
La desviación estaría asociada con un efecto inhibitorio parácrino del FD ( $\geq 8,5$  mm *Bos Taurus*;  $\geq 7$  mm *Bos Indicus*) que es iniciado por las hormonas LH, inhibina y folistatina. De forma independiente, la LH se une a los receptores de las células de la teca y estimula la síntesis de andrógenos a partir del colesterol. Estos andrógenos pasan a través de la membrana basal hacia las células de la granulosa en donde ocurre la aromatización. Por su parte, la inhibina que es producida por las CG incrementa la producción de andrógenos y la folistatina regula la bioactividad de la inhibina (Ver capítulo II).

Para un mayor entendimiento, se puede decir que en su mecanismo de acción la LH, inhibina y folistatina buscan estimular la producción endógena de  $17 \beta$ -estradiol en el FD (auto refuerzo) provocando una retroalimentación negativa sobre la FSH. Estos niveles basales de FSH (día 4 del ciclo) y el pico de LH actúan en conjunto para garantizar la expresión de receptores para la LH (LHR) en la célula de granulosa y de la teca del FD, que le permite producir una mayor cantidad de estradiol y la posibilidad de seguir creciendo. En este momento el FD se convierte en LH dependiente y los folículos subordinados sufren atresia.

No se puede dejar de mencionar el rol importante que tiene el IGF-I sobre la dominancia folicular, ya que está directamente relacionado con la expresión de receptores para la LH. Además, la LH también estimula en la teca la producción de Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular (VEGF) que promueve la angiogénesis y con ello el transporte de gonadotropinas necesarias para finalizar el crecimiento del FD.

Ahora bien, se debe dejar claro que en la fase de dominancia del folículo pueden ocurrir tres situaciones; si la regresión del cuerpo lúteo ocurre

durante el crecimiento o fase temprana de la dominancia, el FD libre del medio hormonal restrictivo impuesto por la progesterona continuará su desarrollo hasta ovular. La ovulación se produce porque un descenso en los niveles de progesterona (P4) ( $\leq 1$  ng/ml) produce un feed back positivo sobre la GnRH que provoca el pico preovulatorio de LH (Figura 10).

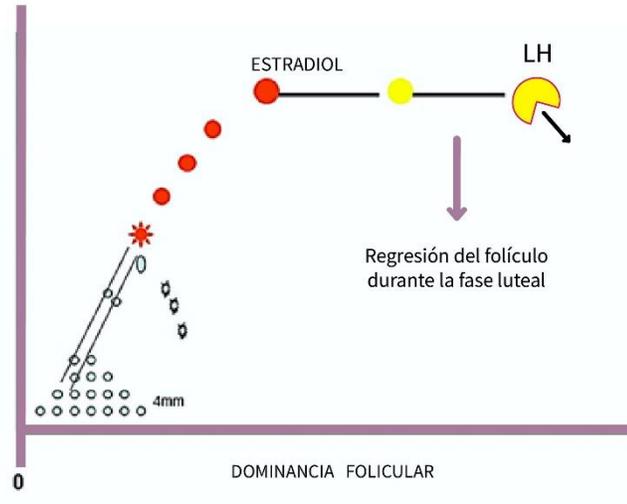


**FIGURA 10.** Fase de dominancia. El FD ovula cuando existe regresión del cuerpo lúteo que acaba con el feed back negativo sobre los pulsos de LH.

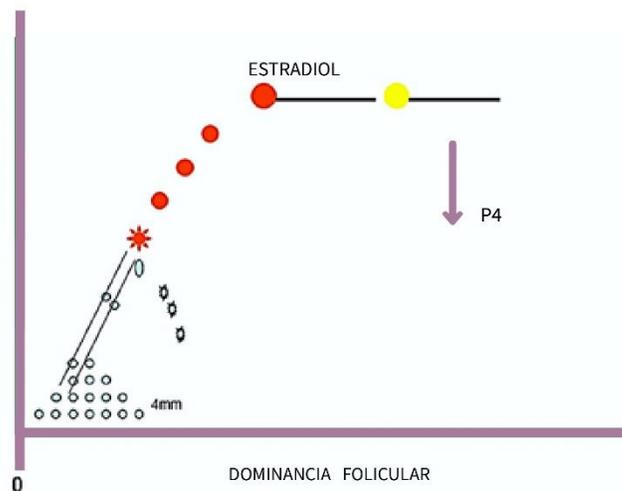
Un segundo caso ocurre cuando no hay descenso del CL, en este momento el folículo dominante entra en una fase estacionaria que dura aproximadamente 6 días, en la que mantiene su tamaño y capacidad ovulatoria, pero finalmente inicia un proceso de atresia que permite la emergencia de una nueva onda folicular (Figura 11).

Por último, se ha reportado un tercer caso y ocurre cuando existen bajas concentraciones de progesterona, lo que resulta en un prolongado crecimiento y mantenimiento del FD que ante esta situación se le

denomina folículo persistente (FP). El FP ovula – en la mayoría de los casos - a un ovulo envejecido (Figura 12).



**Figura 11.** Fase de dominancia. El FD Sufre regresión cuando existe fase luteal y los niveles de progesterona provocan feed back negativo sobre los pulsos de LH.



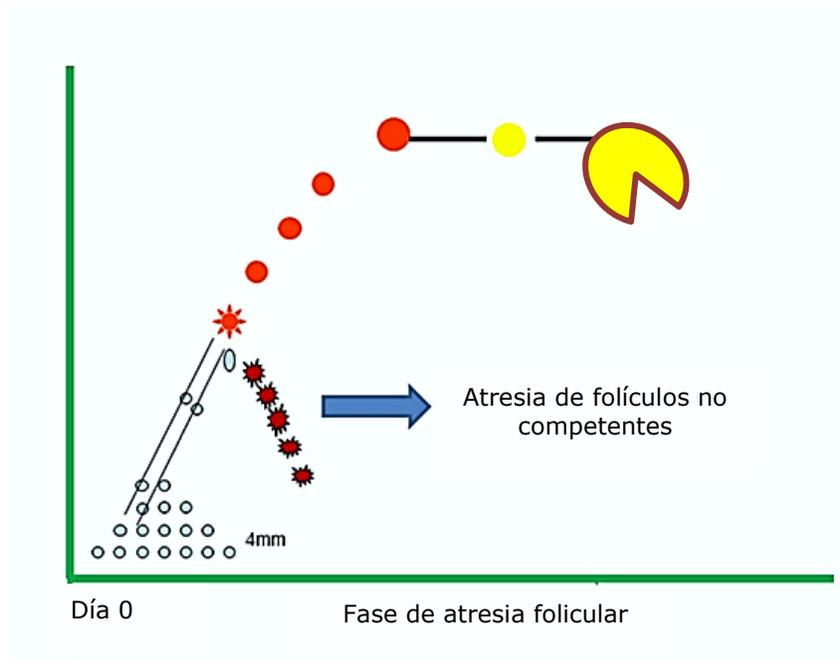
**Figura 12.** Persistencia del folículo dominante. Se prolonga el crecimiento y mantenimiento del FD debido a los niveles de progesterona circulante, se observa con mucha frecuencia en protocolos de sincronización con dispositivos intravaginales de tercer uso y en protocolos Ovsynch tradicional (ver capítulo III).

### **3.4 Fase de Atresia Folicular**

La atresia folicular puede manifestarse en cualquier etapa de la foliculogénesis. La primera involución ocurre después del reclutamiento folicular entre los días 3 y 4, cuando se produce una disminución en las concentraciones de FSH que afecta el crecimiento de los folículos menores de 5 mm de diámetro. La segunda regresión se manifiesta cuando el ambiente hormonal impide la ovulación del folículo dominante de la onda. En ambos casos los folículos son estrógenos inactivos puesto que las concentraciones de progesterona y andrógenos en el líquido folicular sobrepasan las concentraciones de estradiol.

La fase de atresia está controlada por un mecanismo de muerte celular programada y de acuerdo con Zhang et al. (2021), los folículos grandes sufren algunos cambios morfológicos e histológicos como: núcleos picnóticos y fragmentación nuclear en las CG; desprendimiento de las CG por la pérdida de la matriz intercelular; desprendimiento del complejo cumulus-ovocito. Además, ocurren pérdida de uniones comunicantes, pérdida de receptores para gonadotropinas, así como disminución en la actividad de las aromatasas. Este último evento se ha relacionado con la expresión del Factor Transformador de Crecimiento Alfa (TG $\alpha$ ), la enzima superóxido dismutasa (SOD) y la proteína 90 de shock térmico en las CG.

Mientras, la atresia en los folículos pequeños se caracteriza por una retracción de las células de la granulosa e hipertrofia de las células de la teca interna. En la Figura 13, se ilustra la fase de atresia folicular.



**Figura 13.** Fase de atresia folicular, ocurrida en los folículos FSH dependientes.

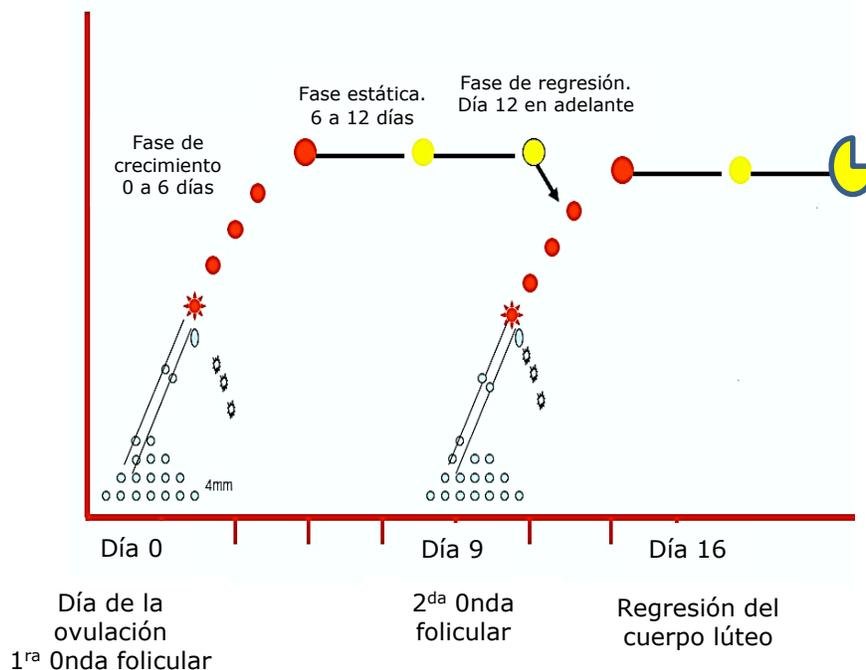
#### 4. ONDAS FOLICULARES

La dinámica folicular se estudia a partir de ondas foliculares tal como lo propuso Rajakoski (1960); y cada onda se caracteriza por la emergencia simultánea de un grupo de 5 a 7 FCLs antrales (> 5 mm de diámetro). La vaca como animal poliéstrico anual (cicla todo el año) presenta ciclos duran entre 17 a 23 días y están compuestos por dos o tres ondas foliculares.

En ciclos estrales de dos ondas, el surgimiento de la primera se produce invariablemente en el día de la ovulación (día 0). En ésta hay folículos de 4 a 5 mm de diámetro que crecen hasta el día 3 aproximadamente. Cuando los folículos alcanzan 6 a 8 mm empieza el proceso de regresión y el FD sigue su crecimiento hasta el día 6 a 7 del ciclo para entrar en una fase estática (día 9 ó 10) y disminuir su tamaño. Se debe aclarar el que

el FD de la primera onda no ovula porque la presencia del CL y la producción de P4 tienen un efecto negativo sobre los pulsos de LH y este último sobre la producción de andrógenos.

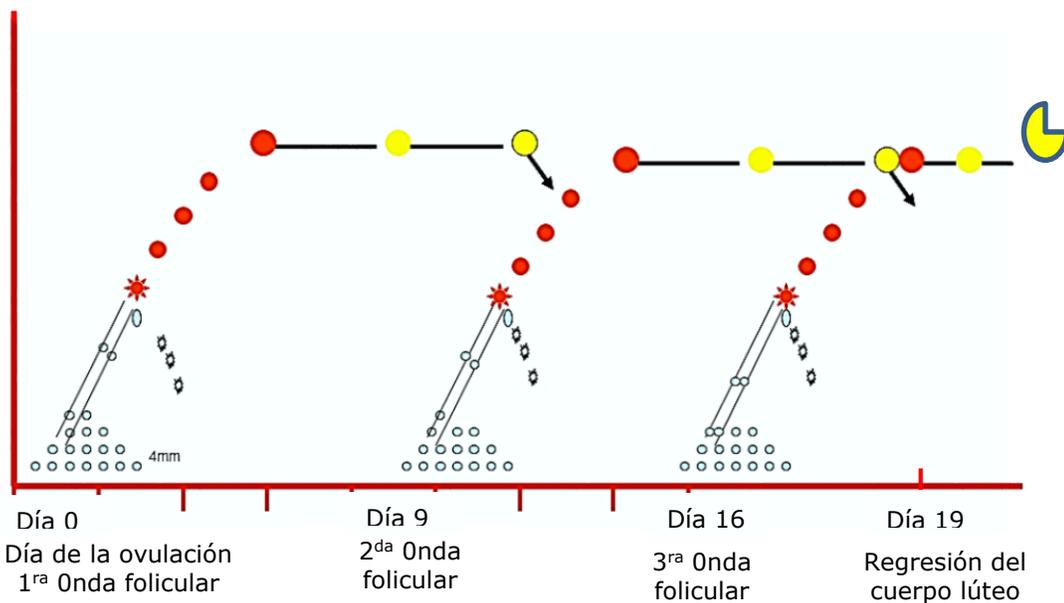
No obstante, se ha estudiado la teoría que la falta de andrógenos no es la limitante de este proceso, sino que un aumento en las Proteínas de Unión del Factor de Crecimiento Similar a la Insulina (IGFBPs) disminuyen la biodisponibilidad de los IGF I y II provocando disminución en la actividad aromatasas y por ende existe menor síntesis de estradiol. La baja producción de estradiol endógeno produce un feed back positivo sobre la FSH, la cual permite reclutar los folículos de la siguiente onda. Es así, que la segunda onda del ciclo inicia el día 9 ó 10 pos ovulación y tiene las mismas características de la primera con la diferencia que en ésta si habrá un FD que ovula 52 a 56 horas después de la regresión del cuerpo lúteo (día 16 del ciclo) (Figura 14).



**Figura 14.** Ciclo de dos ondas foliculares en la hembra Bovina.

La presencia de dos ondas foliculares es común en vacas multíparas y en éstas el ciclo estral tiene una duración de 18 a 21 días. Una característica importante de estos ciclos es la producción folículos más grandes y la mayor incidencia de ovocitos viejos al momento de la ovulación.

Por otra parte, los ciclos estrales con tres ondas se observan con mayor frecuencia en novillas, su duración varia de 21 a 23 días y se les puede detectar los días 0; 8 ó 9; y 15 ó 16, siendo las dos primeras anovulatorias debido a que la fase luteal se mantiene hasta el día 19 (Figura 15).



**Figura 15.** Ciclo de tres ondas foliculares en la hembra Bovina.

Es importante aclarar que, aunque haya una mayor frecuencia en la presentación de novillas con ciclos estrales de dos oleadas y vacas con ciclos de tres ondas, este evento no está relacionado con la raza o edad de los animales, sino que está condicionada por la prolongación de la fase luteal.

No obstante, se ha observado que las hembras *Bos taurus*, demuestran predominancia de 2 o 3 ondas de crecimiento folicular por ciclo estral, mientras que en hembras *Bos indicus* hay reportes de 3 y hasta 4 ondas (Figueiredo et al., 1997), datos que deben tenerse en cuenta a la hora de ejecutar programas de sincronización.

En cuanto a la tasa de crecimiento (mm/día) del FD, diferentes investigaciones han demostrado que es mayor al comienzo o final del ciclo estral que aquel que se desarrolla en la mitad de la fase lútea, lo que hace inferir que las concentraciones séricas de progesterona afectan negativamente su progresión.

En el ganado *Bos indicus*, se han revelado tasas de crecimiento folicular en de 0.9 mm y 1.3 mm/día en las razas Brahman y Guzerat, respectivamente. Este tipo de razas pueden alcanzar un tamaño de folículos de 12.3 mm (Guzmán, 2018). En cuanto al ganado *Bos taurus*, se han reportaron tasa de crecimiento folicular de 1.5 mm a 2.1 mm/día y un diámetro máximo de FD de 17.1 mm (Ginther, 2001). La diferencia entre las razas puede estar influenciada por los niveles de estradiol circulante.

## **5. FASES DEL CICLO ESTRAL**

### **5.1 Estro (día 0 al 2)**

El celo es una manifestación hormonal producto de la secreción endógena de estradiol por parte del FD de la onda folicular en curso, puede durar entre 30 min a 27 horas en ganado *Bos taurus* y entre una (1 h) a 20 h en animales *Bos indicus*. No obstante, factores como el consumo de

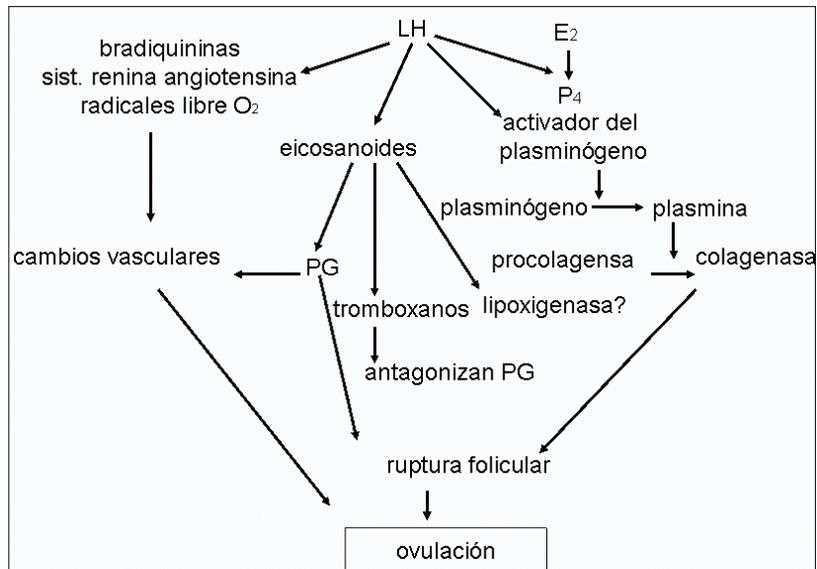
alimentos, el tamaño corporal, la categoría animal y el metabolismo de los esteroides pueden afectar positiva o negativamente dicha manifestación.

Los primeros signos de celo generalmente coinciden con el aumento preovulatorio de las hormonas luteinizante y folículo estimulante que ejercen su acción en distintos sistemas. De tal modo que durante este periodo la vaca acepta la monta, manifiesta inquietud y ansiedad, brama con frecuencia, pierde el apetito y presenta descarga de mucus, cuyo olor atrae y excita al toro. La vulva se edematiza, el útero produce un aumento del tono miométrial y el canal cervical sufre un proceso de ablandamiento.

En cuanto a su duración, Nebel et al (), reportaron que varía acorde a la raza, siendo más corto en vacas Nelore-*Bos indicus* (12.9 h) vs vacas Angus-*Bos taurus* (16.3 h), pero no hay diferencias en los cruce Nelore × Angus (12.4 h), vs vacas Nelore pura.

Con respecto a la ovulación, la producción de estrógenos endógenos ejerce una influencia positiva sobre la hipófisis, quien produce una descarga de gonadotrofinas FSH y LH cuyos efectos se ven reflejados en el aumento de la vascularización del ovario. La vascularización externa es posible gracias a agentes vasodilatadores como bradiquinina e histamina y vasoconstrictores como la PGFE2 y angiotensinas. Mientras el aumento de flujo sanguíneo interno se logra gracias al factor endotelial de crecimiento vascular (VEGF) producido por las células foliculares, que favorece la permeabilidad vascular y genera un aumento en el volumen del folículo. De forma general, el incremento del flujo sanguíneo causa una elevada presión hidrostática alrededor del folículo que facilita su

ruptura. En la Figura 17 se presenta con mayor detalle el proceso de ovulación de la hembra bovina.



**Figura 16.** Proceso de ovulación de a hembra bovina. Figura publicada por Russo & Agüero (2006).

También se tiene conocimiento que existe relación entre la producción de PGF2 $\alpha$  y P4 sobre el proceso de ovulación. La P4 produce edema y estimula la colagenasa de la teca, ésta enzima comienza a degradar el tejido conectivo que separa el folículo de la superficie ovárica mientras la PGF2 $\alpha$  provoca contracciones ováricas produciendo la rotura del folículo, el cual se contrae y expulsa al ovocito. La ovulación ocurre entre 24 y 30 horas después de iniciado el estro ó 10 a 12 horas después de haber terminado.

## 5.2 Metaestro (día 2 al 4)

Esta etapa se caracteriza por la alta capilarización de la cavidad que contiene al folículo dominante, lo que forma la estructura conocida como cuerpo hemorrágico. Durante esta fase puede presentarse descarga

sanguinolenta en el 60% de las hembras y se inicia la proliferación de células de la granulosa y de la teca que forman el cuerpo lúteo.

### **5.3 Diestro (día 5 al 17)**

Es la fase más prolongada del ciclo estral; se caracteriza por la presencia de una glándula endocrina transitoria llamada cuerpo lúteo (CL) que produce la progesterona necesaria para el mantenimiento de la preñez.

En esta fase, la LH que indujo la ovulación es también responsable de una serie de cambios en las células de la granulosa y de la teca que dan lugar a la formación del CL, proceso conocido como luteinización. Con la luteinización, las células de la teca se degeneran convirtiéndose en células luteales pequeñas; por su parte, las células de la granulosa se hipertrofian y pasan a ser células luteales de mayor tamaño ( $\geq 15 \mu\text{m}$ ). Ambos tipos de células secretan progesterona, pero las células pequeñas parecen poseer casi todos los receptores de LH y las células grandes poseen receptores para  $\text{PGE}_2$  y  $\text{PGF } 2\alpha$ .

En cuanto a la expresión de enzimas, se evidencia un incremento del citocromo P450<sub>scc</sub> y la  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa ( $3\beta$ -HSD) encargadas de conversión de colesterol a progesterona y una disminución de las enzimas  $17\alpha$ -hidroxilasa y aromatasa que interfieren en el paso de andrógenos a estrógenos. La síntesis de progesterona es un proceso molecular complejo que se detalla en el capítulo II.

Durante la fase luteal las concentraciones plasmáticas de P4 aumentan progresivamente en los 3 días posteriores a la ovulación pasando de un  $<1 \text{ ng/ml}$  a  $3 \text{ ng/ml}$  en el día 6 y alcanzan su pico máximo entre los 10 y 14 días ( $>4 \text{ ng/ml}$ ). Por su parte, el descenso del CL y de la P4 se produce

a partir del día 16 al 19 en ciclo de dos y tres ondas, respectivamente. Este ocurre mediante el proceso conocido como luteólisis en aquellos animales que no hayan concebido (Ver capítulo II). Una vez que desciende el CL se forma un nódulo de tejido conectivo denso denominado cuerpo *albicans* que permanecerá durante varios ciclos y paralelo a esto empiezan a incrementar los niveles de FSH que da inicio a la fase folicular.

#### **5.4 Proestro (día 18 al 21)**

Este período, cuya duración es de tres días, inicia con la regresión del cuerpo lúteo (niveles de progesterona  $\leq 1$  ng/ml) que elimina la retroalimentación negativa de la P4 sobre la secreción de gonadotrofinas y culmina con la manifestación de celo.

En el proestro, el incremento en la frecuencia de los pulsos de FSH estimula el desarrollo del FD, quien a su vez aumenta la producción de estradiol y con ello permite las manifestaciones propias del celo. El proestro se caracteriza porque las hembras se muestran inquietas y pueden presentar secreción vaginal, pero aún rechazan la monta del toro.

### **CONCLUSIONES**

- En la hembra bovina el proceso de foliculogénesis y ovogénesis inicia durante el periodo de gestación, pero solo hasta después de la pubertad se logra reactivar la meiosis y permite la ovulación.
- La dinámica folicular en bovinos se estudia a partir de ondas, las cuales varían de dos a tres dependiendo la prolongación de la fase

luteal. Estas ondas condicionan la duración (días) de cada ciclo estral de la hembra.

- El ciclo estral de la hembra bovina está constituido por las fases folicular y luteal ambas caracterizadas por el desarrollo de procesos fisiológicos complejos que mediante la interacción de hormonas específicas garantizan ciclos reproductivos normales.
- Existen diferencias en el proceso de foliculogénesis entre bovinos *Bos taurus* y *Bos indicus* con respecto a la emergencia de ondas foliculares, crecimiento folicular y diámetro folicular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bó, G.,** 2002. Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino XI congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, Octubre – ULA Trujillo.
- Bodensteiner, K.,** Wiltbank, M., Bergfelt, D., Ginther, O. 1996. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicle. *Theriogenology*. 45:499-512.
- Barón, O.,** 2007. Memorias curso transferencia de embriones. Servicios especializados en Reproducción Animal (Cryogen), capítulo: Función ovárica en las terneras pre púberes y biología celular de la foliculogénesis; Bogotá, Colombia.
- Callejas, S.,** 2001. Fisiología del ciclo estral bovino. En G. Palma, *Biología de la Reproducción* (pp. 37-59). Balcarce: Ediciones INTA.
- Cárdenas, F.,** 2009. Efecto de la FSH en el ciclo estral y la ovulación múltiple de la hembra bovina. Monografía para obtener título de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Veracruzana de México.
- Carvalho, J.,** Carvalho, N; Reis E; Nichi, M; Souza, A; Baruselli, P. 2008. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*
- Coutinho, G.,** Viana, J., Sá, W., Camargo, L., Ferreira, A., Palhão, P. 2007. Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59(5): 1089-1096.

- Díaz, T.**, 1999. Dinámica del desarrollo folicular ovárico durante el ciclo estral em vacas Brahman. Rev. Fac. Cienc. Vet. 40(1): 3-18.
- Dorneles, R.**, de Paula, G., Rocha, M., Passoni, C., Padilha, J., Pereira, J., Floriani, A. Characterizing emergence and divergence in the first follicular wave in a tropically adapted *Bos taurus* breed. *Theriogenology*, 88, 9-17.
- Espinoza, J.**, Ortega, R., Palacios, A., Valencia, J., Aréchiga, C. 2007. Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: una revisión. *INCI*. 32 (2):93-99.
- Ereno, R.**, 2008. Expressão genica do receptor do hormônio leutenizante (LHR), em células da granulosa de folículos de novilhas Nelore antes, durante e apos a divergencia folicular. Tesis de Doctorado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Estatal Paulista, Brasil.
- Fernández, A.**, 2003. Dinámica folicular: funcionamiento y regulación departamento de reproducción Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.
- Figueiredo R.A.**, Barros C.M., Pinheiro O.L., Soler J.M.P. 1997. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*; 47:1489-1505.
- Gigli, I.**, Russo, A., Agüero, A. 2006. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos. *InVet*. 8(1)183-204.
- Gimenes L.U.**, Sá Filho, M.F., Carvalho, N.A., Torres-Junior, J.R., Souza, A.H., Madureira, E.H., Trinca, L.A., Sartorelli, E.S., Barros, C.M., Carvalho, J.B., Mapletoft, R.J., Baruselli, P.S. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*. 69, 852-858.
- Ginther, O.**, Knopf, L., Kastelic, J. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. *J. Reprod Fertil*. 87 223-230.
- Ginther, O.**, Wiltbank, M., Fricke, P., Gibbons, J., Kot., K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Bio. Reprod*. 55:1187-1194.
- Ginther, O.**, Bergfeld, D., Beg, M., Kot, K. 2001. Follicle selection in cattle: relationship among growth rate, diameters ranking, and capacity for dominance. *Bio Reprod*. 65: 345-350.
- Ginther O.J.**, Kot K., Kulick L.J., Wiltbank M.C. 1997. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*. 48: 75-87
- Guáqueta, H.**, 2007. Ciclo estral: Fisiología básica y estrategias para mejorar la detección de celos. Trabajo presentado en el Seminario internacional de reproducción ovina y salud de hato, Septiembre, Bogotá.
- Henao, G.**, Olivera, A., Maldonado, J. 2000. Follicular dynamics during postpartum anestrus and the first estrous cycle in sukled or non-sukled Brahman (*Bos indicus*) cows. *Anim Reprod Sci*. 63: 127-136.

- Henao, G.,** Trujillo, L. 2000. Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. Revisión. Rev Col Cienc Pec. 13 (2): 108:120.
- Henao, G.,** Trujillo, L. 2003. Dinámica folicular y función lútea durante la gestación temprana. Estudio de un caso en *Bos indicus*. Rev Fac Nal Agr. 56 (1):1779-1788.
- Moreira, F.,** Riscot, C., Pires, M., Ambrose, J., Drost, M., Thatcher, W. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. J Dairy Sci. 83, 1237-1247.
- Motta, P.,** Ramos, N., González, C., Castro, E. 2011. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. Vet & zoot. 5(2): 88-99.
- Nebel, R.L.,** Dransfield, M.G., Jobst, S.M., Bame, J.H., 2000. Automated electronic systems for the detection of oestrus and timing of AI in cattle. Anim. Reprod. Sci. 60-61, 713-723
- Rajakoski, E.,** 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with especial reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. Acta Endocrinológica. 34 (3): 57-58.
- Ranferi, G.,** Cejudo, E., Carranza, L., Hernández, G. 2010. Síndrome de hiperestimulación ovárica. Rev Méx Med Reprod. 2(3):67-73.
- Rivadeneira, V.,** 2013. Ciclo estral bovino: Revisión bibliográfica. Sistemas de revisiones en investigación veterinaria San Marcos (SIRIVS). Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de San Marcos.
- Sartori, R.,** Baruselli, P., Barros, C., Bastos, M. 2013. Las diferencias en la fisiología de la reproducción entre *Bos taurus* y *Bos indicus*. X simposio internacional de Reproducción Animal IRAC; Argentina.
- Tovío, N.,** Dulca, A. 2012. Factores relacionados con la dinámica folicular en la hembra bovina. Spei Domus. 8 (17):28-47.
- Vásquez, J.,** Oliveira, M. 2011. Señalización celular en el Folículo antral Bovino. Orinoquia. 14 (2): 178-187.
- Tresguerres, J.,** Castillo, C. 2008. Fisiología del eje hipotálamo-Hipófiso-ovárico. Capítulo 79, Fisiología del sistema endocrino; Mc Graw-Hill: 1008-1012.
- Velázquez, J.,** Mendieta, E. 2012. Factores que regulan el desarrollo folicular Departamento de Ciencias de la Salud, Laboratorio de Biología Molecular y Fisiología Gonadal, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa.
- Zhang, X.,** Yu, T., Guo, X., Zhang, R., Jia, J., Shang, C., Wang, A., Jin, Y., Lin, P. 2021. Ufmylation regulates granulosa cell apoptosis via ER stress but not oxidative stress during goat follicular atresia. Theriogenology. 169, 47-55.

## **CAPITULO II**

# **ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL DE LA HEMBRA BOVINA**



## **INTRODUCCIÓN**

El Hipotálamo es una estructura que se encuentra estrechamente unida a la parte inferior del cerebro, y sus neuronas (neuronas endócrinas) producen la hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH. La hipófisis por su parte, es una glándula endocrina compuesta por dos porciones bien diferenciadas, la adenohipófisis y la neurohipófisis. La adenohipófisis recibe estímulos de la GnRH y produce varios tipos de hormonas, de las

cuales la folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) cumplen un papel relevante en el control neuroendocrino del ciclo estral.

En los ovarios las hormonas FSH y LH actúan controlando la producción de progesterona, inhibina, activina y estrógenos. Los estrógenos a su vez estimulan producción de prostaglandina F2 y E2 en el útero. La PGE2 estimula el ablandamiento del cérvix durante el proestro y estro, mientras la PGF2 $\alpha$ , interviene en la regulación del ciclo estral mediante su efecto luteolítico.

Todo estos procesos son posibles gracias al sistema portal hipotalámico-hipofisiario, un sistema de doble capilarización a nivel de las células neurosecretoras hipotalámicas, que permite a las hormonas del hipotálamo viajar hacia la adenohipófisis y estimular la producción de otros péptidos capaces de alcanzar su órgano blanco y efectuar una acción.

A continuación se hará una descripción de las hormonas involucradas en el ciclo estral de la hembra bovina, haciendo énfasis en su lugar de producción y mecanismo de acción.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar las interacciones hormonales que contribuyen con los procesos reproductivos en la hembra bovina.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Explicar los mecanismos de retroalimentación o feed back entre las hormonas involucradas en el ciclo estral de la hembra bovina
- Dar a conocer el mecanismo de acción y las funciones de las principales hormonas que intervienen en la reproducción de la hembra bovina

## **1. HORMONAS PRODUCIDAS EN EL HIPOTÁLAMO**

### **1.1 Hormona Liberadora de Gonadotrofinas (GnRH)**

La GnRH es un decapeptido (5 -oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly) con peso molecular de 1183 daltons. Es producida por células neuro-endocrinas de la región media-basal y anterior del hipotálamo y liberada por neuronas parvocelulares hacia el sistema portal hipotalámico-hipofisiario. La GnRH interactúa con las células gonadotrópicas de la adenohipófisis donde regula la liberación pulsátil de FSH y LH. De modo que, una alta amplitud y baja frecuencia favorece la liberación de LH mientras una alta frecuencia y baja amplitud, la salida de FSH.

#### **1.1.1 Mecanismo de acción.**

Una vez liberada, la GnRH se acumula en la eminencia media hasta que se produce la despolarización neuronal que permite su entrada en el sistema vascular portal -hipotálamo-hipofisiario vertiéndose a la adenohipófisis donde se une a su receptor GnRH encontrado en las células gonadotropas de la glándula. La interacción GNRH/receptor incrementa el calcio intracelular e induce a una exocitosis de gránulos secretores que contiene LH y/o FSH, fenómeno conocido como pulsos de gonadotropina.

## **1.2 Gonadotropinas Hipofisarias**

### **1.2.1 Hormona folículo estimulante (FSH).**

La FSH, es una glicoproteína sintetizada en las células basófilas de la adenohipófisis. Su secreción requiere de un gen de la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) que promueva la síntesis de ácido ribonucleico mensajero (ARNm), el cual es traducido en el ribosoma formando una molécula primaria conocida como preohormona (Prh). La Prh se transforma en hormona en el aparato de Golgi y es almacenada en forma de gránulos, éstos últimos liberan su contenido (evento dependiente del calcio) al estimularse la célula endocrina.

La FSH está formada por dos cadenas peptídicas  $\alpha$  y  $\beta$  unidas por enlace no covalente. La cadena  $\alpha$  es común para las otras dos hormonas hipofisarias (LH y TSH), mientras que la subunidad  $\beta$  genera la especificidad de la hormona por un órgano blanco. Para el mecanismo de acción de la FSH, es necesaria la presencia de las dos subunidades y éste se ejerce a través de la unión de la hormona a receptores ubicados en la membrana celular.

Es necesario recordar que en la regulación de la FSH interviene las hormonas GnRH, cuya alta frecuencia y baja amplitud produce una retroalimentación positiva, mientras que el estradiol y la inhibina producida por el folículo dominante (FD) favorecen la retroalimentación negativa y el bajo umbral de FSH en circulación.

#### **➤ Rol de la hormona folículo estimulante**

- ✓ La FSH es la hormona responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular.
- ✓ Favorece el reclutamiento de folículos antrales.

- ✓ Induce la división mitótica de las células de la granulosa (CG) incrementando las capas que rodean al ovocito I.
- ✓ Junto al estradiol, la FSH estimula la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las CG del folículo preovulatorio.
- ✓ En el FD, la FSH está involucrada con el aumento de la vascularización que permite una mayor obtención de nutrientes.
- ✓ En las células de la teca interna de los folículos terciarios, la FSH estimula la producción de andrógenos y activación de la enzima aromatasa que lo transforma en estradiol.
- ✓ En el macho, la FSH actúa sobre las células de Sertoli potenciando la espermatogénesis y sobre las células de *Leydig* favoreciendo la síntesis de receptores LH.

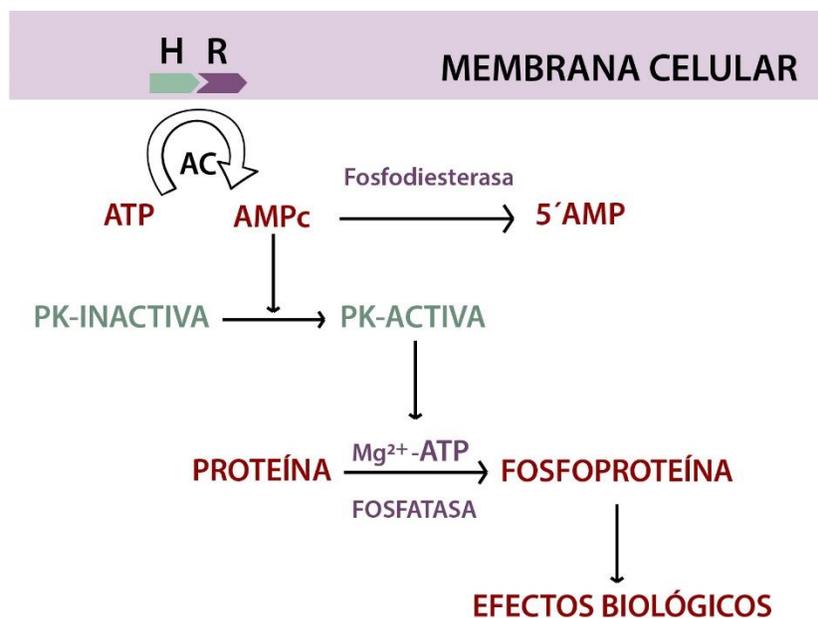
### **1.2.2 Hormona luteinizante (LH).**

Al igual que la FSH, la LH es una glicoproteína formada por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  previamente descritas. Esta hormona es secretada a la circulación en forma de pulsos regulados por 2 sistemas, el tónico o generador de pulsos de la hormona liberadora de gonadotropinas y el cíclico o generador del pico preovulatorio de la GnRH.

El primero está regulado en el área hipofisotropa de la adenohipófisis y se encarga de producir el nivel basal circulante -siempre presente- de las hormonas hipofisarias, las cuales promueven el desarrollo de los elementos germinales y endócrinos de las gónadas. El segundo se origina en el área preóptica del hipotálamo anterior y opera más agudamente, evidenciándose por solo 12 a 24 horas en cada uno de los ciclos reproductivos de la hembra. Es decir, el sistema cíclico tiene por función desencadenar el pico preovulatorio de LH y en consecuencia, la ovulación.

➤ **Mecanismo de acción**

Tanto la FSH como la hormona luteinizante por su naturaleza hidrosoluble circulan libres en el torrente sanguíneo y regulan su acción mediante receptores de membrana del órgano blanco. En su mecanismo, la unión hormona gonadotrópica- receptor, activa la enzima adenilato ciclasa quien cataliza la conversión de Adenosin Trifosfato (ATP) en Adenosin Monofosfato Cíclico (AMPc). El AMPc como segundo mensajero provoca la fosforilación de una o más proteínas específicas que cumplirán una función pre-determinada. Ver Figura 18.



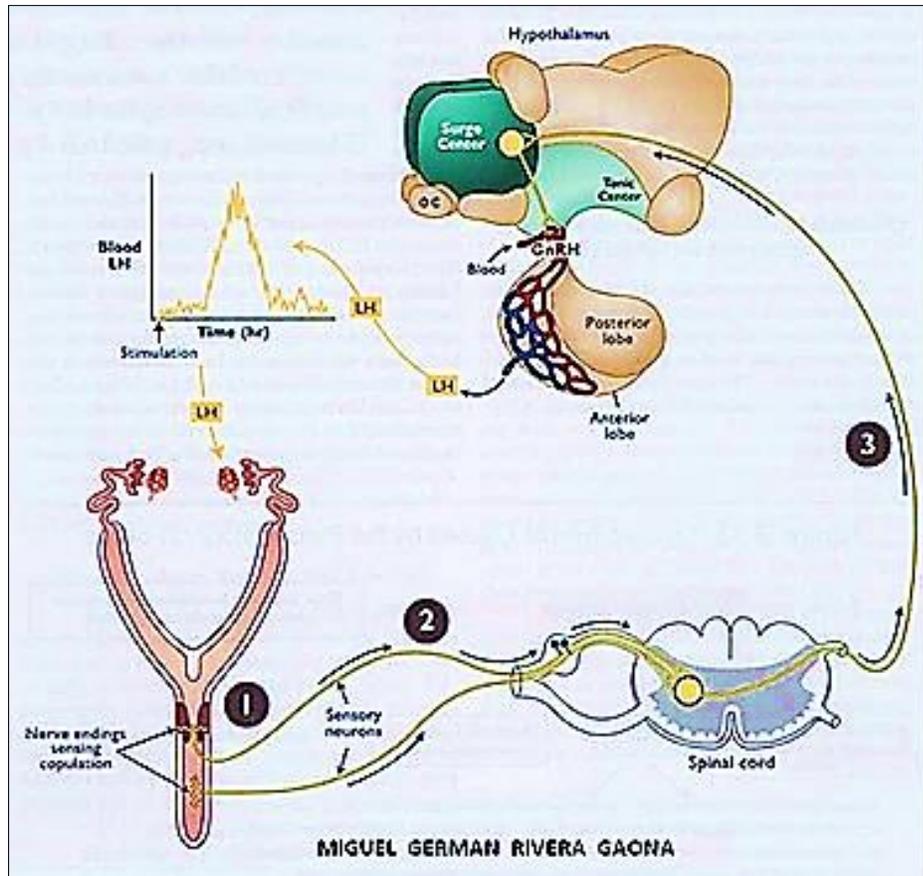
**Figura 17.** Mecanismo de acción de las hormonas peptídicas FSH y LH.

A nivel ovárico, la LH encuentra receptores en las células luteínicas, células de la teca y células intersticiales; éstos corresponden a proteínas compuestas por 674 aminoácidos y son comunes para la hormona

coriónica humana. Por su parte, los receptores para la FSH se encuentran exclusivamente en la célula de la granulosa y está constituido por una proteína que presenta siete dominios transmembranales, que permite transducir la información del espacio extracelular hacia el interior de la célula estimulando o inhibiendo la activación de segundos mensajeros, estos receptores hacen parte de la familia de genes acoplados a la proteína G.

➤ **Rol de la hormona luteinizante**

- ✓ La LH desencadena la maduración final del ovocito, la rotura del folículo ovárico y la salida del gameto femenino al oviducto (ovulación). Proceso que se explica con mayor detalle en la Figura 19.



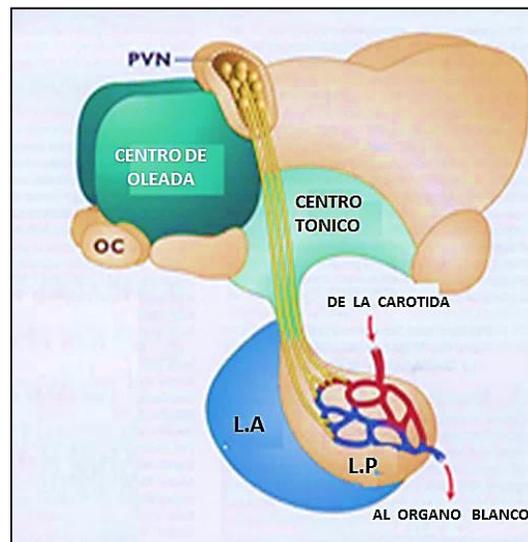
**Figura 18.** Rol de la LH sobre la Dinámica Ovárica de la hembra bovina. Figura publicada por Rivera (2008).

- ✓ Tras el pico de LH, los receptores LHR de las CG son capaces de responder e iniciar el proceso de luteinización, o transformación del folículo ovárico en una nueva estructura denominada cuerpo lúteo (CL)
- ✓ La LH Produce un aumento de AMPc estimulando la conversión de colesterol en pregnenolona, con la consecuente producción de P4 por parte de las células de la granulosa del CL y sus niveles basales actúan con la FSH para provocar aumento en la secreción de estrógenos del FD.

## 2. HOMONAS ALMACENADAS EN LA NEUROHIPÓFISIS.

### 2.1 La Oxitocina

Es un nanopéptido con peso molecular de 1007 Daltons sintetizado en el núcleo supra óptico y Paraventricular del hipotálamo, pero se almacena en el lóbulo posterior de la hipófisis (Figura 19).



**Figura 19.** Mecanismo de liberación de la hormona oxitocina. PVN: Núcleo Paraventricular; OC: Oxitocina; L.A: Lóbulo anterior; L.P: Lóbulo posterior. Figura publicada por Rivera (2008).

#### 2.1.1 Mecanismo de acción.

La liberación de oxitocina es regulada por aferencias procedentes de diversas regiones cerebrales y medula espinal que transmiten información a las fibras sensoriales de la mama y el útero.

Su mecanismo de acción durante el ciclo estral se manifiesta al final de la fase luteal, donde el estradiol producido por el folículo dominante le permite a la oxitocina expresar sus receptores en el endometrio uterino lo que estimula la actividad de las enzimas PGH sintasa y fosfolipasa A2

involucradas en la síntesis de prostaglandina. La PGF2 a su vez activa la producción de oxitocina luteal y por tanto se crea un feed back entre estas hormonas asegurando la lisis completa del CL.

### **2.1.2 Rol de la oxitocina**

- Estimula la contracción del miometrio a la hora del parto
- Tiene acción luteolítica sobre el CL, ya que permite la síntesis de PGF2
- Facilita el transporte de los gametos en el oviducto
- Estimula la eyección de leche

## **3. HORMONAS PRODUCIDAS EN LOS OVARIOS**

### **3.1 Estradiol (E2)**

Los estradiolos derivan del ciclo-pentano-perhidro-fenantreno, poseen un núcleo esteroidal formado de tres anillos con seis carbonos cada uno y un ciclo pentano. El estradiol es secretado por la teca interna del folículo ovárico y es responsable del comportamiento sexual y las características sexuales secundarias.

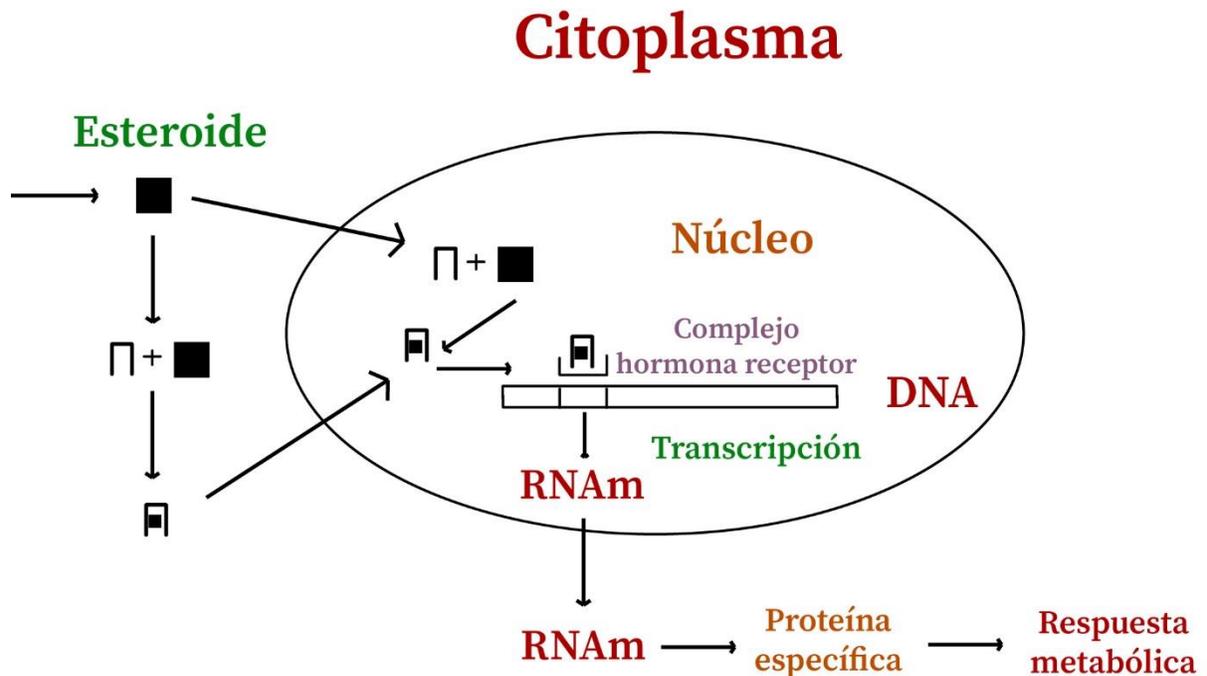
#### **3.1.1 Mecanismo de acción.**

La síntesis de todos los esteroides depende del transporte del colesterol (esteroide de 27 carbonos) a la mitocondria y de la membrana mitocondrial externa a la interna. En este proceso, la LH interacciona con su receptor ubicado en las células de la teca interna productoras de androsteniediona. La androsteniediona pasa a través de la membrana basal a las células de la granulosa donde es aromatizada por las enzimas

FSH dependiente: P450 aromatasa y P450 17 hidroxilasa para finalmente convertirse en estrona y  $17\beta$ -estradiol.

El estradiol- $17\beta$  es un potente estrógeno que se encuentran tanto en humanos como en animales, posee 18 átomos de carbono, un anillo fenólico A y un grupo hidrófilo cetónico. El anillo fenólico A es la estructura responsable de la alta afinidad a los receptores (ER  $\alpha$  y  $\beta$ ).

Es importante traer a consideración que los estrógenos son transportados en la circulación por Globulinas Fijadoras De Hormonas Sexuales (SHBG), que los protege de ser metabolizados por el hígado y les facilita el transporte hacia el órgano blanco, en este punto las hormonas esteroideas penetran en las células por difusión uniéndose a macromoléculas receptoras de manera específica y con gran afinidad, las cuales se encuentran tanto en el citoplasma como en el núcleo de la célula. Entre los órganos blanco de los estrógenos se encuentran, el sistema nervioso central (SNC), la vulva, la vagina, el útero y el oviducto. En la Figura 20 se detalla su mecanismo de acción.



**Figura 20.** Mecanismo de acción de los estradiolos.

### 3.1.2 Rol de los estrógenos

- En el SNC, los estrógenos se unen a receptores que se distribuyen por núcleos especiales (región basal medial hipotalámica), donde el estradiol inhibe por una parte, la secreción de FSH (feedback negativo) y facilita la secreción de LH (feedback positivo) necesaria para desencadenar la ovulación. Del mismo modo, se ha estimado que los estrógenos promueven la síntesis de receptores de progesterona en el hipotálamo.
- En la vulva y la vagina, los estrógenos producen un aumento del flujo sanguíneo (hiperemia), congestión y aumento del color, como

también extravasación de líquido (agua y sales) al espacio extracelular con la consecuente aparición de edema.

- En el miometrio la secreción de E2 genera hipertrofia de la capa muscular y sensibilización de las células a la acción de la oxitocina, lo que favorece la contractilidad y conductibilidad de las mismas.
- En el cérvix produce relajación, aumento del diámetro y abundante secreción mucosa.
- Finalmente, en el oviducto el E2 produce aumento de la actividad del músculo liso, secreción serosa y estimulación de la división celular.

### **3.1.3 Análogos del estradiol**

- **17Beta-estradiol (17 BE).**

El 17 $\beta$ E es un estrógeno natural de vida media muy corta (24-36 h) cuya aplicación (5 mg) el día 0 del protocolo permite la emergencia de la onda folicular aproximadamente 4 días después en animales tratados con dispositivos intravaginales.

- **Benzoato de estradiol (BE).**

El BE es un estrógeno natural caracterizado por tener una vida media corta (3 días). Su aplicación en dosis de 2 mg el día de inicio del tratamiento con progesterona genera la atresia del folículo dominante existente y el comienzo de una nueva onda de crecimiento folicular el día 4. Mientras que su aplicación 24 horas después de la extracción del

dispositivo intravaginal a dosis de 1 mg induce un pico de LH a través de retroalimentación positiva sobre la GnRH, lo que resulta en una alta sincronía de la ovulación.

➤ **Valerato de estradiol (VE).**

Es un estrógeno natural que posee una vida media larga (7 a 9 días). Se encuentra disponible en el mercado asociado con implantes que contienen el progestágeno sintético Norgestomet (ver capítulo III).

La inyección de 5 mg de VE en el día de inicio del tratamiento con progesterona genera la atresia del folículo dominante existente y el comienzo de una nueva onda de crecimiento folicular el día 5. Este análogo solo es usado para sincronizar el estro y en los protocolos se puede combinar con benzoato de estradiol o cipionato como inductores de ovulación.

➤ **Cipionato de estradiol (ECP®).**

Derivado semi-sintético del 17  $\beta$  Estradiol, posee vida media muy larga (10 a 12 días). Su uso en protocolos de sincronización sugiere una dosis de 1 mg aplicado el día del retiro del dispositivo intravaginal, por lo tanto es utilizado como inductor de ovulación. Una gran ventaja del uso del ECP es la simplificación en el manejo de los animales, ya que el protocolo solo requiere de tres encierros.

### **3.2 Progesterona (P4).**

La P4 es una hormona producida por el CL del ciclo o de la gestación. Se sintetiza por medio de la unión de la LH a los receptores de las células luteales, lo cual activa el sistema adenilato ciclasa que permite la

conversión del ATP en AMP cíclico (AMPC) y este a su vez, activa el sistema proteína kinasa A (PKA) con la correspondiente fosforilación de enzimas involucradas en el proceso de esteroidogénesis.

En detalle, para la producción de P4 se necesita el colesterol como sustrato, el cual es sintetizado por el hígado y transportado en forma de lipoproteína (LP). Las LPS son ingeridas por las células luteales mediante endocitosis pasando al citosol y de aquí a la membrana mitocondrial externa e interna, acto mediado por enzimas como adrenodoxina citocromo P450<sub>scc</sub>, y adrenodoxina reductasa. Dentro mitocondria la cadena del colesterol es fraccionada para formar la pregnenolona y ésta se transporta al retículo endoplasmático liso donde la enzima 3 $\beta$ -HSD la convierte a progesterona. Finalmente, la P4 es liberada de la célula por un proceso de difusión.

### **3.2.1 Mecanismo de acción.**

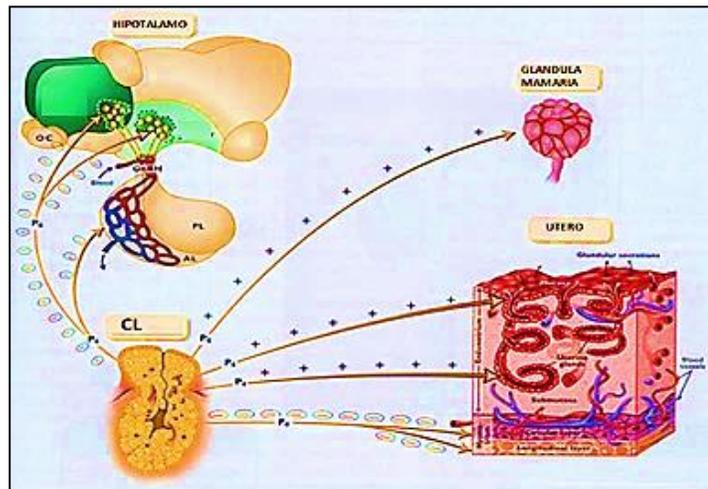
Al igual que los estrógenos, la P4 necesita receptores a nivel del citosol que permitan su ingreso al núcleo de la célula. Estando el núcleo, la hormona comienza la síntesis de RNAm que codifica para proteínas específicas que desarrollarán un efecto biológico.

### **3.2.2 Rol de la progesterona**

- La unión de P4 a sus receptores en el hipotálamo genera un efecto de "feed back" negativo sobre el control de la actividad cíclica de la GnRH, pero no suprime la secreción de FSH, por lo tanto, las ondas foliculares siguen emergiendo.
  
- En el útero, la P4 activa a las glándulas secretoras produciendo un líquido formado por proteínas séricas, glicoproteínas y minerales,

los cuales son esenciales para la nutrición del cigoto durante la fase de preadhesión.

- Sobre el endometrio, se ha establecido que la P4 genera un aumento en el espesor del epitelio (se vuelve columnar alto) y de las glándulas uterinas (más largas, enrolladas y ramificadas). Ver Figura 21.



**Figura 21.** Mecanismo de acción de la progesterona. Figura publicada por Rivera (2008).

- Esta hormona también prepara la implantación del embrión en desarrollo, inhibe las contracciones de la pared uterina, y ayuda en el reconocimiento de la gestación mediante la producción de interferón tau.
- En el cérvix la P4 produce la formación de un tapón formado por un mucus denso, opaco y de poca cantidad, evento que transforma al útero en una cámara de incubación. Durante el dominio de la progesterona no se requiere de una participación activa de la vulva

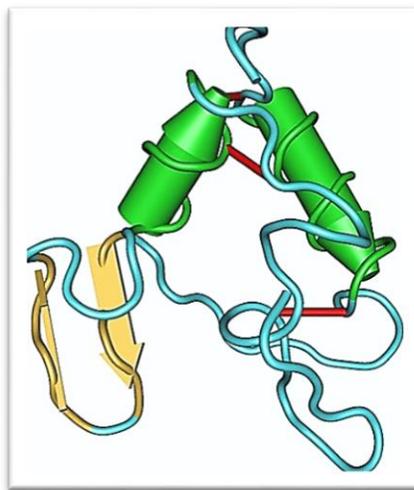
y la vagina, razón por la cual se observa una mucosa pálida como consecuencia de que no hay congestión ni edema.

- Sobre el metabolismo, la P4 aumenta la eficiencia en la utilización de los alimentos por esta razón se usa como anabólico.

### 3.3 Sistema del Factor de Crecimiento Tipo Insulínico (IGF)

Estos factores se denominan así por tener una secuencia de aminoácidos muy similar a la insulina. En bovinos el sistema IGF ovárico está constituido por IGF-I e IGF-II, el receptor IGF-tipo I, seis proteínas transportadoras (IGFBPs) y proteasas antagonistas de las IGFBPs.

Los IGF son producidos por las células de la granulosa y teca, su acción consiste en estimular la proliferación de las células de la granulosa y la síntesis de hormonas esteroideas, inhibina y activina. Del mismo modo, se le ha asociado con la foliculogénesis, la ovulación, la fertilización, la implantación y el desarrollo embrionario. Su estructura tridimensional se evidencia en la Figura 22.



**Figura 22.** Estructura tridimensional del IGF.

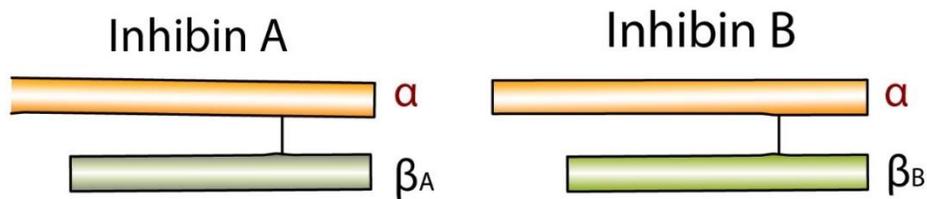
En cuanto a las IGFBPs, son moléculas presentes en el líquido folicular que se unen a los IGF impidiendo su interacción con los receptores en las células de la granulosa, lo que afecta negativamente la aromatización de los estrógenos. Las cantidades de IGFBPs son reguladas por expresión génica y por el complejo de proteasas anti-IGFBP, y una disminución en su actividad se relaciona positivamente con la selección del folículo dominante quien es capacitado para sobrevivir a las concentraciones basales de FSH sin llevarlo a la apoptosis (ver fase de selección folicular).

### **3.4 Superfamilia Transformadora del Factor-B De Crecimiento (TGF-B)**

La superfamilia del TGF- $\beta$  la comprenden más de 30 proteínas que se relacionan a nivel estructural, pero son funcionalmente distintas. De esta familia hacen parte dos inhibinas (A y B), tres activinas (A, B y AB) y la follistatina.

#### **3.4.1 Inhibinas.**

Las Inhibinas son glicoproteínas de 10 a 160 kDa aisladas inicialmente en el testículo donde se evidenció que eran capaces de inhibir las concentraciones de FSH en forma dosis dependiente. En el ovario, las inhibinas son producidas por las células de la granulosa del folículo dominante y están compuestas por dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  unidas por puentes disulfuro. La subunidad  $\beta$  puede ser  $\beta A$  y  $\beta B$  de modo que las uniones de la subunidad  $\alpha$  con  $\beta A$  ó  $\beta B$ , darán origen a la Inhibina A e inhibina B, respectivamente (Figura 23).



**Figura 23.** Conformación de las inhibinas A y B. Figura publicada por Rivera (2008).

Las concentraciones de inhibina A en el líquido folicular están relacionadas positivamente con el tamaño del folículo antral, mientras que las concentraciones de inhibina B disminuyen con el aumento del tamaño folicular. De forma general, las inhibinas desempeñan un papel importante en la maduración folicular y actúan como señales químicas a la hipófisis para darle la información del número de folículos que está creciendo en el ovario e intervienen en el mecanismo de regulación de la secreción de FSH ejerciendo un feed back negativo en la hipófisis produciendo una menor secreción de dicha hormona.

Del mismo modo, se ha establecido que las inhibinas promueven la expresión de LHR en las células de la granulosa del folículo dominante y lo convierten en LH dependiente. Y con respecto a los efectos paracrinos, se tiene conocimiento que la inhibina actúa sobre las células de la teca estimulando la producción de andrógenos.

### **3.4.2 La activina.**

La activina es un homodímero de la subunidad  $\beta$  de la inhibina que presenta dos cadenas  $\beta_A$  y dos  $\beta_B$ . La activina ejerce un efecto contrario a la inhibina y estimula la liberación de FSH por lo tanto, ambas hormonas compiten por los receptores de activina tipo II.

En su mecanismo de acción, los incrementos transitorios de la activina durante la desviación folicular favorecen el aumento intrafolicular de IGF-I y estradiol, que le permite al folículo seleccionado seguir creciendo y provocar atresia de los folículos subordinados (ver capítulo I). Del mismo modo, la activina se ha relacionado con la sensibilidad de los folículos a la FSH, estimulación del proceso de aromatización en las células de la granulosa e inhibe la expresión de LHR en las células de la teca eventos indispensables para el reclutamiento y desarrollo de folicular.

### **3.4.3 Folistatina.**

La folistatina es un polipéptido de cadena simple de 31 a 190 kDa compuesta por glicosilato, cisteína y productos de células de la granulosa. Con respecto a su mecanismo de acción, la folistatina se encarga de neutralizar las acciones de la activina en la pituitaria y el ovario, y estimula la actividad de la inhibina al suprimir el contenido celular de FSH.

## **4. ÚTERO**

### **4.1 Prostaglandina F2a (PGF2 $\alpha$ )**

El nombre prostaglandina fue dado por Von Euler en 1936 a un grupo de sustancias provenientes de extractos de la vesícula seminal y próstata de carneros capaces de inducir contractibilidad o relajación en la musculatura lisa. Años posteriores se demostró que las PGFs eran producidas en muchos órganos y fue hasta entonces que lograron aislarse en estado puro cristalino.

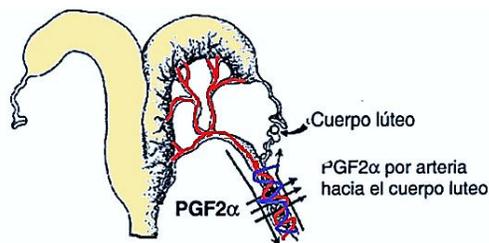
La Prostaglandina es una sustancia derivada de los ácidos grasos insaturados (Linoleico y Araquidónico), está compuesta por 20 átomos de carbono con un anillo ciclopentano y dos cadenas laterales alifáticas. Dentro de esta familia se han identificado alrededor de 15 series, pero la PGE<sub>2</sub>α y PGF<sub>2</sub>α son las mejor caracterizadas. Ambas tienen una vida media de aproximadamente de ocho minutos y sus principales funciones las realizan sobre la musculatura lisa y el flujo sanguíneo, pero no se localizan en ningún tejido particular, por lo que son transportadas en la sangre para actuar en un tejido blanco lejos del lugar de producción.

En el ovario, estas prostaglandinas son producidas por células de la granulosa y la teca interna del folículo bajo el estímulo de hormonas FSH y LH. En el útero, la PGF<sub>2</sub>α es producida por el epitelio del lumen endometrial y el epitelio glandular superficial, siendo las únicas que expresan la enzima ciclooxigenasa - 2, encargada de la transformación del ácido araquidónico - proveniente de la hidrólisis de fosfolípidos de membrana - a prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), que a su vez sirve de sustrato para que enzima prostaglandina F sintetasa la transforme en PGF<sub>2</sub>α.

#### **4.1.1 Mecanismo de acción.**

El mecanismo de acción de la PGF<sub>2</sub>α está ligado con la expresión receptores para la oxitocina a nivel en endometrial (ver Mecanismo de acción de la Oxitocina) de tal modo, que la liberación de OXT estimula la producción de PGF<sub>2</sub>α y ésta a su vez se une a los receptores de la célula luteal grande para producir cambios moleculares que culminan con la secreción de oxitocina luteal (doble feed back positivo). No obstante, después de la primera secreción de OXT el epitelio endometrial pierde sensibilidad hacia esa hormona y tarda un lapso de 5 a 6 horas para que nuevamente vuelva a darse el doble feed back, proceso conocido como pulsos de prostaglandina. Los pulsos de la PGF<sub>2</sub> α garantizan la luteólisis.

Ahora bien, el paso de  $\text{PGF}_2\alpha$  del endometrio al CL requiere de un mecanismo, al que se le ha denominado contracorriente. En el mecanismo de contracorriente (Figura 24), la relación estrecha que existe entre la arteria ovárica y la vena útero-ovárica incrementa el área de contacto de las mismas y dado que las paredes arteriales son más delgadas en este punto se permite la difusión de una cantidad suficiente de  $\text{PGF}_2\alpha$  de la vena útero-ovárica hacia la arteria ovárica para causar luteólisis.



**Figura 24.** Mecanismo de contracorriente de la prostaglandina. Figura publicada por Palma (2008) y modificada por los autores.

El efecto luteolítico se logra gracias a la unión de la  $\text{PGF}_2\alpha$  a los receptores en las células endoteliales del CL, esta hormona ejerce una vasoconstricción en el parénquima luteal que es iniciado por la endotelina I, y limita a la glándula de nutrientes, sustratos esteroidogénicos y soporte luteotrópico, y además activa los procesos autofágicos lisosomal de las células luteínicas, que culminan con la regresión del CL.

Ahora bien, para que el proceso luteolítico de  $\text{PGF}_2$  sea efectivo se requiere un mínimo de cuatro a cinco pulsos en un período de 24 horas. Si estos intervalos aumentan de forma significativa antes de haberse completado la luteólisis, el CL podría recomponerse y continuar su función, por lo tanto, en protocolos de sincronización de celo y ovulación

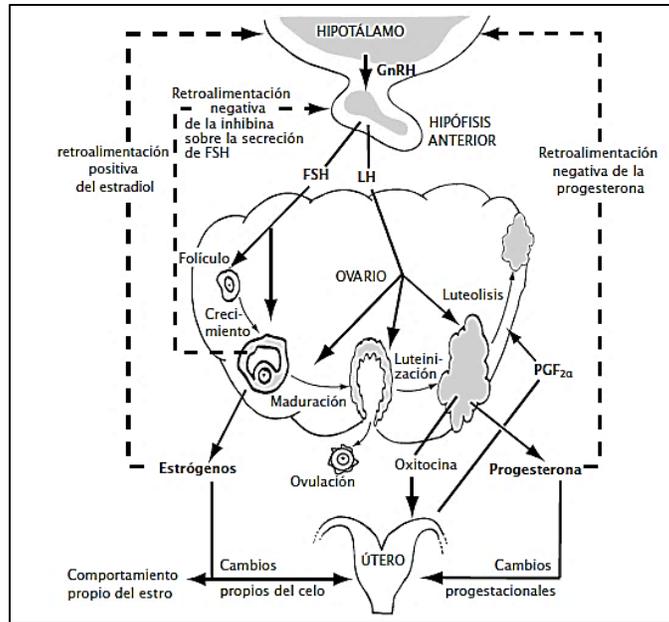
a veces se hace necesario la aplicación de dos dosis de esta hormona (Ver capítulo III).

Finalmente, dado que la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  se metaboliza rápidamente en los pulmones, su aplicación intravenosa no está indicada y actualmente se recomienda su uso en el vestíbulo de vagina para facilitar el mecanismo de contracorriente.

#### **4.1.2 Rol de la prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$**

- La PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , juega un rol importante en la ovulación, transporte de gametos, motilidad uterina, expulsión de membranas fetales y transporte de espermatozoides machos y hembras.
  
- La acción de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  sobre CL favorece su regresión 12 a 24H pos-aplicación.
  
- Cuando la PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , es usada en la sincronización de celos, éste se presenta el día 2 ó 5 dependiendo del desarrollo folicular

En la Figura 25, se muestra el mecanismo de liberación de las hormonas hipofisarias y sus principales órganos blanco.



**Figura 25.** Liberación de hormonas hipofisiarias y sus mecanismos de acción. Figura publicada por Intervet (2007): Compendium de Reproducción animal

## 5. HORMONAS DE OTRAS ESPECIES USADAS EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN BOVINA

### 5.1 Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)

Es una hormona glicoproteica producida por las células trofoblásticas de las copas endometriales de la yegua gestante, entre los días 40 y 150 de gestación. Tiene un peso molecular de 70.000 daltons dado a su alto contenido de carbohidratos y de ácido siálico (10 a 15%); y una larga vida media de 40 horas que persiste durante 10 días aproximadamente.

En la yegua la principal función de la eCG es luteotrópica (formación del CL) y en la vaca tiene un efecto folículo estimulante, aunque muestra gran similitud con la LH desde el punto de vista estructural. En cuanto a su

mecanismo de acción, se ha reportado que la eCG administrada algunas horas previas a la ovulación estimula el crecimiento folicular, debido a que tiene la capacidad de unirse e incrementar el número de receptores para FSH y LH en las células de la granulosa del FD. Por su parte, cuando se la administra después de la ovulación favorece el incremento de las concentraciones plasmáticas de progesterona mejorando el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la preñez.

## **5.2 Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)**

Es una proteína de 36.000 a 40.000 daltons sintetizada por los tejidos embrionarios de la mujer a partir de la cuarta semana de gestación. Está constituida por dos cadenas de aminoácidos alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) unidas por puentes disulfuro, siendo la cadena  $\beta$  la responsable de la especificidad del órgano blanco.

La hCG guarda relación estructural y funcional con la fracción beta de la hormona LH, al respecto se ha reportado que los primeros 121 aminoácidos de ambas glicoproteínas tienen un 80% de homología. En veterinaria, el uso de hCG se ha vinculado como un aporte gonadotrópico extra que permite potencializar la acción LH, es decir estimular la síntesis de andrógenos, la expresión de receptores LHR en la célula de la granulosa, favorecer el aumento de tamaño del folículo ovulatorio, y mejorar la función del cuerpo lúteo.

La hCG tiene funciones parecidas a la eCG, sin embargo, dado a las normas sanitarias se limita su uso en veterinaria.

## CONCLUSIONES

- El sistema portal porta hipofisiario a través de sus capilarizaciones permite la interacción entre las hormonas sexuales, de tal modo que existe una estrecha relación entre hipotálamo- hipófisis- gónadas.
- En los procesos reproductivos de la hembra bovina están involucradas hormonas de naturaleza proteica, esteroidea y ácido graso, cuya interacción con receptores de membrana y/o núcleo celular posibilitan su mecanismo de acción.
- La dinámica ovárica y el ciclo reproductivo de la hembra bovina está controlado por las hormonas sexuales quienes a través de procesos de retroalimentación o feed back posibilitan una "acción" en el momento oportuno.

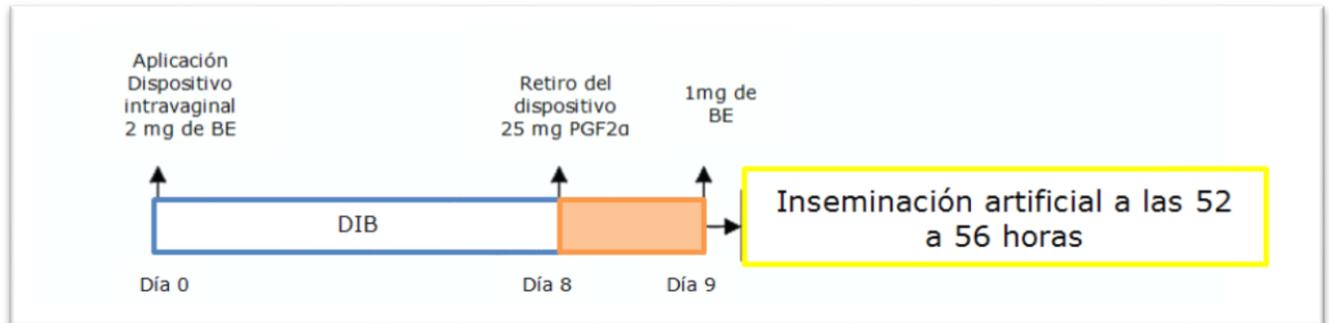
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldana, N.,** 2007. Los signos físicos del celo y su relación con la fertilidad en el ganado lechero. Tesis de grado, Departamento de Ciencias Pecuarias; Universidad de los Andes, Trujillo.
- Amado, J.,** Flórez, J. 2007. Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales; farmacología humana.
- Atuesta, J.,** Gonella, A. 2011. Control del ciclo estral en Bovinos y ovinos. Spei Domus. 7 (14): 15-24.
- Barón, O.,** 2007. Memorias curso transferencia de embriones. Servicios especializados en Reproducción Animal (Cryogen), capítulo: Actualización en fisiología de la Reproducción; Bogotá Colombia.
- Callejas, S.,** 2005. Control farmacológico del ciclo estral bovino: Bases fisiológicas, protocolos y resultados. Syntex. 25: 16-35.
- Cárdenas, F.,** 2009. Papel de la FSH en el ciclo estral y la ovulación múltiple en la hembra bovina. Monografía para obtener título de Médico Veterinario, Universidad Veracruzana, México.

- Echeverría, J.,** 2006. Endocrinología reproductiva: Prostaglandina F2a en vacas. Revisión bibliográfica. Rev Elect Vet. VII (1): 1-12.
- Evans, A.,** Walsh, S., Williams, E., Mossa, F. 2009. Desarrollo folicular y sus consecuencias en la fertilidad en Bovinos. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Argentina.
- Garnica, J.,** 2012. Efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG) en la ovulación con protocolos de IATF en vacas Holstein posparto. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Cuenca. Ecuador.
- González, F.,** 2002. introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária. Porto Alegre, Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, p II-4.
- Gutiérrez, J.,** 2008. Hormonas de la Reproducción Bovina. Desarrollo sostenible de Ganadería Doble propósito; Capítulo XLII.
- López, E.,** 2009. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y su papel en la reproducción bovina; Universidad Veracruzana, México.
- Luttgenau, J.,** Ulbrich, S., Beindorff, N., Honnens, A., Herzog, K., Bollwein, H. 2011. Plasma progesterone concentrations in the mid -luteal phase are dependent on luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. Anim Repro Sci. 125, 1-4.
- Lynch, C.,** Kenny, D., Child, S., Diskin, M. 2010. The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. Theriogenology. 73, 190-198.
- Matiller, V.,** Diaz, P., Stangaferro, M., Rodriguez, F., Ortega, H., Rey, F. 2014. Rol de la superfamilia del factor de crecimiento transformante B en el ovario Bovino. FAVE-Ciencias veterinarias. 13 (1-2): 8:18.
- Murray, R.,** Mayes, P., Granner, D., Rodwell, V. 1994. Bioquímica de Harper 13<sup>ra</sup> edición. Capítulo 50, 643-655.
- Rivera, M.,** 2008. Manual de Reproducción Bovina: Endocrinología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima. 1-30.
- Squires, E.,** 2006. Endocrinología animal aplicada. Editorial Acribia. Capítulo 5, 169-178.
- Syntex.** 2005. Manejo farmacológico del ciclo estral del bovino. Laboratorio de Especialidades Veterinarias; Argentina.
- Syntex.** 2005. Fisiología reproductiva del Bovino. Laboratorio de Especialidades Veterinarias; Argentina.
- Thijssen, J.,** Herzog, K., Weijers, G., Brockhan, M., Starke, A. 2011. Ultrasound image analysis offers the opportunity to predict plasma progesterone concentrations in the estrous cycle in cows: A feasibility study. Anim Repro Sci. 127, 1-2.
- Tresguerres, J.,** Castillo, C. 2008. Fisiología del eje Hipotálamo - hipofiso-ovárico. Capítulo 79. Editorial McGraw-Hill, 1007-1022.
- Valsecía, M.,** 2006. Farmacología de las hormonas sexuales femeninas: estrógenos, antiestrogenos, progesterona, progestágenos, antiprogestagenos, anticonceptivos hormonales. Sección IV, Capítulo 26.

**Velázquez, N.**, 2014. La hormona gonadotrofina corionica humana. Una molecula ubicua y versátil. Rev obstet ginecol venez. 74 (2): 122-133.

## CAPITULO III



## PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y LA OVULACIÓN DE LA HEMBRA BOVINA

## INTRODUCCIÓN

La idea de manipular el ciclo estral de la vaca fue propuesta por Christian & Casida (1948), quienes sugirieron la utilización de la progesterona para bloquear la función reproductiva y provocar el celo una vez suspendida la medicación. Más tarde en 1968 Wiltbank & Kasson verificaron que la adición de un estrógeno (Valerato de estradiol) aumentaba la incidencia de celos en los animales tratados gracias a su efecto luteolítico.

Por su parte, Rowson et al (1972) plantearon un protocolo para sincronización de celo en bovinos utilizando prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) como agente luteolítico, pero, Pursley et al (1997) demostraron que el momento de ovulación en ciclos inducidos con PGF<sub>2α</sub> presentaban grandes variaciones, por tanto, la detección de celo se hacía imprescindible antes de realizar la inseminación artificial

Actualmente se siguen los mismos principios relatados por Patterson et al (2000), quienes sugirieron el control del ciclo estral de la vaca, mediante la prolongación y/o acortamiento de la fase lútea a través de la administración de progesterona exógena y prostaglandinas.

Las anteriores investigaciones han permitido sincronizar celo y ovulación de la hembra bovina a través del uso de protocolos hormonales de inseminación artificial (IA) sin detección de celos, llamados comúnmente IA a tiempo fijo (IATF), los cuales pueden ser a base de aplicaciones de GnRH y prostaglandina o a base de fuentes de progesterona y estrógenos.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los protocolos de sincronización del estro y la ovulación de la hembra bovina haciendo énfasis en los tratamientos hormonales disponibles.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar los protocolos de sincronización del celo y la ovulación de la hembra bovina de acuerdo a su categoría animal.
- Identificar los productos comerciales disponibles para la sincronización del celo y la ovulación de la hembra bovina.
- Conocer las ventajas y desventajas de los protocolos de sincronización del celo y la ovulación de la hembra bovina.

## **1. USO DE PROSTAGLANDINA (PGF<sub>2α</sub>) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACION DE CELOS**

La posibilidad de controlar el ciclo estral bovino por aplicación de PGF<sub>2α</sub> como agente luteolítico abrió una nueva era en el campo del manejo reproductivo. El primero en evaluar la posibilidad de sincronizar el celo en hembras ciclando fue Rowson en 1972 en vacas lecheras.

En su mecanismo de acción, la PGF<sub>2α</sub> induce la regresión del cuerpo lúteo (CL) ocasionando la disminución de las concentraciones séricas de

progesterona (P4) a menos de 1 ng/ml, con lo cual desaparece la retroalimentación negativa (feed back negativo) de la P4 sobre la GnRH y aumenta la frecuencia de los pulsos de LH a partir de las 64 a 72 horas pos aplicación, que inducen la maduración y la ovulación del folículo dominante (FD) presente en la onda folicular en curso.

### 1.1 Protocolo con una sola aplicación de PGF2 $\alpha$

La aplicación de PGF2 $\alpha$ , está indicada para los días 5 al 17 del ciclo estral, la cual ocasiona la regresión del CL, dando por finalizada la fase luteal e iniciando la fase folicular. Es importante aclarar que la PGF 2 $\alpha$  no tiene efecto sobre la dinámica ovárica, ella es simplemente un agente luteolítico. Sin embargo, la presentación del celo depende de la etapa de desarrollo folicular de los animales al momento de recibir el tratamiento, es decir, animales con folículo dominante tendrán celo 2 a 3 días después y los animales que se encuentran en predominancia de la onda lo presentarán 5 a 7 días posteriores. Los porcentajes de detección de celo se muestran en la tabla 1.

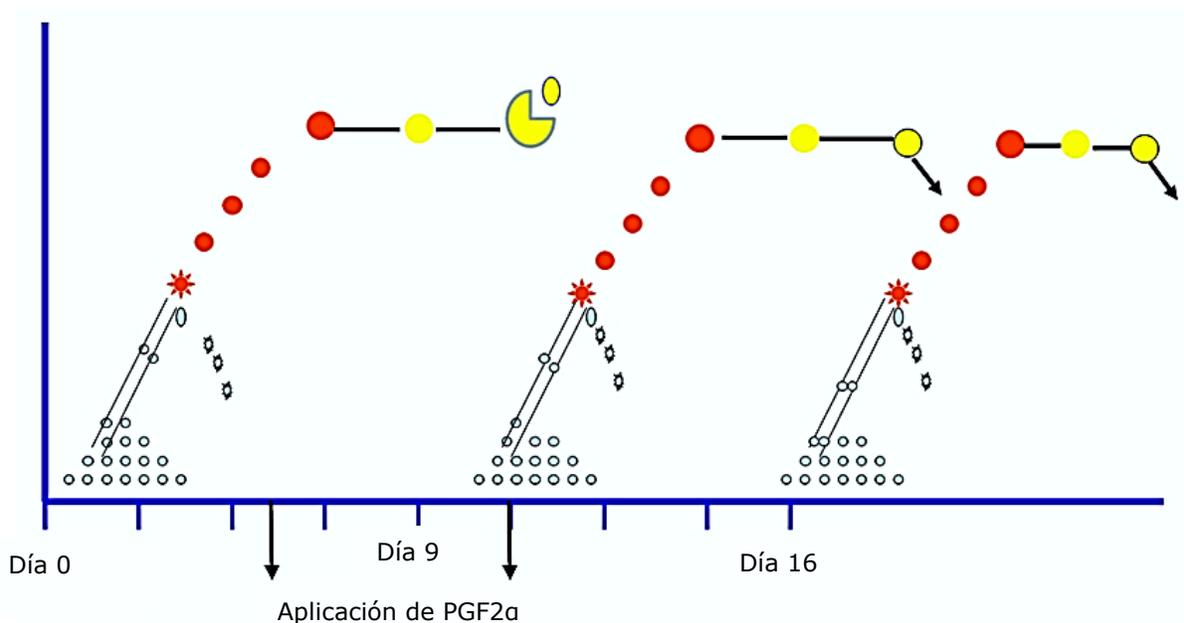
**Tabla 1.** Porcentaje de celo en vacas de leche y carne sincronizadas con una dosis de PGF2  $\alpha$

Dosis PGF2 $\alpha$	Categoría animal	% celo detectado	Referencias
25 mg/presencia de CL	Vacas cárnicas	78.7%	García et al. (1991)
17,5 mg / presencia de CL	Vacas lecheras	72.7%	García et al. (1991)
25 mg/ presencia de CL	Vacas lecheras	95%	Blanc et al (1994)
25 mg/ presencia de CL	Vacas lecheras	90%	Heuwieser et al (1997)

CL: Cuerpo lúteo. Fuente: Los autores

En la práctica de campo, cuando se aplica una sola inyección de PGF2  $\alpha$  con previo diagnóstico de la presencia de cuerpo lúteo se puede presentar las siguientes situaciones:

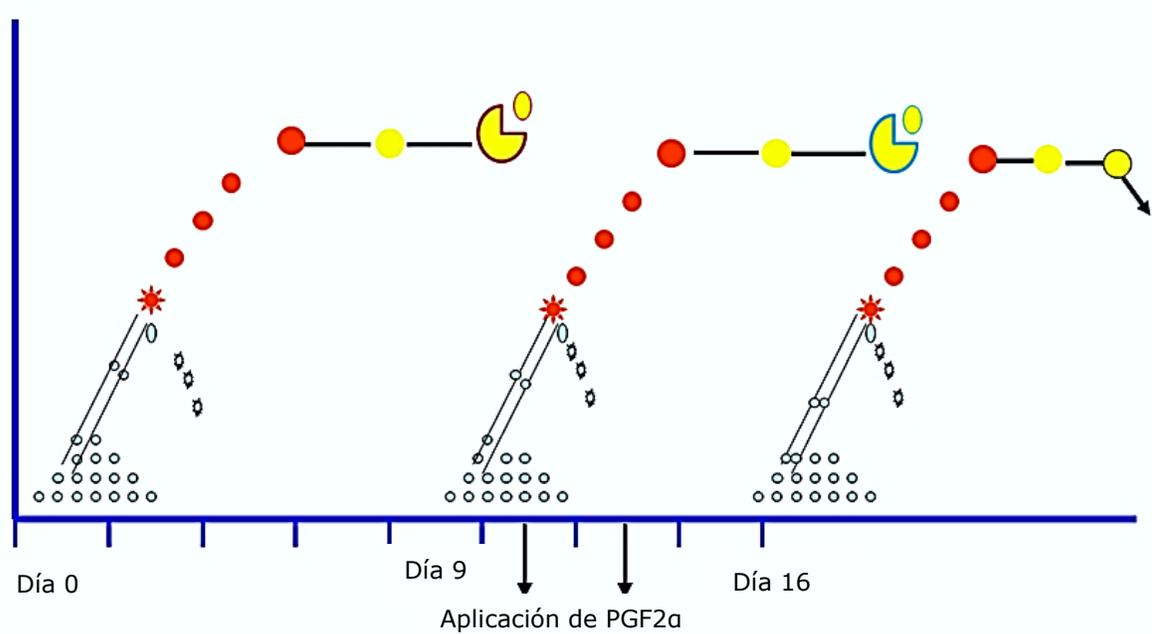
- Si al aplicar la PGF2  $\alpha$  y los animales se encuentran entre los días 5 al 10 del ciclo estral se producirá la ovulación del folículo dominante de la primera onda de crecimiento folicular y los celos se concentrarán 3 días posteriores a su aplicación (Figura 26).



**FIGURA 26.** Aplicación de una dosis de PGF2 en los días 5 al 10 del ciclo estral. El celo se concentra tres días pos aplicación y ovula el folículo de la primera onda folicular.

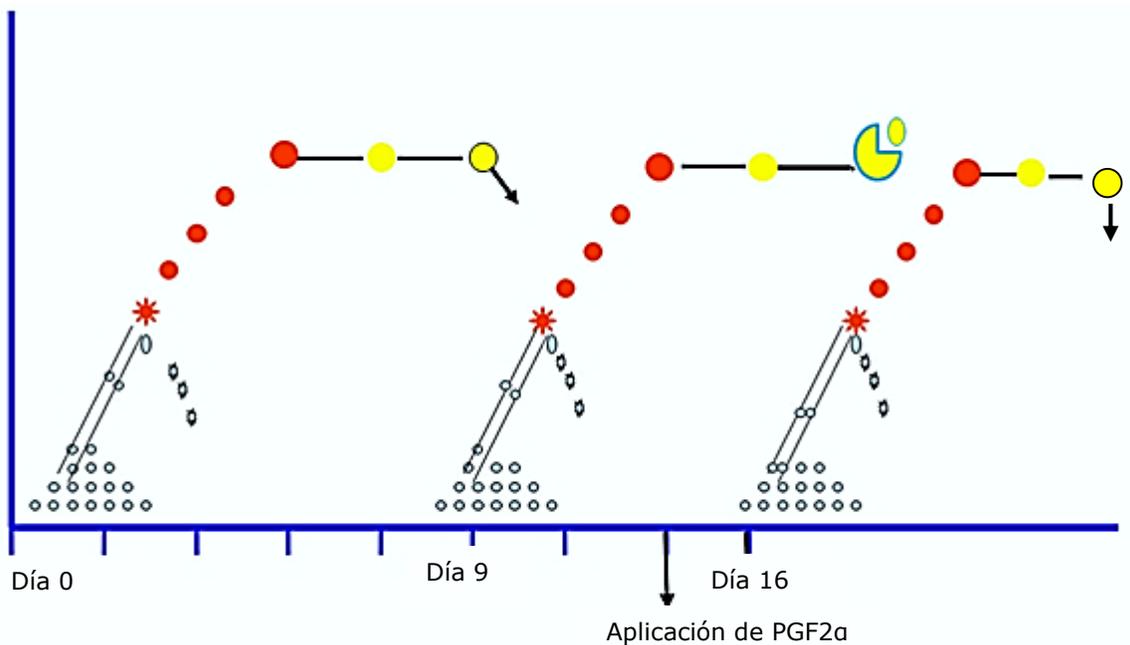
- Si al aplicar la PGF2  $\alpha$  y los animales se encuentran entre los días 11 y 13 del ciclo estral, los celos se producen con mayor dispersión y existe la posibilidad que ovule el FD de la primera o segunda onda. Cuando ovula el folículo de la primera onda, éste podría ser demasiado viejo y la calidad del cuerpo lúteo al que da lugar podría

no ser suficiente para mantener un nivel elevado de progesterona (Figura 27).



**FIGURA 27.** Aplicación de PGF2 $\alpha$  entre los días 11 y 13 del ciclo estral. En estas circunstancias, los celos se presenta de forma dispersa y podría ovular el FD de la primera o segunda onda.

- Y finalmente, si al aplicar la PGF2  $\alpha$  y los animales se encuentran entre los días 14 y 16 del ciclo estral, se producirá la ovulación del FD de la segunda onda de crecimiento folicular y los celos se concentrarán 3 días posteriores a su aplicación (Figura 28).

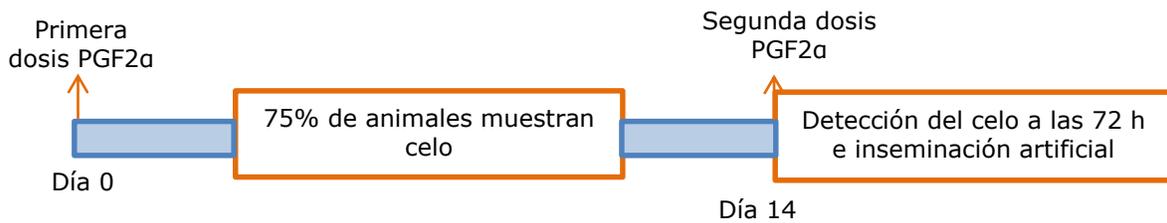


**FIGURA 28.** Aplicación de PGF2 $\alpha$  entre los días 14 al 16 del ciclo estral. Los celos se concentran tres pos aplicación y ovula el FD de la segunda onda folicular.

Con el fin de disminuir la variabilidad en los resultados tras el uso de una dosis de prostaglandina, muchos autores llegaron a la conclusión que para sincronizar un grupo de animales cíclicos que con toda probabilidad estarán en etapas distintas y desconocidas del ciclo estral, una inyección de PGF 2 $\alpha$  no es suficiente, sino que debe administrarse una segunda dosis a intervalos de 11 a 14 días para que todos animales tengan cuerpo lúteo funcional.

### 1.2 Protocolo con dos aplicaciones de PGF2 $\alpha$

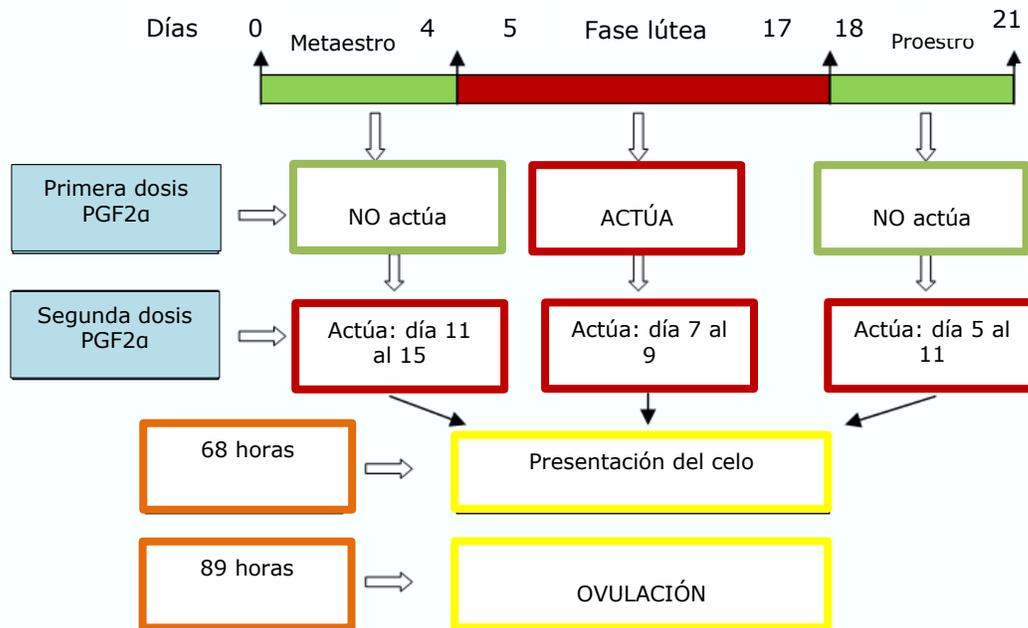
En este protocolo descrito por Ferguson y Galligan (1993), la PGF2 $\alpha$  es administrada con dos inyecciones a intervalos de 10 a 14 días, su objetivo consiste que tras la primera aplicación el estro se presente en un 75% de las hembras tratadas y aquellas que no lo presentaron deben responder a la segunda dosis (Figura 29).



**Figura 29.** Protocolo de sincronización de celo con dos aplicaciones de PGF2 $\alpha$ .

Se debe dejar claro, que cuando se aplica la primera dosis de PGF2 $\alpha$  a un grupo de hembras que se encuentran entre los días 5 al 17 del ciclo estral, éstas presentarán celo 3 a 7 días pos aplicación y deben ser inseminadas, pero aquellas que no respondieron al tratamiento se les debe administrar una segunda dosis de PGF2 $\alpha$  al día 14, garantizando que después de este lapso de tiempo las hembras se encontrarán entre 7 al 9 del ciclo y tendrán un cuerpo lúteo funcional. Tras esta última dosis de PGF2 $\alpha$  los celos se concentrarán 3 días posteriores y deben aprovecharse para realizar la inseminación artificial a celo detectado y poder obtener tasas de preñez satisfactorias.

Ahora bien, en un caso hipotético que los animales se encuentren entre los días 0 a 4, y 18 a 21 del ciclo estral (fase metaestro y proestro), a la primera aplicación de PGF2 $\alpha$  las hembras no responderán al tratamiento, pero con una segunda aplicación 14 días posteriores, éstas se encontrarán en los días 11 a 15, y 5 a 11 del ciclo estral respectivamente, teniendo un CL funcional sensible a la PGF 2  $\alpha$ . Para mayor explicación ver el esquema 1.



**Esquema 1.** Sincronización del celo con dos dosis de PGF2α. Modelo ajustado por Bó y *et al.* (2013).

Este protocolo ha sido utilizado por Bó *et al.* (2007), quienes manifestaron que más del 90% de las hembras que estaban ciclando respondieron al tratamiento y presentaron celo entre dos y cuatro días después de la segunda aplicación. También destacaron la gran concentración y rápida iniciación de los mismos, por su parte Sá Filho *et al.* (2010) y Prada *et al.* (2013) resaltaron las tasas de preñez a celo detectado en novillas de razas lecheras. Los resultados obtenidos se evidencian en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Tasa de concepción y preñez a celo detectado en novillas sincronizadas con dos dosis de PGF2a a intervalos de 14 días.

DOSIS PGF2a	Categoría animal	Tasa de Concepción	Tasa de preñez 30-40 días	Tasa de preñez 50-60 días	Referencias
25 mg	Novillas <i>Bos taurus</i>	-	62.0%	54.0%	Waldmann et al (2006)
25 mg	Novillas cruzadas	63.6%	-	-	Bó et al (2007)
25 mg	Novillas cruzadas	60.5%	65.0%	32.5%	Sá Filho et al (2010)
25 mg	Novillas <i>Bos taurus</i>	-	63.0%	-	Rusiño y Cavestany (2011)
25 mg	Novillas <i>Bos indicus</i>	-	-	41.7%	Prada et al (2013)
500 Ug	Novillas <i>Bos taurus</i>			41.08%	Kenna et al (2018)

CL: Cuerpo Lúteo, PGF2a: Prostaglandina

### 1.2.1 Ventajas de la sincronización con dos dosis de PGF 2a

- Existen grupos de vacas y novillas que entran en celo en un tiempo predeterminado
- Mejoramiento en la detección del estro.
- El protocolo es económico

### 1.2.2 Desventajas de la sincronización con dos dosis de PGF 2a

- Requiere detección de celos
- En las vacas en anestro posparto las PGF2a no son el método de elección
- Demanda mano de obra

## 1.3 Análogos Y Productos Comerciales De PGF2a

Es de resaltar que la PGF 2a es una hormona que se metaboliza casi de inmediato en los pulmones y gracias sus efectos vasoconstrictores

potentes surgieron análogos que incrementan el poder luteolítico y disminuyen los efectos colaterales.

La PGF 2 $\alpha$  posee análogos naturales (Dinoprost) y sintéticos (Cloprostenol, Delprostenate, Luprostiol, Tiaprost, Fluprostenol; entre otros), los cuales son utilizados comúnmente en protocolos de pre-sincronización y sincronización del celo de la hembra bovina (Tabla 4).

**Tabla 3.** Análogos y productos comerciales de PGF 2 $\alpha$

ANALOGOS	PRODUCTO COMERCIAL	DOSIS	PRESENTACION	INDICACIONES
Dinoprost	Lutalyse®: 5 mg	25 mg 5 ml (IM)	Frasco 30 ml	Aplicar día -28 y -14 (pre-sincronización) y al Retiro del dispositivo P4
Cloprostenol	Zincrocel®: 0,075 mg Estrumate®: 250 $\mu$ g Lutaprost®: 0,25 mg Dalmaprost-D®: 0,075 mg Arsaprost-D®: 75 mg BAKER®: 75 mg EstroPLAN®: 250 $\mu$ g Prostal®: 0,0075 g preloban®: 0,075 mg	0.150mg y 0.50mg 2 ml (IM)	Frasco 10 ml y 20 ml Frasco 2 ml Frasco 20 ml Frasco 10, 20, 30 ml Frasco 20 ml Frasco 20 ml Frasco 20 ml Frasco 20 ml	Aplicar día -28 y -14 (pre-sincronización) y al Retiro del dispositivo P4
Luprostiol	Prosolvín®: 7.50 mg	15 mg 2 ml (IM)	Frasco 10 ml	Aplicar día -28 y -14 (pre-sincronización) y al Retiro del dispositivo P4
Tiaprost	Iliren®: 0,15 mg	0.75 mg 5 ml (IM)	Frasco 10 ml	Aplicar día -28 y -14 (pre-sincronización) y al Retiro del dispositivo P4

Con base a los análogos de PGF 2 $\alpha$ , Bó et al. (2002) realizaron varios experimentos para determinar el efecto de la dosis y vía de administración de Cloprostenol sobre la luteólisis, celo y ovulación en novillas de actitud cárnica. Los resultados se evidencian en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Medida de los intervalos desde el tratamiento con PGF 2 $\alpha$  sobre el momento de la ovulación y el celo en novillas, al recibir tres dosis de Cloprostenol en diferentes estadios del ciclo estral.

	100 $\mu$ g Sc	250 $\mu$ g Sc	500 $\mu$ g IM
<b>Detección celo</b>	5/6	5/7	6/6
<b>Nº de ovulaciones</b>	5/6	6/7	6/6
<b>Intervalo - aplicación PHF2<math>\alpha</math></b>			
<b>Celo</b>	88.8 $\pm$ 13.4 h	57.6 $\pm$ 69 h	56.0 $\pm$ 7.3 h
<b>Ovulación</b>	120.0 $\pm$ 10.7 h	92.0 $\pm$ 74 h	84.0 $\pm$ 8.2 h

Del mismo modo, evaluaron el efecto de aplicar 125  $\mu$ g o 500  $\mu$ g de Cloprostenol por vía intramuscular y subcutánea sobre el intervalo en horas de la aparición de celo, ovulación y pico de LH en novillas tipo carne (Tabla 5).

**Tabla 5.** Medida de los intervalos desde el tratamiento con PGF2 $\alpha$  sobre el momento del celo, ovulación y pico de LH en novillas tipo carne, al recibir tres dosis de Cloprostenol por dos vías distintas en el día siete después de la ovulación.

VARIABLES	125 $\mu$ g		500 $\mu$ g	
	IM	SC	IM	SC
<b>Detección celo</b>	5/9	3/9	7/9	9/9
<b>Nº de ovulaciones</b>	5/9	4/9	8/9	9/9
<b>Intervalo - aplicación PHF2<math>\alpha</math></b>				
<b>Celo</b>	46.4 $\pm$ 2.7 h	49.3 $\pm$ 0.8 h	48.4 $\pm$ 0.6 h	50.2 $\pm$ 1.3 h
<b>Pico de LH</b>	52.0 $\pm$ 2.0 h	49.5 $\pm$ 1.5 h	51.0 $\pm$ 2.0 h	51.3 $\pm$ 1.4 h
<b>Ovulación</b>	76.8 $\pm$ 2.9 h	81.0 $\pm$ 3.0 h	76.5 $\pm$ 2.2 h	81.3 $\pm$ 1.7 h

Lo anterior ratifica que el uso del análogo Cloprostenol tiene un efecto similar cuando es aplicado a dosis de 125 ó 500  $\mu$ g sobre vía subcutánea o intramuscular, haciéndolo eficaz para su uso en protocolos de sincronización del estro.

Por otra parte, en las investigaciones de Bó et al. (2011) y Wijman et al. (2016), se encontró un mejor efecto de la prostaglandina sobre la luteólisis cuando fue administrada a la mitad de la dosis en el vestíbulo de la vagina de novillas cárnicas y vacas Holstein lactantes respectivamente, efecto que podría deberse al mecanismo de contracorriente.

## **2. USO DE LA GnRH EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO Y OVULACIÓN**

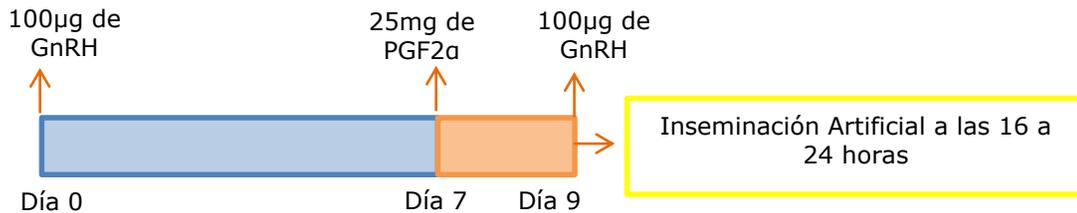
Los protocolos de sincronización con GnRH han sido utilizados en gran medida en países como Estados Unidos, Nueva Zelanda y la Unión Europea para la IATF de bovinos *Bos Taurus*. A continuación daremos a conocer los sistemas mejor estudiados y los resultados obtenidos en cada uno de ellos.

### **2.1 Protocolo Ovsynch (GnRH – PGF 2 $\alpha$ -GnRH)**

El protocolo Ovsynch descrito por Pursley (1995), fue desarrollado como estrategia de manejo reproductivo para eliminar la necesidad de la detección de celo y permitir la inseminación a tiempo fijo (IATF).

El tratamiento consiste en la administración 100  $\mu$ g de GnRH (día 0) en fases aleatorias del ciclo estral. Esta primera aplicación produce un pico preovulatorio de LH que tendrá efecto sobre el FD de la onda folicular en curso provocando su ovulación (folículo  $\geq$  10 mm) o atresia (folículo  $\leq$  10 mm), con la emergencia de la onda folicular 2 a 3 días pos tratamiento. El día 7 se aplica PGF 2 $\alpha$  para inducir la luteólisis y disminuir los niveles de P4 ( $\leq$  1 ng/ml) y el día 9 es administrada la segunda dosis de 100  $\mu$ g

de GnRH con el fin de promover la ovulación (24 a 30 horas siguientes). La inseminación artificial a tiempo fijo se realiza 16 a 24 h después de la segunda aplicación de GnRH (Figura 30)



**Figura 30.** Protocolo de sincronización del celo y ovulación (Ovsynch). La dosis de GnRH al inicio del tratamiento inicia una nueva onda folicular 2 a 3 días posteriores.

El protocolo Ovsynch está recomendado para vacas lecheras, pero no en aquellas que presenten anestro posparto, dado que su fase luteal es más reducida y por ende tendrán menor tasa de concepción. Este también es el protocolo de elección para realizar la IATF en Búfalos.

En cuanto a su uso en novillas, Bó et al. (2007) encontraron diferencias en la tasas de ovulación, mientras un 90% de las vacas en lactancia ovularon tan solo el 54% de la novillas lo hicieron y adicionalmente el 20% de éstas mostraron celo antes de la inyección con PGF 2α, reduciendo dramáticamente la fertilidad a la IATF.

Las respuestas fisiológicas de este comportamiento podrían explicarse teniendo en cuenta las características foliculares diferenciales entre vacas y novillas. Normalmente las novillas tienen una menor duración en las ondas foliculares y un ciclo con tres ondas, mientras las vacas tienen un recambio folicular lento presentando ciclos de dos ondas por tanto, se puede deducir que la lentitud en el recambio de ondas permite un mayor crecimiento del FD en vacas y por ende una mayor respuesta a la GnRH

(ver capítulo I). En la Tabla 6 se muestran los resultados obtenidos tras el uso del protocolo Ovsynch en vacas lecheras.

**Tabla 6.** Tasa de preñez en vacas lecheras sincronizadas con protocolo Ovsynch.

Protocolos	Vacas de razas lecheras	Diámetro CL	Tasa de preñez	Referencias
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	X	-	34.0%	Bó y Cutaia (2008)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	X	21.9 mm	-	Bó et al (2014)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 200Ug GnRH	X	22.4 mm	-	Bó et al (2014)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	X	-	37.9%	Azevedo et al (2014)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	X	-	37.8%	Dirandeh (2014)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	X	-	28%	Gómez (2015)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	x		25.9%	Borchat et al (2018)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	x		22.5	Abdalla et al (2020)
GnRH+ PGF2 $\alpha$ + 100Ug GnRH	x		29.8%	Tippenhauer et al (2021)

Una de las limitaciones que ha tenido el protocolo Ovsynch, es que requiere de un folículo  $\geq 10$  mm de diámetro que ovule tras la primera aplicación de GnRH. Cuando esto no ocurre el celo se presenta de forma dispersa iniciándose antes de la segunda dosis hormonal, del mismo modo se ha reportado fallas en el inicio de la onda folicular y la ovulación de folículos persistentes. Por lo tanto, muchos investigadores han recomendado su inicio entre los días 5 al 12 del ciclo estral (ver ondas foliculares, capítulo 1) hecho que sugiere verificación mediante técnica de palpación y/o ultrasonografía.

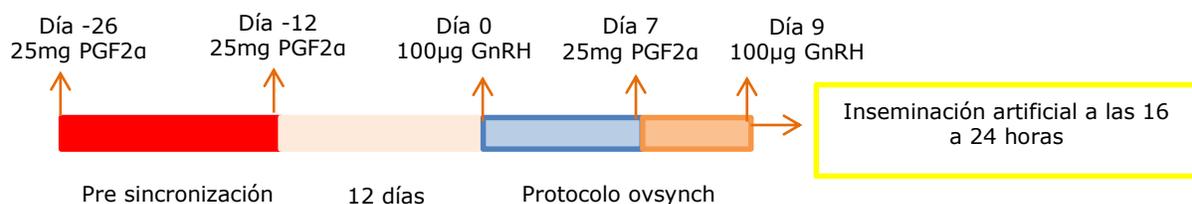
Los animales que inician el Ovsynch entre los días 1 a 4 del ciclo tienen bajo porcentaje de preñez porque durante el metaestro, el folículo dominante es muy pequeño como para responder a la primera inyección de GnRH y luego de 7 días, al momento de inyectar la PGF 2 $\alpha$  ese folículo probablemente se haya atresiado y una nueva onda folicular esté

emergiendo, y para la segunda dosis de GnRH habrá un folículo dominante que no responderá ovulando al tratamiento.

Del mismo modo, al iniciar el Ovsynch el día 13 al 17 del ciclo es muy probable que el folículo de la segunda onda no ovule en respuesta al primer tratamiento con GnRH y ante la ausencia de ovulación, la PGF 2 $\alpha$  endógena podría provocar luteólisis y ovulación temprana del folículo dominante, causando por tanto infertilidad. En aras de disminuir la variabilidad de estos resultados se han creados protocolos que incluyen pre-sincronización, doble Ovsynch y protocolos combinados con dispositivo de liberación de progesterona y uso de estradiolos.

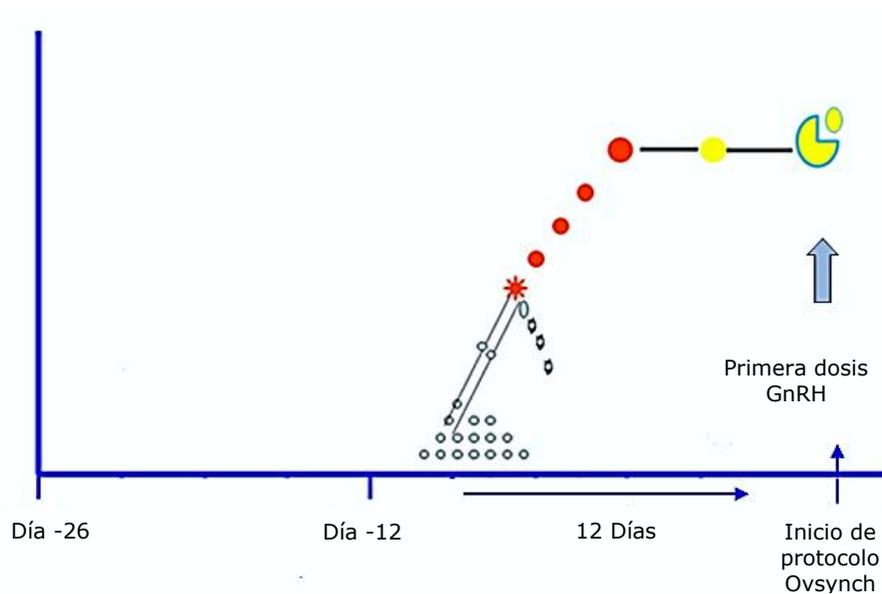
## 2.2 Protocolo Presynch-Ovsynch

El protocolo Presynch-Ovsynch descrito por Moreira et al. (2001) es usado comúnmente en ganado de actitud lechera. Consiste en la aplicación de dos dosis de PGF2 $\alpha$  a intervalos de 14 días seguido del protocolo Ovsynch convencional, 12 días más tarde (Figura 31).



**Figura 31.** Pre-sincronización con prostaglandina y protocolo Ovsynch convencional. La IATF se realiza 16 a 24 horas después de la segunda dosis de GnRH. Imagen creada por los autores.

Fisiológicamente, la pre-sincronización con dos dosis PGF2 $\alpha$  (día -26 y día -12) concentra el celo de las hembras 3 días después de la segunda aplicación. A partir de este momento se inicia la fase folicular con el reclutamiento de los folículos y el posterior crecimiento del FD a razón de 1 ó 1,2 mm por día, con la finalidad que al inicio del protocolo Ovsynch 12 días más tarde, la aplicación de la primera dosis de GnRH encuentre un folículo  $\geq$  a 10 mm que pueda ovular (Figura 32).



**Figura 32.** Dinámica folicular con pre-sincronización con PGF2 $\alpha$ .

Tras el uso de este protocolo se han obtenido tasas de concepción y de preñez satisfactorias especialmente en vacas lecheras, los resultados se detallan en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Tasas de concepción y de preñez en novillas y vacas lecheras al ser sincronizadas con protocolo Presynch –Ovsynch.

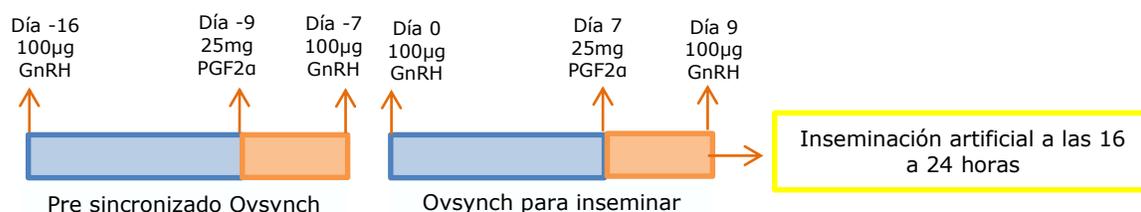
Protocolos	Categoría Animal	Tasa de concepción	Tasa de preñez	Referencias
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	41.7%	Souza <i>et al.</i> (2008)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	38.0%	Small <i>et al.</i> (2010)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	37.0%	Stevenson (2011)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	49.2%	Gumen <i>et al.</i> (2012)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	44.0%	Colazo <i>et al.</i> (2013)

<b>PGF+PRESYN-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	87.8%	-	Asfari <i>et al.</i> (2014)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>			45.1%	Colazo <i>et al.</i> (2017)
<b>PRESYN-OVSYNCH</b>			48.3%	Stangaferro <i>et al.</i> (2018)

Dentro de las ventajas de este sistema, se destaca la presencia de folículos de gran tamaño que permite la concentración de ovulaciones después del tratamiento. Así mismo, se considera que este protocolo puede aumentar el porcentaje de preñez entre 11 y 13 puntos porcentuales.

### 2.3 Protocolo Doble Ovsynch (DOV)

El protocolo de sincronización doble Ovsynch desarrollado por Souza *et al.* (2008), consiste en un "presincronizado Ovsynch" seguido 7 días después por "Ovsynch para inseminar" (Figura 33).



**Figura 33.** Protocolo de sincronización del celo y ovulación doble Ovsynch.

Con este protocolo se espera que entre 40 al 50% de las vacas ovulen a la primera GnRH administrada en el día -16 y una proporción significativamente mayor lo haga el día -7. Esta última aplicación de GnRH permite el inicio de una nueva onda folicular 73 horas pos aplicación. Se debe aclarar que este tipo de protocolos es usado para la sincronización de animales *Bos Taurus* y en éstos se ha reportado un promedio de crecimiento folicular de 1.2 a 1.5 mm/día (ver capítulo I) por lo tanto, el lapso de 7 días para iniciar el "Ovsynch para inseminar", son suficientes

para lograr el tamaño de un folículo que ovule ante la primera dosis de GnRH.

En el trabajo desarrollado por Ayres et al. (2013) más del 80% de las vacas tratadas ovularon a la primera dosis de GnRH (día 0) y aproximadamente un 88% de las mismas tuvieron una concentración de progesterona mayor a 1 ng/ml, eventos que influyen directamente sobre la tasa de preñez. Otros resultados se evidencian en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Porcentaje de preñez en vacas sincronizadas con protocolo Doble Ovsynch.

Protocolos	Categoría Animal	Tasa de preñez	Referencias
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	65.2%	Souza et al. (2008)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	37.5%	Souza et al. (2008)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	44.3%	Aztis y Fargas (2013)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	31.4%	Aztis y Fargas (2013)
<b>DOUBLE-OVSYNCH (200 µg GnRH)</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	56.1%	Giordano et al. (2013)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	49%	Santos et al (2017)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	51%	Stangaferro et al (2018)
<b>DOUBLE-OVSYNCH</b>	Vacas <i>Bos taurus</i>	47.8%	Luchterhand et al (2019)

Luego de varias investigaciones, se concluyó que las vacas primíparas en anestro pos parto responden mejor al protocolo doble Ovsynch obteniendo buenas tasas de preñez, evento que podría estar relacionado con una mayor exposición a la GnRH. Para vacas múltiparas, Giordano et al. (2013) propusieron la administración de 200 µg de GnRH para aumentar las repuestas al protocolo, obteniendo resultados satisfactorios.

Una de las ventajas del DOV es que inicia ciclos más sincrónicos y produce más preñeces que el programa de pre-sincronización estándar a base de prostaglandina, incrementando la eficiencia reproductiva en hatos

lecheros, sin embargo, la duración del protocolo y la gran demanda de mano de obra siguen limitando su uso.

## 2.4 Protocolo P4-synch (CIDR/DIB + GnRH- PGF 2 $\alpha$ - GnRH)

El Protocolo consiste en colocar el dispositivo de P4 más la primera dosis GnRH el día 0, posteriormente el dispositivo es retirado durante el tratamiento con PGF2 $\alpha$  (día 7). La segunda dosis de GnRH es administrada el día 9 y la inseminación artificial a tiempo fijo se realiza 16 a 24 horas pos aplicación, día 10 (Figura 34).



**Figura 34.** Protocolo de sincronización del celo y ovulación (p4-synch). La IATF se realiza a las 16 a 24 horas después de aplicar la segunda GnRH.

La combinación del protocolo Ovsynch con progesterona ha buscado disminuir el periodo de dominancia del folículo, favoreciendo la tasa de gestación hasta en diez puntos porcentuales. Esta modificación surgió como estrategia para la sincronización de novillas de actitud cárnica y lechera.

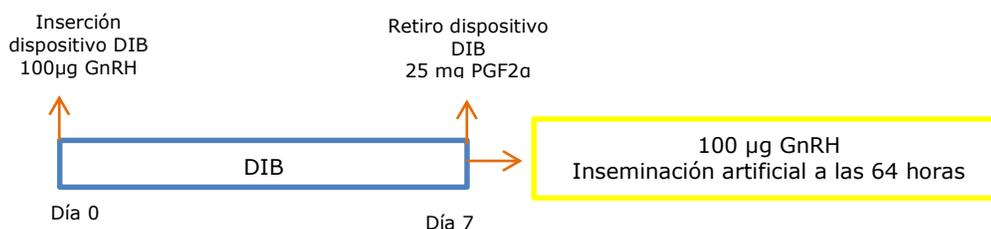
En cuanto a las tasas de preñez obtenidas por este protocolo, se resaltan las investigaciones de Kasimanickam et al. (2010), Vispo et al (2012) Vázquez et al. (2013), y Silva et al (2018). Los reportes se presentan en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Tasa de concepción y preñez en vacas cárnicas y lecheras sincronizadas con protocolo P4-synch.

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de Concepción	Tasa de preñez	Referencias
<b>DIB+synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	41.6%	Menchaca <i>et al.</i> (2006)
<b>CIDR+synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	34.0%	Callejas <i>et al.</i> (2007)
<b>CIDR+synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	54.4%	Kasimanickan (2010)
<b>DIB+synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	29.9%	Souza <i>et al.</i> (2010)
<b>DIB+synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	50.0%	-	Pincinato (2012)
<b>DIB+synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	50.0%	47.8%	Vispo <i>et al.</i> (2012)
<b>DIB+synch</b>	Novillas Cruzadas	-	66.67%	Vásquez y Ordoñez (2013)
<b>DIB+synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	41.3%	Álava (2013)
<b>CIDR+synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	32.0%	Gómez (2015)
<b>DIB+synch</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>	-	33.3%	Riveros <i>et al.</i> (2018)
<b>CIDR+synch</b>	Vacas cruzadas	-	40.1%	Silva <i>et al.</i> (2018)
<b>CIDR+synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	32.8%	Abdalla <i>et al.</i> (2020)

## 2.5 Protocolo P4-Cosynch (GnRH- PGF 2 $\alpha$ - GnRH/IATF)

El protocolo P4-Cosynch consiste en la realización de un P4-synch convencional con la variante que la segunda aplicación de GnRH (desencadenante de la ovulación) es administrada al momento de la IATF (día 9). Este protocolo fue modificado para simplificar el manejo de los animales a tres encierros (Figura 35).



**Figura 35.** Protocolo P4-Cosynch.

Actualmente, el P4-Cosynch se revela como el método de elección en el manejo reproductivo de vacas y novillas de razas lecheras y cárnicas, y aunque se ha empleado un intervalo de 48 horas entre la dosis de PGF y la IATF, actualmente se realiza a 56 ó 72 horas obteniendo buenas tasas de concepción y de preñez (Tabla 10). Este protocolo constituye una alternativa para aquellos productores que no deseen el uso de estradioles en sus sistemas productivos.

**Tabla 10.** Tasas de concepción y preñez usando protocolo Cosynch en combinación con una fuente de progesterona

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de Concepción	Tasa de preñez	Referencias
<b>CIDR-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	52.2%	Kasimanickan (2008)
<b>CIDR-Co-synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	36.6%	-	Chaga <i>et al.</i> (2009)
<b>CIDR 6 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	50.0%	-	De la mata <i>et al.</i> (2012)
<b>CIDR-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	56.0%	-	Thomas <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	59.0%	Colazo <i>et al.</i> (2011)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	58.1%	Whittier <i>et al.</i> (2013)
<b>CIDR 7 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	55.1%	Whittier <i>et al.</i> (2013)
<b>CIDR 5 d + 1 PGF - Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	59.7%	Kasimanickan <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 d + 2 PGF - Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	58.3%	Kasimanickan <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b> <b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>  Vacas <i>Bos indicus</i>		46,3%  35,4%	Gabriel A. Bó1(2022) (Ferraz Jr <i>et al.</i> , 2016)
<b>CIDR 5 días-Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	35.0%	Palomares <i>et al.</i> (2015)
<b>CIDR 4 días-Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	32.0%	Palomares <i>et al.</i> (2015)
<b>DIB 7 d + 2 PGF - Cosynch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		60%	Bilbao <i>et al.</i> (2019)
<b>CIDR 5 días-Cosynch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		37.5%	García & López (2020)
<b>7 &amp; 7 Synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		72%	Andersen <i>et al.</i> , (2020)
<b>Web-Synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		58.7%	De la mata 2012

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de Concepción	Tasa de preñez	Referencias
<b>CIDR-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	52.2%	Kasimanickan (2008)
<b>CIDR-Co-synch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	36.6%	-	Chaga <i>et al.</i> (2009)
<b>CIDR 6 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	50.0%	-	De la mata <i>et al.</i> (2012)

<b>CIDR-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	56.0%	-	Thomas <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	59.0%	Colazo <i>et al.</i> (2011)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	58.1%	Whittier <i>et al.</i> (2013)
<b>CIDR 7 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>	-	55.1%	Whittier <i>et al.</i> (2013)
<b>CIDR 5 d + 1 PGF – Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	59.7%	Kasimanickan <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 d + 2 PGF – Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	58.3%	Kasimanickan <i>et al.</i> (2014)
<b>CIDR 5 días-Co-synch</b> <b>CIDR 5 días-Co-synch</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>  Vacas <i>Bos indicus</i>		46.3%  35,4%	Gabriel A. Bó1(2022)  (Ferraz Jr et al., 2016)
<b>CIDR 5 días-Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	35.0%	Palomares <i>et al.</i> (2015)
<b>CIDR 4 días-Cosynch</b>	Novillas <i>Bos Taurus</i>	-	32.0%	Palomares <i>et al.</i> (2015)
<b>DIB 7 d + 2 PGF - Cosynch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		60%	Bilbao et al.(2019)
<b>CIDR 5 días-Cosynch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		37.5%	García & López (2020)
<b>7 &amp; 7 Synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		72%	Andersen et al.(2020)
<b>Web-Synch</b>	Vacas <i>Bos Taurus</i>		58.7%	De la mata (2012)

Un aspecto interesante de este protocolo fue investigado por Whittier et al. (2013), Kasimanickan et al. (2014) y Palomares et al. (2015), quienes manifestaron que el uso de un dispositivo intravaginal por 5 días mejoró la tasa de preñez en vacas lecheras.

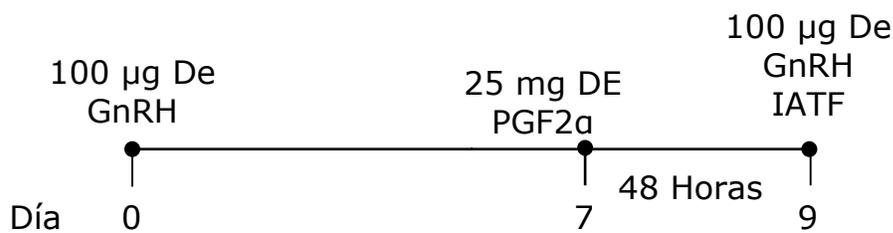
Al respecto (2012) manifiestan que al acortar el tiempo de permanencia del dispositivo con se puede obtener un incremento hasta del 11% en la tasa de preñez en vacas de carne en lactación. Datos concordantes con lo reportado por Bisinotto et al (2010; Fricke et al., 2016 en vacas tipo leche.

Desde el punto de vista fisiológico este hecho podría explicarse considerando que un menor tiempo con el tratamiento de P4 evita la formación de un folículo persistente y permite que el FD de la onda aumente la producción endógena de estradiol y por ende su tamaño, haciéndolo más sensible a la GnRH aplicada al momento de la IATF. Sin embargo, en este tipo de protocolos se recomienda el uso de dos dosis de

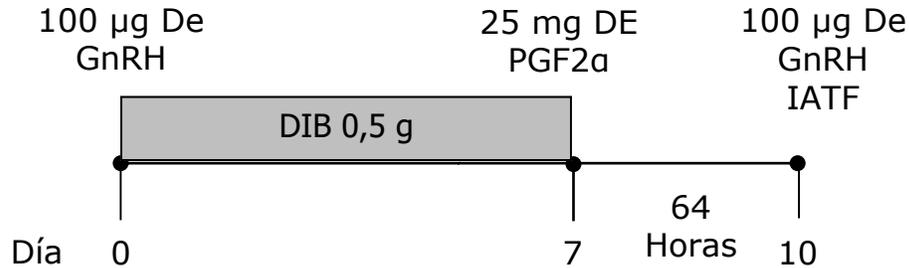
PGF2  $\alpha$  a intervalo de 24 horas con la finalidad de luteinizar por completo al CL formado.

El laboratorio de biotecnología de la reproducción animal tropical (LABRA) 2019, evaluó el uso del protocolo Cosynch y sus modificaciones sobre la fertilidad de novillas *Bos indicus*, obteniendo los siguientes resultados.

1)



2)



3)

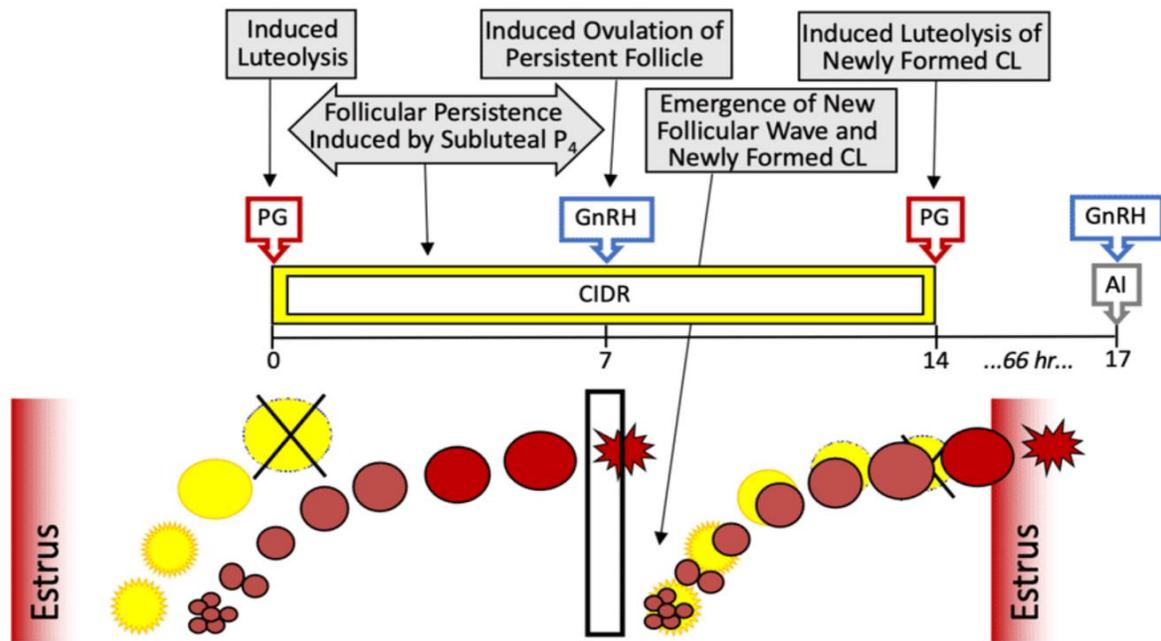


Con los protocolos de sincronización se obtuvo una tasa de preñez total de 12.5% (T1), 39.13% (T2) y 34.78% (T3), existiendo diferencias significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), por su parte, no hubo diferencias ( $P \geq 0.05$ ), en el promedio del tamaño de folículo preovulatorio siendo éstos 10.28, 11.21 y 11.77 mm para las novillas sincronizadas con los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente. Por lo tanto se concluyó que el uso de la hormona GnRH en combinación con progesterona en protocolo Cosynch permite mejorar significativamente las tasas de preñez en novillas *Bos taurus indicus*, convirtiéndose en un tratamiento alternativo cuando se desee omitir el uso de esteres de estradiol.

## **2.6 Protocolo 7 & 7 Synch**

Recientemente, Bonacker et al. (2020) desarrollaron un nuevo protocolo de sincronización denominado 7 & 7 Synch, de 17 días de duración y de 4 manejos, utilizando conocimientos previos generados por Small et al. (2009). Este protocolo, consiste en aplicar PGF2 $\alpha$  y un dispositivo con P4 en el Día -17 como presincronización para desarrollar un folículo persistente; en el Día -10, aplicar GnRH para ovular al folículo persistente presente; en el Día -3, una dosis luteolítica de PGF2 $\alpha$  y retiro del dispositivo y finalmente IATF junto a una dosis de GnRH como inductor de la ovulación en el Día 0 (60 a 66 horas posteriores al retiro del dispositivo).

El protocolo 7 & 7 Synch demostró una mejora no sólo en la madurez folicular, sino en la respuesta ovulatoria a la primera administración de GnRH, debido a la presincronización de PGF2 $\alpha$  y un dispositivo de P4, liberando concentraciones subluteales de P4 durante 7 días, y asegurando una correcta luteolisis posterior al retiro del dispositivo, con alta tasa de celo y alta concentración sérica de estradiol preovulatorio (Bonacker et al., 2020)

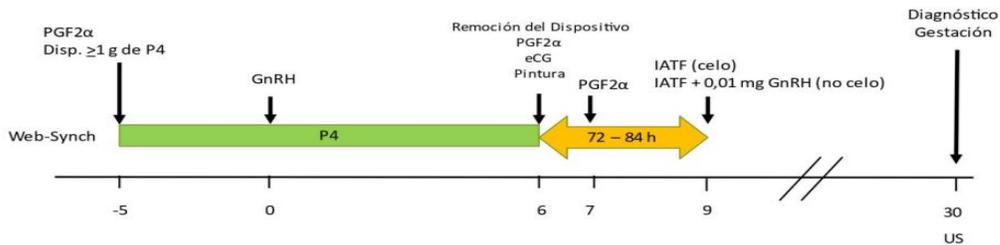


**Figura 36. Protocolo 7 & 7 Synch.** Figura publicada por Bonacker et al., (2020)

## 2.7 Protocolo Web-Synch

Este nuevo tratamiento modificado del 7 & 7 Synch, tiene 14 días de duración y 4 manejos. En el Día -5 se aplica una presincronización de PGF<sub>2α</sub> y un dispositivo con P<sub>4</sub> para generar un folículo persistente, en el Día 0 se inyecta GnRH para inducir la ovulación del folículo persistente y promover la emergencia de una nueva onda folicular (36 horas más tarde). Posteriormente, en el Día 6, se retira el dispositivo junto a una dosis de PGF<sub>2α</sub> y eCG, para inducir el crecimiento folicular y promover un proestro prolongado, al igual que en los tratamientos J-Synch y Co-Synch de 5 días. Por último, la IATF se realiza a las 72 h desde el retiro del dispositivo, con la aplicación de GnRH como inductor de la ovulación en los animales que no están en celo en ese momento y/o la omisión de su

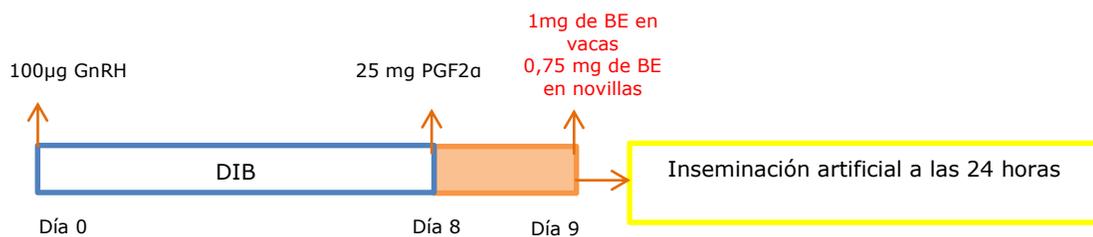
administración en caso de presencia de manifestación de celo (ovulaciones espontáneas). (de la Mata et al., 2022)



**Figura 37.** Protocolo Web-Synch para vacas lecheras en lactancia. Figura publicada por de la Mata (2022)

## 2.8 Protocolo Heat-Synch

El protocolo Heat -Synch desarrollado por Barros et al. (2000) consiste en la realización de un Ovsynch tradicional con la variante que es usado el benzoato de estradiol (BE) como inductor de ovulación (día 9) y la inseminación a término fijo es realizada 24 horas posteriores (Figura 38).



**Figura 38.** Protocolo Heat-Synch.

Con este protocolo Martínez et al. (2015) obtuvieron tasas de preñez de 20,5% en vacas lecheras en lactación. Pero el uso de este sistema está

limitado en aquellos países que prohíben la utilización de esteroides de estradiol en animales de consumo.

## 2.9 Protocolo J-Synch

Este protocolo ha sido desarrollado por De la Mata & Bó (2012), con el objetivo de desarrollar un nuevo tratamiento que use BE y progesterona como sincronizador de una nueva onda folicular pero con un periodo reducido de inserción de dispositivo de seis y la administración de GnRH como inductor de ovulación a las 72 h seguido de la IATF, permitiendo lograr un proestro prolongado (figura 39).



**Figura 39.** Protocolo J. Synch

Con este protocolo los autores de la Mata & Bó (2012) obtuvieron un porcentaje de preñez de 59.7% en novillas *Bos taurus*, mientras que Yáñez et al. (2018) reportaron datos de 61% en vacas lecheras. Siendo un tratamiento alternativo que puede estudiarse en animales *Bos indicus* de nuestro trópico bajo.

Más recientemente estos autores estudiaron las posibilidades de utilizar el protocolo J-Synch en novillas *Bos indicus*, Han sido reportados cuatro trabajos comparando la tasa de preñez del protocolo J-Synch vs. el protocolo convencional, dos en Brasil, uno en Paraguay y uno en Ecuador. Ambos protocolos fueron aplicados siempre con eCG al retirar el dispositivo. Los resultados se muestran en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Resultados de investigaciones al utilizar el protocolo J-Synch en novillas *Bos indicus*.

J-Synch (+eCg)	Convencional(+eCg)	Referencia
<b>53%</b>	54%	Motta et al.,2016
<b>55%<sup>a</sup></b>	46% <sup>b</sup>	Pincinato et al .,2018 \$ 2019 - p=0,01
<b>63%</b>	51%	Frutos et al., 2018
<b>56%<sup>a</sup></b>	44% <sup>b</sup>	Cedeño et al.,2019 & 2022 (p=0.03)
<b>55%<sup>a</sup></b>	49% <sup>b</sup>	Total, p=0.01
Ab porcentajes con distintos superíndices difieren		

### 3. ANÁLOGOS Y PRODUCTOS COMERCIALES DE GnRH

Entre los agonistas disponibles en el mercado están: Gonadorelina (GnRH natural), Buserelina y Lecirelina, los cuales pueden ser usados para la sincronización de celo y/o inductores de ovulación (Tabla 12).

**Tabla 12.** Análogos y productos comerciales de la GnRH.

ANALOGOS	PRODUCTO COMERCIAL	DOSIS	PRESENTACION	INDICACIONES
Buserelina	Conceptal®: 0.0042 mg Gestar®: 0.0042 mg	100 µg 100 µg	Frasco 10 ml Frasco 50 ml	Día 0 y 9: sincronización de celo e inductores de ovulación
Gonadorelina	Fertagyl®: 0.1 mg Cystorelin®: 50 µg Ovalyse®: 0.25 mg	100 µg 100 µg 100 µg	Vial de 5 ml Caja x 20 frascos de 10 ml Frasco x 20 ml	Día 0 y 9: sincronización de celo e inductores de ovulación
Lecirelina	Gonasyn®	100 µg	1 Frasco ampolla con 20 ml	Día 0 y 9: sincronización de celo e inductores de ovulación

#### **4. ROL DE LA PROGESTERONA Y ESTRADIOL (E2) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE ESTRO Y OVULACIÓN**

La combinación de progestágenos y estradiolos fue una idea propuesta por Bó et al. (1995) para la sincronización del celo y la ovulación de hembras de actitud cárnica. El tratamiento consiste en aplicar una dosis de estradiol al día 0 y mantener la fuente de P4 durante 8 a 9 días, posteriormente con el retiro del dispositivo (día 8 ó 9) es administrada la prostaglandina y a las 24 horas siguientes se aplica la segunda dosis de estradiol. La IATF es realizada a las 52-56 horas pos retiro de la P4 exógena.

Haciendo énfasis en el aspecto fisiológico de estos protocolos, podemos decir que la progesterona produce *feed back* negativo sobre la GnRH, evitando el pico preovulatorio de LH, la ovulación y el celo. De igual forma, la P4 impide la secreción de estrógenos endógenos e inhibina, y como consecuencia de ello, aumenta la secreción de FSH que permite el inicio de una nueva onda en presencia o no de un CL funcional.

Por su parte, el uso de estradiol al momento de insertar el dispositivo con P4 actúa directamente sobre el FD de la onda en curso, generando su atresia por inhibición de la secreción endógena de FSH. El BE también suprime la onda folicular e induce el desarrollo de una nueva 3 a 5 días posteriores dependiendo del éster de estradiol administrado (ver capítulo II). Esta onda asegura la presencia de un nuevo folículo y un ovocito viable al momento de retirar el dispositivo.

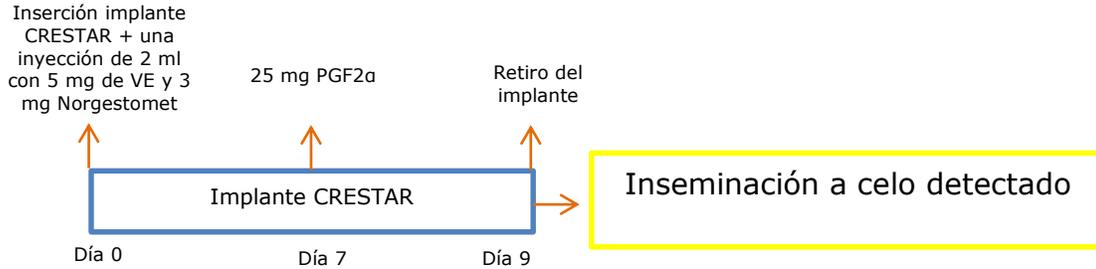
Finalmente, con el retiro de la fuente exógena de progesterona y la aplicación de E2 en ese instante o 24 h después, se genera una retroalimentación positiva sobre la GnRH que incrementa la frecuencia

de los pulsos de LH y con ello la intensidad del pico preovulatorio. Este vínculo de *feed back* positiva entre E2, hipotálamo y LH es esencial en la maduración y ovulación del folículo dominante y promueve la coincidencia entre la expresión del estro y la ovulación.

#### **4.1 Protocolo de Sincronización de Estro con Norgestomet y Valerato de Estradiol (Crestar)**

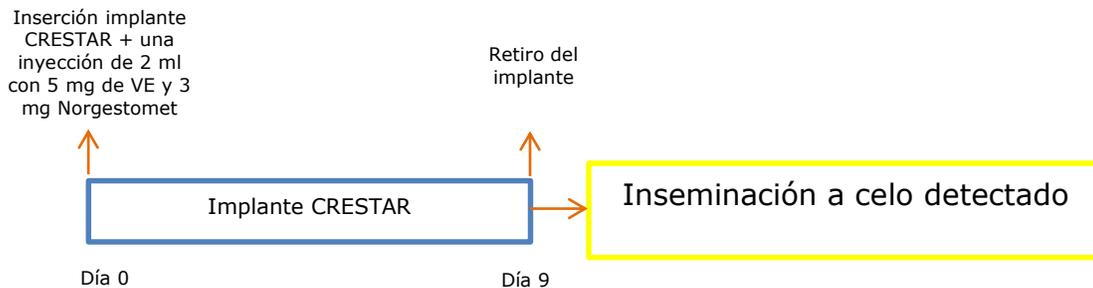
Este protocolo ha sido discontinuado por razones de manejo, sin embargo cuando se utilizó en su momento, consistía de la aplicación de un progestágeno sintético de liberación lenta utilizado en forma de implante auricular subcutáneo, contiene impregnado 3 mg progesterona y es aplicado en tercio medio de la cara externa de la oreja al día 0 del protocolo, con la administración intramuscular de una inyección de 2 ml que contiene 3 mg de Norgestomet y 5 mg valerato de estradiol (VE). El día 7 se aplica una dosis de PGF2 $\alpha$  y al día 9 es retirado el implante. Con este sistema la inseminación se realiza a celo detectado y aquellas hembras que no lo presenten se les realiza IATF a las 48-52 horas.

En protocolos con Norgestomet, también puede usarse el producto comercial syncromate B que a diferencia del Crestar, el implante subcutáneo contiene 6 mg de Norgestomet y está indicado para la sincronización de vacas y novillas de actitud cárnica, lechera y doble propósito que estén en cualquier momento del ciclo estral. En la figura 40 se observa el protocolo Crestar recomendado para la sincronización de vacas.



**Figura 40.** Protocolo Crestar para uso en vacas.

En cuanto a su uso en novillas, está demostrado que la dosis de 5 mg de valerato de estradiol tiene un efecto luteolítico que disminuye los niveles endógenos de progesterona y por tanto no se requiere la aplicación de PGF2 $\alpha$ . El protocolo quedaría del siguiente modo (Figura 41).

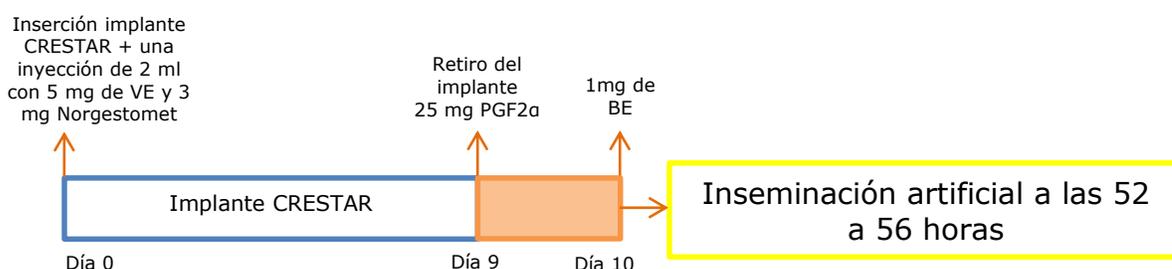


**Figura 41.** Protocolo Crestar para uso en novillas.

Ahora bien, si este protocolo se usa en novillas cíclicas es necesario la aplicación de dos dosis de PGF2 $\alpha$  en los días 0 y 7 del tratamiento para asegurar la luteólisis, evitar un pico de progesterona y la formación de folículos persistentes, en este caso no se recomienda aplicar la dosis completa de VE (5 mg), sino concentraciones de 2 ó 2.5 mg las cuales han dado buenos resultados.

## Variaciones del protocolo Crestar.

Dentro de las modificaciones del protocolo Crestar se resalta el cambio de la inseminación a celo detectado por una IATF. El tratamiento consiste en realizar un protocolo convencional diseñado para vacas, con la variante que el día 10 es administrada una dosis de BE como inductor de ovulación y la IATF se realiza 52 a 56 pos retiro del implante (Figura 42). Este sistema está indicado para la sincronización de vacas secas.

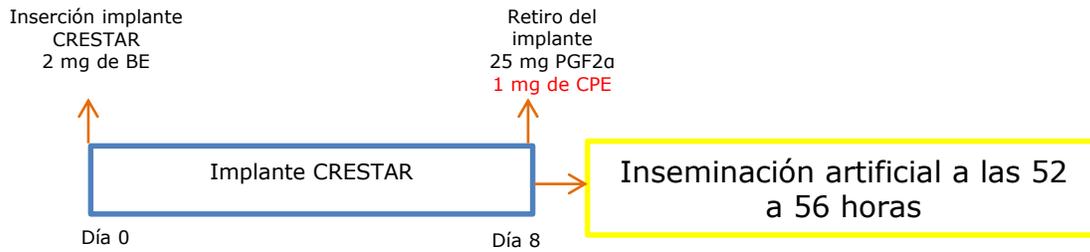


**Figura 42.** Protocolo de sincronización del celo: Crestar +VE. La aplicación de 5mg de benzoato de estradiol al inicio del protocolo permite el inicio de la onda folicular al día 5 y la inseminación a término fijo se realiza 52 a 56 horas pos retiro del implante.

Este protocolo fue evaluado por Salgado et al (2015), en vacas mestizas lactantes entre 60 a 90 días postparto, obteniendo 65.95% de preñez, sin embargo, en este estudio fue incorporado una dosis de 400 UI de la hormona eCG el día del retiro del implante.

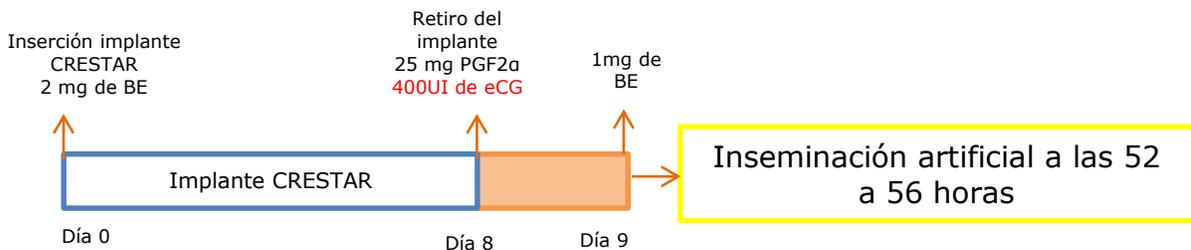
Otra posibilidad realizar una IATF en protocolo Crestar fue estudiada por Colazo et al. (2003), quienes propusieron el uso de Cipionato de estradiol (CPE) como inductor de ovulación, obteniendo buenos porcentajes de gestación en vacas secas de razas cárnicas. Una de las ventajas de este sistema es que disminuye el número de encierros y la mano de obra (Figura 43).





**Figura 45.** Protocolo de sincronización del celo: CRESTAR +BE y CPE. La utilización de CPE simplifica el manejo de los animales al requerir tres encierros, el CPE es usado como inductor de ovulación. La IATF es realizada a las 52 -56 horas pos retiro del implante.

Finalmente, para vacas en lactación (cría al pie) se ha diseñado un protocolo que combina el uso de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) como estimulante del desarrollo folicular. En estos casos está recomendado el uso del protocolo Crestar que combina el uso de BE como inductor de la onda folicular y la ovulación (Figura 46).



**Figura 46.** Protocolo Crestar para vacas lactantes (cría al pie). La IATF es realizada a las 52 -56 horas pos retiro del implante.

La dosis de la eCG puede variar conforme a la condición corporal de los animales de tal modo, que pueden emplearse desde 300 µi hasta 600 µi al momento de retirar el implante auricular.

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos con el protocolo Crestar® y sus modificaciones sobre los niveles de progesterona, intensidad del estro y tasa de preñez en vacas y novillas de razas cárnicas.

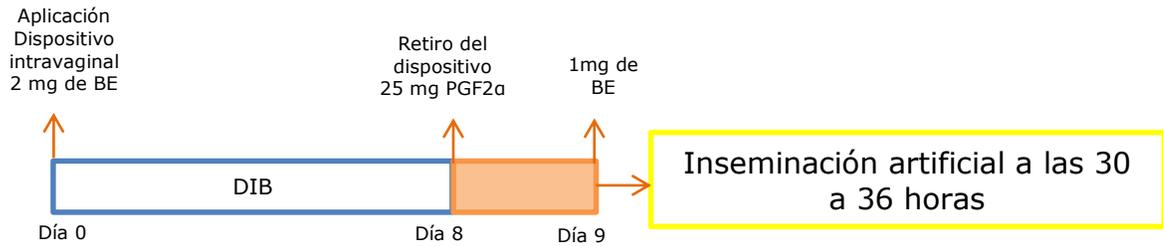
**Tabla 13.** Resultados reproductivos tras el uso de implante Crestar en el protocolo de sincronización en novillas y vacas.

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de Concepción	Tasa de preñez	Referencias
<b>CR+BE+PCF</b>	Novillas	93.3%	-	Cortes (2006)
<b>CR+BE</b>	Novillas	-	-	Pita <i>et al.</i> (2007)
<b>CR+2mg VE</b>	Novillas	-	50.0%	Pita <i>et al.</i> (2007)
<b>CR+5mg VE</b>	Novillas	-	48.0%	Pita <i>et al.</i> (2007)
<b>CR+V+PGF+eCG</b>	Vacas Lactando	-	60.0%	Mendoza <i>et al.</i> (2013)
<b>CR+V+PGF+eCG</b>	Vacas Lactando	-	65.95%	Salgado <i>et al.</i> (2015)

**CR:** Crestar, **BE:** Benzoato estradiol, **VE:** Valerato de estradiol.

#### 4.2 Protocolo PEPE (Progesterona-Estrógeno- Prostaglandina-Estrógeno)

El protocolo PEPE es uno de los más usados en programas de sincronización, inicialmente fue usado por Bó (1995) y Mcmillan *et al.* (1996) y consiste en la inserción de un dispositivo intravaginal con P4 el día 0, más la aplicación de 2 mg de benzoato de estradiol a nivel intramuscular, posteriormente se retira el dispositivo y se aplica prostaglandina el día 8. El día 9 se administra 1 mg de BE como desencadenante de la ovulación y la inseminación artificial es realizada el día 52 a 56 horas pos retiro del dispositivo. Con el protocolo PEPE el pico preovulatorio de LH ocurre aproximadamente a las 22 horas después de aplicar el éster de estradiol y la ovulación se presenta entre las 68 y 72 horas (Figura 47).



**Figura 47.** Protocolo de sincronización PEPE.

En este tipo de sistema, el dispositivo intravaginal (DIB) es la fuente de progesterona más usada comercializándose con una concentración de 1 gr y permite su re-utilización. El protocolo PEPE está indicado para la sincronización del celo y la ovulación en animales de razas cárnicas (novillas cíclicas/ acíclicas y vacas secas/en lactación), éste garantiza la expresión normal del celo y mejora las tasas de preñez. En la Tabla 13 se muestran sus resultados.

**Tabla 14.** Resultados obtenidos tras el uso de protocolo a base de P4+PGF+BE en novillas y vacas de razas cárnicas.

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de preñez	Referencias
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Novillas	29.0%	Menchaca <i>et al.</i> (2007)
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Novillas	25.7%	Figueira <i>et al.</i> (2011)
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Novillas	56.5%	Flores <i>et al.</i> (2013)
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Novillas	40.0%	Salgado et a (2013)
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Novillas	61.5%	Uslengi <i>et al.</i> (2014)
<b>DIB+PGF2+BE</b>	Vacas raza criollo	40%	Pérez <i>et al.</i> (2015)

**DIB:** Dispositivo Intravaginal, **PGF:** Prostaglandina, **BE:** Benzoato de estradiol

Se debe aclarar que la ovulación con este protocolo ocurre en un promedio aproximado de 72 horas y la IATF se realiza a las 54 horas pos del retiro del dispositivo, y el lapso de tiempo restante entre estos dos eventos (18

horas aproximadamente), es usado por los espermatozoides para su capacitación en tracto reproductivo de la hembra.

Un aspecto interesante con el uso de dispositivos intravaginales fue investigado por Cutaia et al. (2001) y Baruselli et al. (2004), quienes reportaron un aumento en la tasa de preñez de novillas de razas cebuinas al ser tratadas con dispositivos reutilizados. En la tabla 14 se muestran más reportes.

**Tabla 15.** Porcentaje de preñez en novillas, vacas secas y paridas al ser sincronizadas con fuente de progesterona de segundo y tercer uso.

Protocolo	Categoría Animal	Tasa de preñez	Referencias
<b>DIB 2do uso + BE</b>	Vacas Secas	25.0%	López (2010)
<b>Implante 2do uso + BE + eCG</b>	Vacas Secas	87.5%	López (2010)
<b>Implante 2do uso + BE</b>	Vacas Secas	34.0%	Maluf <i>et al.</i> (2010)
<b>Implante 2do uso + BE</b>	Vacas Paridas	35.7%	Maluf <i>et al.</i> (2010)
<b>DIB tercer uso</b>	Novillas	52.0%	Santos (2011)
<b>DIB 2do uso + BE</b>	Novillas	60.0%	Romero (2012)
<b>DIB 2do uso + BE + eCG</b>	Vacas Secas	35.6%	Bano y Córdova (2013)
<b>DIB 2do uso + BE + eCG</b>	Novillas	41.0%	Bano y Córdova (2013)
<b>Implante 2do uso + BE + eCG</b>	Novillas	100.0%	Uribe <i>et al.</i> (2013)

Implante Cestar **BE:** Benzoato de estradiol, **VE:** Valerato de estradiol, **eCG:** Gonadotropina corionica equina

De forma general, los protocolos a base de progestágenos y estradioles permiten la obtención de tasas de preñez alrededor de un 50%, los porcentajes inferiores o superiores a estos podrían estar asociados a la población experimental, teniendo más significancia cuando se realiza en lotes más grandes.

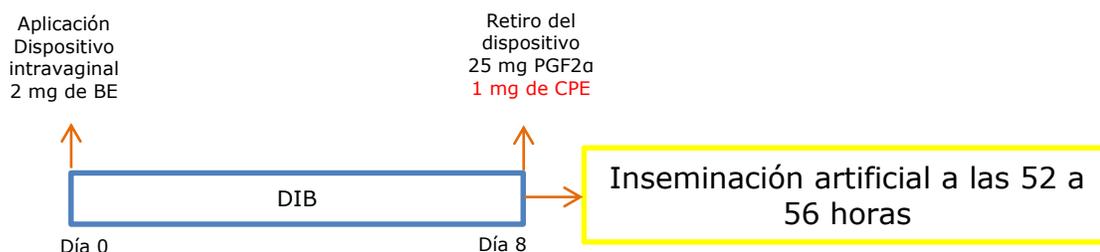
La reutilización de los dispositivos intravaginales está recomendado en novillas o vacas de primer parto, donde el metabolismo de esta hormona es lento y permanece durante más tiempo en circulación. La menor concentración de p4 produce un efecto positivo sobre la producción de

estradiol en el folículo dominante permitiendo su aumento de tamaño y una mejor ovulación.

En el caso de no poder reutilizar el dispositivo y/o implante, está recomendado el uso de fuentes de progesterona monodosis que se comercializa con una concentración de 0,5 mg de P4 o la administración de media dosis de PGF2 $\alpha$  al día 0 del tratamiento con el fin de disminuir el pico de progesterona.

El protocolo PEPE, ha permitido mejorar la fertilidad de los hatos ganaderos, pero en aras de optimizar las respuestas a dicho sistema, se han realizado algunas mejoras y actualmente se sincroniza con el uso de CPE como inductor de ovulación, lo cual ha dado excelentes resultados, ya que simplifica el manejo de los animales a tres encierros y permite unas tasas de preñez y concepción similares a cuando es utilizado el BE 24 horas pos retiro del dispositivo.

Este protocolo inicialmente usado por Colazo et al. (2004) en novillas de carne en Canadá, consiste en insertar el dispositivo intravaginal (DIB 1gr) el día 0 junto con la aplicación de 2 mg de benzoato de estradiol como sincronizador de la nueva onda folicular; el día 8 es retirada la fuente de progesterona y se administra una dosis prostaglandina y 1 mg de CPE como inductor de ovulación. La inseminación artificial se realiza 52 a 56 horas pos retiro del dispositivo. El pico preovulatorio de LH se obtiene a las 44 horas pos aplicación del estradiol y la ovulación ocurre entre las 68 y 72 horas (Figura 48).



**Figura 48.** Protocolo de sincronización de celo y ovulación P4/PGF2α/CPE.

Un aspecto importante de este protocolo fue evaluado por el grupo de investigación de Baruselli (2004), quienes manifestaron que el uso de CPE combinado con dispositivos reutilizados de progesterona inducen la ovulación 6 horas antes del promedio establecido (72 h) por lo tanto, el momento de la IATF puede realizarse a intervalos de 48 a 54 h post retiro del positivo. Los resultados obtenidos con este sistema se detallan en la Tabla 15.

**Tabla 16.** Tasa de preñez en novillas y vacas de actitud carnina/lechera sometidas a protocolos de sincronización con uso de CPE como inductor de ovulación.

Protocolos	Categoría Animal	Tasa de preñez	Referencias
<b>DIB + PGF2 +0,5 mg CPE</b>	vacas cruzadas	53.7%	álava (2013)
<b>DIB + PGF2 +CPE</b>	Novillas <i>Bos taurus</i>	49%	Uslengui et al. (2014)
<b>DIB + PGF2 +CPE</b>	Vacas raza Criollo	33.3%	Pérez et al (2015)
<b>DIB + PGF2 +CPE</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>	50%	Gelvez et al. (2018)
<b>DIB 0.5 + PGF2 +0.5 mg CPE</b>	Novillas <i>Bos taurus</i>	64.7%	Monteserin et al. (2018)
<b>DIB + PGF2 +0.5 mg CPE</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>	56.1%	Cedeño et al. (2021)
<b>DIB + PGF2 +0.5 mg CPE</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>	50%	Alves et al. (2021)
<b>DIB + PGF2 +CPE</b>	Vacas <i>Bos indicus</i>	59.4%	Alves et al. (2021)

Sin embargo, existe una gran controversia cuando el BE es aplicado el día del retiro del dispositivo con progesterona, mientras Venturini et al. (2007) manifestaron que dicha modificación perjudica la tasa de preñez; Peralta et al (2010) y López & Puerto (2015) resaltaron los porcentajes

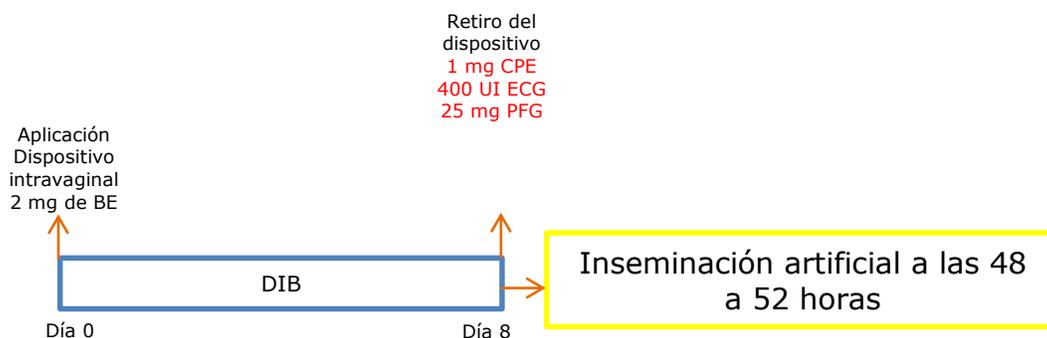
de preñez de 48, y 75%, respectivamente en vacas de razas cárnicas. El protocolo quedaría del siguiente modo (Figura 49).



**Figura 49.** Protocolo PEPE con aplicación de BE al momento del retiro de la fuente de progesterona.

Con este protocolo, Bó y Cutaia (2005) reportaron una alta concentración de estradiol a las 36 horas de aplicado el BE y un pico preovulatorio de LH 18 horas después, pero aseguraron que la ovulación fue muy dispersa. Al respecto, el grupo de investigación de Baruselli (2008) manifestó que el diámetro del folículo ovulatorio originado en este sistema tan solo alcanzó 1.46 cm vs 1.58 cm obtenido con el protocolo convencional.

El laboratorio de biotecnología de la reproducción animal tropical (LABRA) 2019, evaluó el uso del protocolo PEPE y sus modificaciones obteniendo los siguientes resultados:



**Figura 50.** Protocolo PEPE con aplicación de CPE, PGD Y ECG al momento del retiro de la fuente de progesterona.

**TABLA 17.** Tasa de preñez en novillas y vacas sometidas a protocolos de sincronización, laboratorio de Biotecnología de la reproducción animal.

FINCA	CATEGORÍA	N animales	P	% preñez
1	Novillas	33	18	54%
2	Novillas	15	10	66.6%
3	Vaca parida	11	8	72.7%
4	Vaca parida	17	8	47.0%
5	Novillas	100	42	42%
6	Vaca parida	238	139	58.4%
7	Vaca parida	40	20	50%
8	Novillas	83	48	57.8%
9	Novillas	58	30	51.7%
10	Novillas	63	45	71.4%
11	Vaca parida	45	30	66.6%
12	Vaca parida	90	65	72.2%
13	Vaca parida	82	54	65.8%
14	Vaca parida	58	28	48.2%
15	Vaca parida	48	18	37.5%
16	Novillas	68	28	41.1%
17	Vaca parida	33	17	51.5%
18	Novillas	50	31	62%
19	Novillas	42	28	66.6%
20	Vaca parida	71	33	46.4%

**TABLA 18.** Tasa de preñez en novillas y vacas sometidas a protocolos de sincronización con repaso de Toro a 90 días después de la IATF.

FINCA	CATEGORÍA	N animales	P	% preñez
1	Vacas	62	43	69,3%
2	Vacas	55	37	67.2%
3	Vacas	45	32	71.1%
4	Novillas	47	27	57.4%
5	Novillas	52	33	63.4%
6	Vacas	38	22	57.8%

7	Vacas	45	28	62.2%
8	Vacas	57	40	70.1%
9	Novillas	39	18	46.1%
10	Vacas	75	37	49.3%

### 4.3 Análogos y Productos Comerciales Estradiol y Progesterona.

En las Tablas 16 y 17 se presentan productos comerciales de los esteres estradiol y productos comerciales de la progesterona.

**Tabla 19.** Productos comerciales de los esteres estradiol.

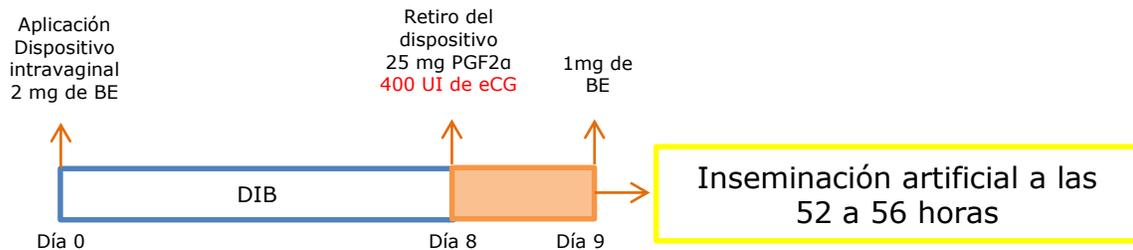
ANALOGOS	PRODUCTOS	PRESENTACION	DOSIS SINCRONIZACIÓN	DOSIS INDUCTOR DE OVULACIÓN
17 Beta-estradiol	Benzoato de estradiol®: 1 mg	Frasco de 50 y 100 ml	2 ml	1 ml
Benzoato de estradiol	Estrdiol multidosisl®: 0.10g	Frasco x100 ml	0.02 ml	0.01 ml
	Estradiol over®: 250 mg	Caja x 12 frascos con 10 ml	0.008 ml	0.004 ml
	Grafoleón®: 5 mg	Frasco x 20 ml	0.4 ml	0.2 ml
	Estrozoo®: 2.5mg	Frasco x 20 ml	0.8 ml	0.4 ml
Valerato de estradiol	Crestar®: Valerato de estradiol 5mg	Frasco x 2 ml	2 ml	-
Cipionato de estradiol	Cipionato de estradiol®: 50mg	Frasco x 100 ml	-	1 ml
	Cipiosyn®: 5º mg	Frasco x 100 ml	-	1 ml

**Tabla 20.** Productos comerciales de la progesterona.

ANALOGOS	PRODUCTO COMERCIAL	PRESENTACION	Dosis Sincronización	INDICACIONES
Implantes Norgestomet	Syncro -Mate B® Crestar® : 3 mg	Caja con 25 implantes	3 mg	Día 0: Feedback negativo a la GnRH
Dispositivos intravaginales P4	PRID®: 1.55 g CIDR®: 1.38 g CIDR-B®:1.9 g DIB®: 1 g DIB®: 0.5 g	Paquete con 10 dispositivos	0.5, 1, 1.38 g	Día 0: Feedback negativo a la GnRH

## 5. ROL DE LA GONADOTROPINA CORIONICA EQUINA (eCG) EN PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO Y OVULACIÓN

El uso de la eCG en veterinaria está ampliamente fundamentado en todas aquellas situaciones donde se requiera la terapia con gonadotrofinas exógenas, particularmente cuando se requiere un efecto FSH, es decir, el estímulo de la foliculogénesis en ovarios con actividad reducida o nula. En este sentido, cuando la eCG se administra en vacas en anestro y con condición corporal comprometida, se ha observado un mayor porcentaje de preñez. En los protocolos que combinan el uso de progesterona y estradiol, la eCG es administrada al momento de retirar el dispositivo (Figura 49).



**Figura 51.** Protocolo PEPE con el uso de eCG.

Con este protocolo se ha logrado en incremento de hasta 25 puntos en los porcentajes de preñez de vacas en lactación. No obstante, se debe dejar claro que cuando no existe un efecto de esta hormona, esto podría ser un indicio de que los animales en estudio no requieren de un estímulo extra para aumentar el tamaño folicular tal como lo explica Baruselli et al. (2004). En la Tabla 18 se muestran los resultados obtenidos con el uso de la eCG en protocolos que utilizan el BE o CPE como inductores de ovulación.

**Tabla 21.** Resultados obtenidos con el uso de eCG en combinación de BE y CPE, en protocolos de sincronización del estro y ovulación.

Protocolos	Categoría Animal	Tamaño folicular	Tasa de ovulación	Tasa de preñez	Referencias
<b>eCG 14 días post IATF</b>	Novillas Bos taurus		-	53.0%	Bó et al (2011)
<b>DIB + PGF2 +eCG+BE</b>	Vacas cruzadas		-	36.4%	Sales et al. (2011)
<b>DIB + PGF2 +eCG+BE</b>	Novillas		-	57.5%	Sales et al (2011)
<b>CIDR + PGF2 +eCG+BE</b>	Vacas	10.01 mm			Gárnica (2012)
<b>DIB + PGF2 +eCG+CPE</b>	Novillas			53.9%	Morales (2013)
<b>DIB + PGF2 +eCG+BE</b>	Novillas	10.20 mm	94%	41.0%	Salgado et al (2013)
<b>eCG 14 días post IATF</b>	Vacas			53.2%	Aguilar et al (2014)
<b>CIDR + PGF2 +eCG+BE</b>	Vacas en anestro	10.7			Barreiros et al (2014)
<b>DIB+ PGF2 +eCG+BE</b>	Vacas			40.0%	Quijano et al (2015)
<b>DIB+ PGF2 +eCG+BE</b>	novillas			36.8%	Edwards et al (2015)
<b>CIDR + PGF2 + 300eCG+CPE</b>	Vacas			44.8%	Pessoa et al (2016)
<b>CIDR + PGF2 +400eCG+BE</b>	Vacas		87.8%	48%	Pessoa et al (2016)
<b>DIB+ PGF2 +eCG+BE</b>	Búfalas			45.2%	Carvalho et al (2017)
<b>DIB+ PGF2 +300eCG+BE</b>	Vacas en anestro			36.18%	Rodrigues et al (2019)
<b>DIB+ PGF2 +eCG+BE</b>	Vacas en anestro			62%	Cedeño et al (2021)

Un aspecto importante de la eCG, fue investigado por el grupo de Bó *et al* (2011) y quienes demostraron que la aplicación de 400 UI de eCG al día 14 pos inseminación aumentó el porcentaje de preñez en 7 puntos porcentuales, pasando de 46 a 53% en novillas Aberdeen Angus, evento que puede ser asociado con el desarrollo de un cuerpo lúteo más competente, lo mismo fue demostrado por Aguilar *et al.* (2014) en vacas lecheras.

En el laboratorio de biotecnología de la reproducción animal tropical (LABRA), evaluó el efecto de la ciclicidad y de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) en programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en ganado *Bos indicus*, donde se encontró que la aplicación de eCG al momento de retirar el dispositivo intravaginal (DIB), aumentó el tamaño del folículo ovulatorio el día de la inseminación; sin embargo,

el estado ovárico y el uso de eCG no afectaron las tasas de ovulación y de preñez en las novillas Salgado et al. (2013).

Además del uso de la eCG para mejorar la fertilidad en vacas en anestro, la implementación de sistemas de amamantamiento restringido y/o destete precoz pueden disminuir el efecto negativo del ternero sobre liberación de GnRH y la secreción de LH. Para dar un claro ejemplo de sus ventajas, en el trabajo realizado en por el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción – LABRA- de la Universidad de Córdoba (2003), la restricción del amamantamiento aumentó la tasa de concepción de vacas doble propósito en 50% un y redujo el periodo de días abiertos en 52 días Salgado et al. (2003). Los detalles se explican el capítulo IV.

## **CONCLUSIONES**

- El uso de prostaglandina permite la sincronización del estro en vacas de actitud lechera. Sin embargo, una sola dosis puede provocar dispersión de celos, por lo tanto es recomendado dos aplicaciones a intervalos de 14 días.
- El protocolo Ovsynch convencional es una opción para sincronizar vacas lecheras, no obstante debe iniciarse sobre los días 5 al 12 del ciclo estral. Las modificaciones con uso de Presynch Ovsynch, doble Ovsynch, y combinaciones con progesterona y estradiol ha dado buenos resultado en novillas de actitud cárnica y lechera.
- Los tratamientos con Norgestomet, DIB, CIDR, Benzoato de Estradiol, Prostaglandina, Cipionato y Gonadotropina Corionica

Equina son una buena opción para sincronizar novillas y vacas de razas cárnicas ya sea secas o en lactación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalla, H.,** Dennis, N., Makau, S., Salem, E. 2020. Treatment of cows that fail to respond to pre-synchronization treatments with a CIDR-Ovsynch regimen improves the overall pregnancy percentage after a double Ovsynch treatment regimen. *Anim Reprod Sci.* 216, 106356.
- Aguilar, A.,** Flores, J. 2014. Parámetros reproductivos en vacas lecheras en anestro tratadas con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a los 14 días pos inseminación artificial. Tesis de grado, carrera de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Honduras.
- Álava, J.** 2013. Evaluación de la hormona coriónica equina para disminuir la muerte embrionaria en vacas; escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí.
- Alves, A.,** Mateus, A., Silva, C., Consentini, E. 2021. Hormonal combinations aiming to improve reproductive outcomes of *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed AI protocols. *Theriogenology.* 169, 89-99.
- Andersen CM,** Bonacker RC, Smith EG, Spinka CM, Poock SE, Thomas JM. 2021. Evaluation of the 7 & 7 Synch and 7-day CO-Synch + CIDR treatment regimens for control of the estrous cycle among beef cows prior to fixed-time artificial insemination with conventional 14 SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL – IRAC 2022 190 or sex-sorted semen. *Anim Reprod Sci* 235: 106892
- Ayres, H.,** Martins, C., Ferreira, R., Mello, J., Dominguez, J., Souza, A. 2008. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone –releasing intravaginal device. *Anim Reprod. Sci;* 109 77-87.
- Ayres, H.,** Ferreira, R., Cunha, A., Araújo, R., Wiltbank, M. 2013. Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology;* 79, 159–164.
- Bartolomé, J.,** Silvestre, F., Kaminura, S., Arteche, A., Melendez, P., Kelbert, D. 2005. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows: I: use of the Ovsynch and Heatsynch protocols after non-pregnancy diagnosis by ultrasonography. *Theriogenology;* 63(6):1617-1627.

- Báez, M.** 2005. Evaluación del protocolo de sincronización de celo presynch-ovsynch para disminuir variabilidad de días en leche a primer servicio en vacas Holstein del establo uaaan. Tesis de grado, Departamento de Producción Animal, Universidad Autónoma Agraria, México.
- Baño, J.,** Córdova, J. 2013. Parámetros reproductivos en vacas y vaquillas cebuinas tratadas con dispositivos intravaginales bovinos DIV-B ® de primer y segundo uso. Tesis de grado, Programa de Ingeniería Agronómica; Zamorano, Honduras.
- Baruselli, P.,** Reis, E., Marques, M., Nascier, L., Bó, G. 2004. The use of hormonal to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*; (82): 479-486.
- Barreiros, T.,** Santos, B., Morotti, E., Andrade, P., Baruselli, P. 2014. Dinámica de crecimiento folicular y concentraciones de progesterona en vacas Nelore lechal cíclicos y en anestro (*Bos indicus*) tratados con progesterona, gonadotropina coriónica equina, o la eliminación de ternera temporal.
- Bilbao, M.,** Zapata, L., Romero, H., Harry, S., Bartolome, J. 2019. Comparison between the 5-day cosynch and 7-day estradiol-based protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in suckled BOS taurus BEEF cows. *Theriogenology*.131, 72-78.
- Bisinotto R.,** Ribeiro E., Martins L., Marsola R., Greco L., Favoreto M., Risco C., Thatcher W. and Santos J. 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *J. Dairy Sci.* 93: 5798- 5808.
- Bó, G.,** Cutaia, L., Tríbulo, R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas em Argentina. Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Argentina.
- Bó, G.,** Colazo, M., Martinez, M., Kastelic, J., Mapletoft, R. 2006. Sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con progestágenos y diferentes esteres de estradiol; Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Argentina.
- Bó G.,** Reano, I., Chesta, P. 2007. Efecto del momento de la aplicación de prostaglandina F2 $\alpha$  y de la dosis de progesterona contenida en un dispositivo intravaginal sobre los porcentajes de preñez en vaquillonas cruza *Bos indicus* inseminadas a tiempo fijo. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 250.
- Bó, G.,** Cutaia, L., Tribulo, R. 2008. Tratamientos hormonales para la inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: Algunas experiencias realizadas en Argentina. *Taurus, Bs. As.* 4(14):10-21 y 4(15):17-32.

- Bó, G.,** Cutaia, L. 2008. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras; Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Córdoba, Argentina
- Bó, G.,** Cutaia, I., Souza, A., Baruselli, P. 2009. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivo con progesterona; Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC).
- Bó, G.,** Peres, L., Cutaia, L., Pincinato, D., Baruselli, P., Mapletoft, R . 2011. Tratamientos para la sincronización de receptoras bovinas para transferencia de embriones a tiempo fijo y mejora de las tasas de preñez. *Reproducción, Fertilidad y Desarrollo* 24, 272-277
- Bó, G .,** 2013 . Sincronización de celos e inseminación artificial. Especialidad en Reproducción, Facultad de ciencias agropecuarias, escuela para graduados, IRAC.
- BÓ, G.,** Tschopp, J., Macagno, A ., Huguenine , H., Vera , ., De la Mata , J., Menchaca , A. 2022. Actualización sobre los protocolos de proestro prolongado con estradiol y gnrh en ganado de carne y leche .
- Bonacker RC,** Stoecklein KS, Locke JWC, Ketchum JN, Knickmeyer ER, Spinka CM, Poock SE, Thomas JM. 2020 . Treatment with prostaglandin F2 $\alpha$  and an intravaginal progesterone insert promotes follicular maturity in advance of gonadotropin-releasing hormone among postpartum beef cows. *Theriogenology*, 157:350-359
- Borchardt, S.,** Schüller, L., Wolf, L., Wesenauer, C., Heuwieser, W. 2018. Comparison of pregnancy outcomes using either an Ovsynch or a Cosynch protocol for the first timed AI with liquid or frozen semen in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 107, 21- 26.
- Bridges G.,** Helser L., Grum D., Mussard M., Gasser C. and Day M. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 $\alpha$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69: 843-851.
- Callejas, S.,** Alvarez, S., Zarzaso, M., Cledou, G. 2007. Uso de un dispositivo intravaginal con progesterona en vacas de cría con servicio natural. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 236.
- Callejas, S.,** González, S., Uslenghi, G., Cabodevila, J . 2010. Efecto de dos dosificaciones de GnRH administradas a la IATF sobre el porcentaje de preñez en vacas tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. 37<sup>o</sup> Congreso AAPA – 2nd Joint Meeting ASAS-AAPA – XXXIX Congreso SOCHIPA.
- Cesaroni, G.,** Butler, H., Durand, M. 2007. Evaluación del uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 242. *Animal*, Córdoba, Argentina; 255.

- Cedeño AV**, Cuervo R, Tríbulo A, Tríbulo R, Andrada S, Mapletoft RJ, Menchaca A, Bó GA. 2021. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. *Theriogenology* 161, 294- 300.
- Colazo, M.**, Martínez, M., Kastelic, J., Mapletoft, R. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, 60: 855-865.
- Colazo, M.**, Kastelic J.P, Whittaker P.R, Gavaga Q.A, Wilde R, Mapletoft R.J. 2004. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Animal Reproduction Sciences*, 81: 25-34.
- Colazo, M.**, Mapletoft, R., Martínez, M., Kastelic, J . 2009 . El uso de tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia Veterinaria*. 9 (1):1-5.
- Colazo, M.**, Ambrose, D. 2011 . Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affect pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. *Theriogenology*. 76:578-588
- Colazo, M.**, 2012. Protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en *Bos taurus*. Livestock research branch, Alberta Agriculture and Rural Development, Canadá.
- Colazo, M.**, Ponce, P., Ambrose, D. 2013. Pregnancy per AI in lactating dairy cows subjected to two different intervals from presynchronization to initiation of Ovsynch protocol. *Journal Dairy Science*. 96:7640-7648.
- Cortés, P.**, 2006. Utilización de protocolos hormonales (CIDR Y CRESTAR) para la sincronización del estro en Ganado Bovino de carne en el municipio de Tuzantla; Universidad Michoacana, México.
- Cutaia, L.**, Ramos, M., Castilla, F., Bó, G. 2007 . Efecto de la administración de eCG y de la aplicación anticipada de PG F en vaquillonas Brangus tratadas con dispositivos intravaginales con P4 sobre los porcentajes de preñez a la IATF. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 258.
- Cutaia, L.**, Ramos, M., Castilla, F., Bó, G . 2007 . Efecto de la utilización de benzoato de estradiol o de GnRH y de la aplicación anticipada de PG F en vaquillonas Brangus tratadas con dispositivos intravaginales con P4 sobre los porcentajes de preñez a la IATF. VII Simposio Internacional de Reproducción.
- Chaga, E.**, Zarate, J., Rosas, J., Alpirez, F., Dominguez, B. 2009. Niveles sericos de progesterona e inseminación artificial a tiempo fijo y a las 12 horas posteriores al estro en vaquillas cruzadas utilizando los protocolos CO-synch-CIDR y Crestar Plus; XXII Reunion científica –tecnológico forestal y agropecuaria, Veracruz.

- De Dominicis, O., Madero, S., Cantalops, F., Callejas, S.** 2007. Efecto de la eCG administrada al final de un tratamiento de sincronización de celos con progesterona sobre el porcentaje de preñez a la IATF en vaquillonas para carne. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 227.
- De la Mata, J., Bó, G.** 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55:17-23.
- Dirandeh, E., Rezaei, A., Colazo, M.** 2015. Double-Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy. *Theriogenology*. 83, 438–443.
- Dirandeh, E.** 2014. Starting Ovsynch protocol on day 6 of first postpartum estrous cycle increased fertility in dairy cows by affecting ovarian response during heat stress. *Animal Reproduction Science*. 149, 135–140.
- Edwards, S., Boe, G., Satake, N., McGowan, M.** 2015. A field investigation of a modified intravaginal progesterone releasing device and oestradiol benzoate based ovulation synchronisation protocol designed for fixed-time artificial insemination of Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*. 160, 105–111.
- Espinosa, M.** 2010. Efecto de diferentes protocolos para IATF sobre las tasas de preñez aplicados en ganado lechero; Instituto de reproducción Animal Córdoba (IRAC).
- Ferraz Jr MVC, Pires AV, Biehl MV, Santos MH, Barroso JPR, Goncalves JRS, Sartori R, Day ML.** 2016. Comparison of two timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nellore cattle. *Theriogenology*, 86:1939-1943.
- Figueira, M., Ereno, R., Satrapa, R., Pinheiro, V., Trinca, L., Barros, C.** 2011. Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nellore heifers. *Theriogenology*. 75, 17-23.
- Flores, A., Enríquez, E., Anchondo, A., Grado, J., Rodríguez, C., Ramírez, J.** 2013. Uso de benzoato de estradiol o GnRH en vaquillas sincronizadas con progesterona y PGF2a: *TECNOCENCIA Chihuahua Vol VII, No, 1*.
- Flores, O., Roque, C., López, R., Benítez, S., Oropera, M., Hernández, J.** 2013. Porcentaje de concepción en vacas lecheras tratadas con progesterona cinco días después de la inseminación. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 4 507-514.
- Flores, S., Muñoz, L., Reyes, O., Aréchiga, C., Mapes, G., Hernández, J.** 2015. Pregnancy in dairy cows with two protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 6(4):393-404.

- Garnica, C.** 2012. Efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG) en la ovulación con protocolos de IATF en vacas Holstein posparto. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Cuenca. Ecuador.
- Gelvez, J.,** Gordillo, J., Aguilar, K., Perales, J. 2018. Evaluación de dos Protocolos de inseminación artificial a término fijo IATF en el Municipio de Tame, Arauca. *Documentos De Trabajo ECAPMA*, (2).
- Giordano, J.,** Wiltbank, M., Fricke, P., Bas, S., Pawlisch, R. 2013. Effect of increasing GnRH and PGF2a dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*. 80, 773–783.
- Gómez, J.** 2015. Utilización de dos protocolos hormonales para la sincronización de la ovulación (ovsynch+cidr vs ovsynch) y su efecto sobre la fertilidad de vacas lecheras Holsteín. Tesis pregrado, división regional de Ciencia Animal, Universidad Autónoma Agraria, Ecuador.
- Kasimanickam, R.,** Hall, J., Currin, J., Whittier, W. 2008. Sire effect on the pregnancy outcome in beef cows synchronized with progesterone based Ovsynch and CO-Synch protocols. *Animal Reproduction Science*. 104: 1–8.
- Kasimanickam, R.,** Firth, P., Schueneman, G., Whitlock, B., Gay, J., Moore, D. 2014. Effect of the first GnRH and two doses of PGF2a in a 5-day progesterone-based CO-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology*. 81, 797–804.
- López, L.** 2010. Reutilización del DIB y del implante en vacas Cebú, sometidas a amamantamiento restringido en los llanos orientales. Tesis de grado, Facultad de ciencias Agropecuarias; Programa de Zootecnia, Universidad de la Salle, Bogotá.
- López, A.,** Puerto, C. 2015. Porcentaje de preñez en vacas sincronizadas con DIB® y la aplicación de benzoato de estradiol o cipionato de estradiol al momento de remover el implante. Tesis de grado, carrera de Ingeniería Agronómica, Escuela Agrícola Panamericana, Honduras.
- Luchterhand, M.,** Gamarra, R., Gennari, S., Carvalho, P., Barletta, A. Souza. Ovulation and fertility response to commercially available GnRH products in lactating cows synchronized with the Double-Ovsynch protocol. *Anim Reprod Scie*. 202; 42-48.
- Maraña, D.,** Bo, G., Cutaia, L., Chesta, P., Balla, E., Pincinato, P. 2006. Implementacion de Programa de Inseminación Artificial en Rodeos de Cría de Argentina. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina.
- Martínez, M.,** Gil, J., Costa, G., Pombo, I., Peñagaricano, J., Lutz, M., Freire, A., Cavestany, D. 2015. Evaluación de dos formulaciones de progesterona en protocolos HeatSynch en vacas Holando lactando en sistemas pastoriles. *Veterinaria (Montevideo)*, 51(200), 3.
- Menchaca, A.,** Guzmán, L. 2007. Tasa de preñez con la administración de GnRH 48 horas luego de un tratamiento con estradiol, progesterona y

eCG en vaquillonas de dos años. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 259.

**Moreira, F.**, Orlandi, C., Risco, C., Mattos, R., Lopes, F., Thatcher, W. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*. 84: 1646- 1659.

**Maluf, D.**, Pires, A., Carvalho, R., Madureira, E., Binelli, M., Goncalves, J. 2010. Avaliacao da reutilizacao de implantes contendo progesteragenos na taxa de prenhez em vacas de corte. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 47 (1):38-46.

**Morales, J.**, Santin, T., Maturana, M., Madureira, E. 2013. Inseminación a tiempo fijo con dispositivos intravaginales de progesterona de un uso en vacas Nelore; *Revista de Sistemas de Producción Agroecológicas* 4:2.

**Motta JCL**, Colli MHA, Penteado L, Bayeux BM, Mingoti RD, Bó GA, Lugo LC, Rezende RG, Baruselli PS. 2016. Pregnancy rate to FTAI in Nelore and crossbreed heifers submitted to JSynch protocol (6 days). *Anim Reprod*, 13:401

**Palomares, R.**, Fishman, H., Jones, A., Ferrer, S., Jenerette, M., Vaughn, A. 2015. Comparison of 4- versus 5-day Co-Synch þ controlled internal drug release (CIDR) þ timed artificial insemination protocols in dairy heifers. *Theriogenology*. 84, 868–874.

**Patterson, D.**, Schafer, D., Busch, D., Leitman, N., Wilson, D., Smith, M. 2000. Review of estrus synchronization systems; University of Missouri, Columbia.

**Pincinato D**, Peres LC, Lorentz L, Santana GS, Machado MK, Borges AJ, Lacerda LS, Bo GA. 2018. Pregnancy rates in Nelore heifers using a shortened estradiol/progesterone-based protocol that provides for a lengthened proestrus (J-Synch). *Proceedings of the 32nd Annual 14 SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL – IRAC 2022* 193 Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Florianópolis, SC, Brazil, August 16th to 18th, 2018. *Anim Reprod* 15, 350 (Abstract).

**Prada, J.**, Castro, J., Ardila, O., Chacón, L. 2013. Evaluación de un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo con variaciones en los días de aplicada la dosis de prostaglandina en novillas Brahman puras y cruzadas. *Revista de ciencia Animal*. 6 161-175.

**Pessoa, G.**, Martini, A., Carloto, G., Rodrigues, M., Claro, I,, Baruselli, P. 2016. Different doses of equine chorionic gonadotropin on ovarian follicular growth and pregnancy rate of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 85, 792–799.

**Pérez, L.**, Artunduaga, J., López, R. 2015. Evaluación de dos protocolos de inseminación artificial a término fijo (IATF) con dos inductores de

ovulación (benzoato de estradiol y cipionato de estradiol) en vacas raza criollo caqueteño en el departamento del Caquetá REDVET. 16 (9): 1-11.

**Pincinato, D.** 2012. Follicular dynamics and fertility in beef suckled cows synchronized with progesterone releasing devices and GnRH. Córdoba, Argentina: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Tesis. 51 pp.

**Pita, F.,** Matute, R., Bó, G. 2007. Tasas de preñez en vaquillas *Bos indicus* tratadas con implantes de Norgestomet y diferentes protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 267.

**Pursley, J.,** Mee, M., Wiltbank, M. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology*. 44, 915–923.

**Pursley, J.,** Kosorok, M., Wiltbank, M. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *Journal Dairy Science*. 80:301.

**Quintero, E.,** Grajales, J. 2013. Tasa de concepción en vacas en lactancia tratadas con dispositivos intravaginales con diferentes concentraciones de progesterona; Universidad Tecnológica OTEIMA ISBN 978-9962-9002-5-2.

**Riveros, D.,** Marin, L., Parra, J., Peña, M., Chacón, L., Góngora O, A. 2018. Comparación de dos protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas Brahman. *Revista MVZ Córdoba*, 23(S), 7025-7034.

**Rowson, L.,** Tervit, R., Brand, A. 1972. The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. *J Reprod. Fertil*; 29:145-148

**Sá Filho, M.,** Torres, J., Penteadoc, L., Gimenesa, L., Ferreira, R., Ayresa, H., Castro, L., Sales, J., Baruselli, P. 2010. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*. 118 : 182–187.

**Sá Filho, O.,** Dias, C., Lamb, G., Vasconcelos, J. 2010. progesterone – based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows; *Animal Reproduction Science*. 119-9-16.

**Sales, J.,** Neves, K., Souza, A., Crepaldi, G., Sala, R., Fosado, M. 2011. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. *Theriogenology*. 76, 427–435.

**Sales, J.,** Carvalho, J., Crepaldi, G., Cipriano, R., Jacomini, J., Maio, J. 2012. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 78, 510–516.

**Salgado R,** Alvarez J, Bertel M, González M, Maza L, Torregrosa L. (2003). Efecto de la época del parto y del sistema de amamantamiento

sobre la eficiencia reproductiva de vacas del sistema doble propósito. Revista MVZ; 8 (2): 323-328.

**Salgado, R.,** Maza, L., Vergara, O. 2013. Effect of cyclicity and Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) in *Bos indicus* cattle. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 26:9-14

**Small JA,** Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 2009. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. Theriogenology, 71:698-706.

**Souza, A.,** Ayres, H., Ferreira, R., Wiltbank, M. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. Theriogenology. 70:208-215.

**Souza, A.,** Viechnieski, S., Lima, F., Silva, F., Araujo, R. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed -AI protocol on reproductive responses in dairy cows. Theriogenology. 72, 10-21.

**Souza, A.,** Viechnieski, S., Lima, F., Silva, F., Araújo, R., Bó, G., Wiltbank, M., Baruselli, P. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. Theriogenology. 72:10-21.

**Stangaferro, M.,** Wijma, R., Masello, R., Giordano, J. 2018. Reproductive performance and herd exit dynamics of lactating dairy cows managed for first service with the Presynch-Ovsynch or Double-Ovsynch protocol and different duration of the voluntary waiting period. J. Dairy Sci. 101(2):1673-1686.

**Thomas, J.,** Lock, S., Poock, S., Ellersieck, M., Smith, M., Patterson, D. 2014. Delayed insemination of non-estrous cows improves pregnancy rates when using sex-sorted semen in timed artificial insemination of suckled beef cows. Journal of Animal Science. 92:1747-1752.

**Torquati, S.,** Cabodevila, J., Callejas, S. 2011. Efecto de la administración de dos sales de estradiol al retirar un dispositivo intravaginal con progesterona sobre el porcentaje de preñez a la IATF en vacas con cria; Sitio argentino de Produccion Animal

**Uslenghi, G.,** Gonzalez, S., Cabodevila, J., Callejas, S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. Animal Reproduction Science. 145 1-7.

**Vásquez, D.,** Ordoñez, O. 2013. Inducción del celo y porcentaje de preñez en vacas lecheras sincronizadas con implantes intravaginales DIV-B y diferentes tiempos de aplicación de la PGF2a; escuela Agrícola Panamericana, Honduras.

**Venturini, M.,** Cledou, G., Callejas, S. 2007. Uso del benzoato de estradiol al momento de retirar un dispositivo intravaginal con

progesterona o 24 horas después en vacas y vaquillonas para cría. VII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina; 224.

**Vispo, P.**, Prieto, P., Calatroni, G., Stahringer, R. 2010. Efecto de la vía de administración de un análogo de GnRH como inductor de la ovulación en protocolos de sincronización de celo para IATF en vacas para carne; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

**Whittier, W.**, Currin, J., Schramm, H., Holland, S., Kasimanickam, R. 2013. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch þ CIDR or 7-day CO-Synch þ CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology*. 80, 963–969.

**Wiltbank, J.**, Kasson, C. 1968. Synchronization of cattle with an oral progestational agent of an estrogen. *Animal Science*. 27:113.

# CAPITULO IV



## TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y FACTORES QUE INFLUYEN EN LOS RESULTADOS

## **INTRODUCCIÓN**

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) es una herramienta que ha permitido mejorar la eficiencia reproductiva de hatos ganaderos dedicados a la producción de carne y/o leche a nivel mundial. Dentro de sus ventajas se reconoce la mejor utilidad del macho, progreso genético del hato, la disminución de enfermedades venéreas y mejoramiento de los parámetros reproductivos.

El mejoramiento de los parámetros reproductivos también se relaciona con factores ambientales (estrés calórico), de manejo (personal), nutrición y niveles de producción de los animales en estudio. Dentro de estos parámetros, la disminución en el intervalo entre partos (IEP) es uno de los indicadores más relevantes de la eficiencia reproductiva, de tal modo que un IEP de 365 días garantiza el destete un ternero/vaca/ año y el nacimiento de 5 a 7 crías durante toda la vida reproductiva del animal.

En el siguiente capítulo se hará una explicación concienzuda de la técnica de inseminación artificial y los factores que influyen en sus resultados.

### **OBJETIVOS**

Identificar la técnica de inseminación artificial y los factores relacionados al personal, al animal y al ambiente que inciden sobre los resultados.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Conocer los aspectos relacionados con la técnica de inseminación artificial

- Conocer de forma detallada la relación entre los factores asociados a la IATF y los resultados de la biotécnica
- Establecer estrategias para mitigar el impacto de los factores asociados a la inseminación artificial

## **1. TRABAJO PREVIO A LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y LA OVULACIÓN.**

Antes de ejecutar un programa de sincronización se debe realizar un chequeo reproductivo el día que nosotros consideramos como -30 del protocolo. En esta primera visita se evalúa mediante palpación rectal y/o ultrasonografía las estructuras ováricas presentes en los animales del estudio y con base a ello se instaura un tratamiento de soporte basado en la suplementación con minerales y vitaminas que permitan mejorar la actividad ovárica.

Para el tratamiento son incluidas aquellas hembras diagnosticadas como útero con tono (UTC) o próxima a ovular, ovarios estáticos (VOE) y/o que presenten folículos. Debemos resaltar, que en nuestro trabajo las hembras con CL no son tenidas en cuenta, dado que no necesitan de dicha suplementación. No obstante, en la experiencia de otros investigadores, el tratamiento es realizado a todo el lote independiente de los resultados del chequeo reproductivo. Gonzales et al. (2017) Por lo tanto, este es un aspecto queda a consideración del profesional de campo. En la Tabla se detalla el tratamiento.

**Tabla 22.** Tratamiento previo a la sincronización del celo y la ovulación de la hembra bovina

Días del Protocolo	Nombre del producto	Dosis	Presentación comercial
<b>Día -30 (Chequeo reproductivo)</b>	Antihelmíntico Modificador orgánico Vitamina A y E	- 5 a 7 ml/ animal /IM 4 a 6 ml / animal /IM	A consideración del MV o MVZ Enterogan (FCo x 250 y 500 ml) Soladec A (Fco x 50, 250 y 500 ml)
<b>Día -18</b>	Antihelmíntico Suplemento mineral	- 5 ml/animal /IM	A consideración del MV o MVZ Calfosvit (Fco x 50, 250 y 500 ml)
<b>Día -17</b>	Suplemento mineral	5 ml/animal /IM	Calfosvit (Fco x 50, 250 y 500 ml)
<b>Día -16</b>	Suplemento mineral	5 ml/animal /IM	Calfosvit (Fco x 50, 250 y 500 ml)

El día 0 se inician los protocolos de sincronización previamente descritos en aquellas hembras que respondieron al tratamiento de soporte, las que no lo hicieron se deben descartar del tratamiento hormonal.

## 2. TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (IA)

Una vez efectuado el protocolo de sincronización, la responsabilidad recae en realizar una excelente técnica de IA, por lo cual se hace una descripción de los pasos y los materiales necesarios.

### 2.1 Materiales necesitados para la IA

- Termo con nitrógeno líquido
- Termo descongelador
- Pinza para pajuelas
- Papel absorbente
- Corta pajilla
- Funda sanitarias
- Camisa sanitarias

- Pistola para IA
- Microscopio
- Termómetro
- Guantes de palpación
- Material seminal

## **2.2 Manejo del material seminal y armado de la pistola de IA**

- Inicialmente se toma la pajilla del termo de nitrógeno líquido, teniendo la precaución de no levantar la canastilla más allá del aro del termo y con ello evitar daños seminales en las pajillas que no van a ser usadas.
- Con respecto a la pajilla que se va a tener en cuenta para el proceso, ésta debe ser remitida al termo descongelador en el menor tiempo posible ( $\leq 3$  s).
- El termo descongelador, debe tener una temperatura fija de 37°C y la descongelación se efectúa durante 45 s. una vez transcurrido este tiempo, la pajilla debe ser retirada con la ayuda de la pinza para pajuelas y se seca con papel absorbente hasta que el agua sea removida por completo.
- Una vez secada la pajilla, se homogeniza mediante fricción manual durante 5 s y se corta el extremo sellado al vacío.
- Efectuado este paso, la pajilla queda lista para ser insertada a la pistola de inseminación teniendo en cuenta que el lado de la

abertura quede hacia delante, posterior a ello se toma una muestra del material seminal para realizarle su respectiva evaluación.

- Para la evaluación de la motilidad masal (MM) se depositan 8  $\mu$ l de semen sobre una lámina portaobjeto atemperada a 37°C y se observa en el microscopio óptico en objetivo de 10x y para la motilidad individual rápida progresiva (MIRP) es necesario depositar la cantidad de semen antes referida sobre una lámina portaobjeto y con la ayuda de un cubre-objeto se observa en el objetivo de 40x
- Finalmente y con base a los resultados obtenidos en calidad espermática se determina si el material seminal es apto o no para su transferencia. En el caso de ser viable, se termina de armar la pistola de IA con la fijación de la funda y camisa sanitaria, quedando lista para realizar la inseminación.

### **3. TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

La inseminación artificial debe realizarse de manera secuencial siguiendo los pasos descritos a continuación

- 1er paso: Evacuación de heces y lavado de la zona perianal y vulvar. Para retirar las heces es necesario introducir la mano enguantada y lubricada sobre el recto del animal y mediante movimientos rítmicos se extrae la materia fecal. En cuanto al lavado, éste debe realizarse con agua yodada, con tal precaución de no contaminar el área de la vulva con el material previamente extraído.

- 2do paso: Deslizar suavemente la pistola de inseminación en ángulo de 45°, previo a la extensión de los pliegues vulvares.
- 3er paso: Deslizar la pistola de inseminación por los anillos cervicales. En este paso, se debe romper la camisa sanitaria una vez pasa la pistola pase por el primer anillo del cérvix
- 4to paso: Deposición del material seminal. Por experiencia, aconsejamos que el semen se deposite en la bifurcación de los cuernos uterinos, pero también ha sido reportado en cuerpo del útero y/o el cuerno ipsilateral, el ovario con CL

#### **4. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

##### **4.1 Ventajas de la Inseminación Artificial**

- Mejor aprovechamiento del macho
- Se reduce el porcentaje de celos no detectados
- Permite un progreso genético más rápido
- Disminución del intervalo entre partos
- Evita la transmisión de enfermedades venéreas.
- Previene la consanguinidad

##### **4.2 Desventajas de la Inseminación Artificial**

- Existen muchos factores que influyen en los resultados, como la categoría y raza animal, el ambiente y el personal de campo.
- Requerimiento de mano de obra e instalaciones
- Se requiere personal cualificado

## **5. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LOS RESULTADOS A LA IA o IATF**

### **5.1 Factores Inherentes al Personal**

En muchas de las explotaciones ganaderas, la mano de obra tiene un rol fundamental. El personal encargado del manejo de los animales debe garantizar el bienestar de los mismos de tal forma, que cuando se conduzcan a los corrales se deben evitar los golpes, los gritos y cualquier otra situación que genere estrés.

Con relación al efecto del inseminador vs la tasa de preñez a la IATF, se ha encontrado que existe una asociación directa en la que influye la forma de sacar las pajillas del nitrógeno líquido, el tiempo (minutos) de armar la pistola de inseminación y la habilidad de quien está inseminando. Para dar un ejemplo se trae a consideración el estudio realizado por Rodríguez et al (1995), que al evaluar la habilidad entre inseminadores encontraron diferencias hasta de 54 puntos porcentuales en la tasa de preñez de vacas mestizas y otros autores evidenciaron que entre más tarda el inseminador en tener listo el material para inseminación menor era la viabilidad del semen y la tasa de preñez.

Con respecto a los resultados a la IA, un factor que determina la eficacia de esta técnica es la detección de celo. Recordemos que las mejores horas para vigilar el comportamiento sexual de los animales es en la mañana, al mediodía y al anochecer con una observación mínima de 30 minutos.

Afortunadamente hoy en día se cuenta con herramientas que además de facilitar la detección del estro hacen más eficiente los resultados a la IA, se destaca el uso de pintura en la región de la cola y la evaluación de la actividad de monta con ayuda de un podómetro monitoreado por programa de computación.

## **5.2 Factores Inherentes al Ambiente**

El medioambiente como elemento cambiante ejerce influencias positivas y negativas sobre los organismos. Los factores negativos pueden afectar seriamente los porcentajes de preñez en las fincas; dentro de éstos, la relación entre temperatura/humedad (ITH) han sido los más estudiados.

El índice de ITH es una fórmula que asocia los grados de temperatura con los porcentajes de humedad del ambiente y se calcula mediante la multiplicación de la constante 0,72 por el resultado de la suma de la temperatura seca y temperatura húmeda, más el valor de 40,6 (ver formula; Autor, año)

$$\mathbf{ITH: 0.72 (temperatura\ seca + temperatura\ humedad)+40.6}$$

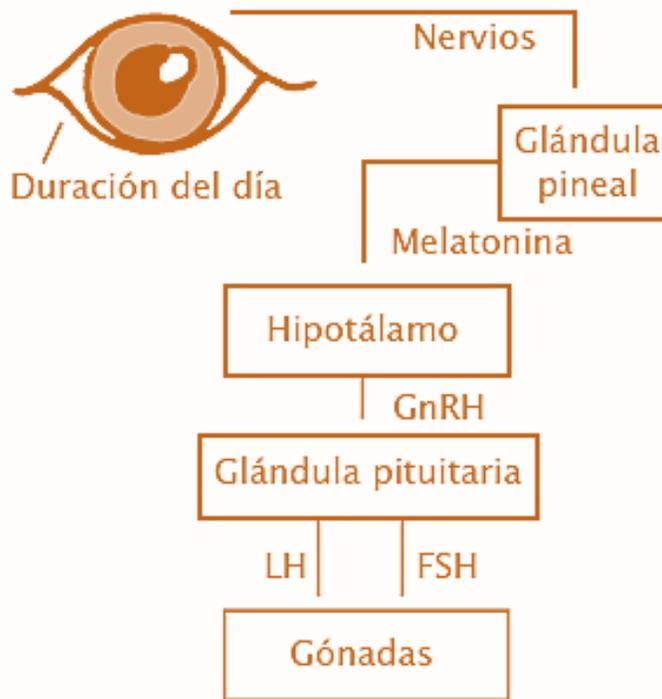
Los resultados de esta fórmula se han correlacionado con los porcentajes de fertilidad en vacas, y según Rivera et al (2001) la relación ha sido inversa, es decir entre mayores son los valores de ITH, menores son las tasas de fertilidad, lo que ha originado la estacionalidad reproductiva.

Ahora bien, debemos destacar que existen razas bovinas que se adaptan a condiciones ambientales adversas, de tal modo resaltamos la rusticidad de los animales *Bos indicus* (razas cebuinas) y *Bos taurus indicus* (razas

criollas), los cuales han demostrado eficiencia reproductiva en el trópico bajo.

En cuanto a la influencia del ambiente en el periodo posparto, las investigaciones de Aban et al (2008) demostraron que la época de nacimiento de las crías no tuvo efecto significativo sobre la tasa de gestación de vacas *Bos taurus*, *Bos indicus* y F1 (Pardo suizo x Cebú).

Evaluando esta misma variable el LABRA realizó una investigación 2002, donde comparó la tasa de gestación pos parto de vacas Cebú y mestizas, cuya época de parto fue en temporada seca y temporada de lluvias. En los resultados se hallaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en tasa de gestación con valores de 92.85 y 57.14%, respectivamente. Concluyendo que en el trópico bajo los días largos de la época seca podrían originar una menor secreción de melatonina pineal (fotoperiodo) hecho que estimula la actividad ovulatoria (Salgado et al., 2002), tal como lo muestra la Figura 50.



**Figura 53.** Influencia de la glándula sobre la reproducción. Figura publicada por Intervet (2007): Compendium de Reproducción Animal.

Ahora bien, estos resultados no pueden estudiarse como un hecho aislado, ya que en sistemas productivos tradicionales, el nacimiento de las crías en épocas secas y la no suplementación, son factores que favorecen la incidencia de periodos de anestro prolongado, aspecto que debe tenerse en cuenta.

### **5.2.1 Sanidad.**

Se ha estimado que entre un 40 y 50% de las fallas en la eficiencia reproductiva en los hatos ganaderos, corresponde a la proliferación de enfermedades venéreas que no logran ser detectadas a tiempo, entre ellas, se destacan:

- **Campylobacteriosis:** Enfermedad genital de transmisión venérea producida por la bacteria *Campylobacter fetus* subsp *venerealis* que causa abortos esporádicos en el primer tercio de la gestación a las hembras que la padecen. La enfermedad se caracteriza por generar metritis mucopurulenta subaguda, repetición de celos y prolongar el intervalo entre partos.
  
- **Tricomoniiasis:** enfermedad de transmisión venérea producida por el protozoo *Trichomonas foetus*. En la hembra el protozoo invade el epitelio de la vagina, en el macho se aloja en las criptas peneanas y en el animal gestante el parasito produce inflamación severa de los placentomas ocasionando la muerte fetal antes del séptimo mes de la gestación.
  
- **Brucelosis:** Enfermedad infecto-contagiosa producida por la bacteria *Brucella abortus* que afecta los testículos y las células del corion en la hembra gestante trayendo como consecuencia una respuesta inflamatoria que obstruye la circulación fetal. El aborto se produce durante el último tercio de la gestación.
  
- **Leptospirosis:** Enfermedad infecciosa y zoonótica causada por bacterias tipo espiroquetas que invaden muchos órganos incluyendo el hígado, pulmones, riñones y la placenta. En el caso de la placenta la proliferación bacteriana se agudiza durante la mitad de la gestación y es la principal causa de abortos. En bovinos se han relacionado a la *Leptospira hardjo* y *L. pomona* como los principales agentes de infección.
  
- **Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR):** es una infección viral producida por el herpesvirus bovino tipo HVB-1 que afecta el sistema respiratorio, las conjuntivas y los órganos genitales. Con

respecto a esta última manifestación, se han reportado casos de vulvovaginitis pustular infecciosa (VPI) en las hembras y balanopostitis infecciosa (BPI) en el macho. Ambas presentaciones conllevan a la infertilidad de forma transitoria.

- **Diarrea viral bovina (BVD):** Enfermedad infectocontagiosa causada por un pestivirus DVB tipo 1 o DVB tipo 2, cuyas lesiones se hacen evidentes en el tracto respiratorio y digestivo. Con esta enfermedad los problemas reproductivos aparecen como consecuencia de las lesiones principales y generalmente se producen abortos a partir del cuarto mes de gestación.

De las enfermedades que afectan la fertilidad en bovinos tienen especial atención en el departamento de Córdoba la IBR, leptospirosis y diarrea viral bovina cuya frecuencia de presentación fue del 74, 46 y 26%, respectivamente, según la investigación realizada por Betancourt et al (2008), pero es importante resaltar que actualmente existen vacunas que buscan prevenir y/o disminuir la incidencia de estas enfermedades.

### **5.3 Factores Inherentes al Animal**

#### **5.3.1 Raza.**

El aporte genético juega un papel fundamental sobre las respuestas a la IATF, se ha demostrado por ejemplo que los animales cruzados (filial 1) presentan mayores tasas de fertilidad cuando se les compara con animales de razas puras, efecto atribuido a un mayor vigor híbrido. En la investigación de Aban et al (2008), el cruce *Bos taurus* x *Bos indicus* lograron tasa de gestación de 58%, mientras a las razas puras se les reportó valores 42 y 35%, respectivamente.

Es necesario resaltar que la expresión genética en las razas puras o cruces entre ellas depende entre otras cosas de los factores ambientales y nutricionales de tal modo que no puede estudiarse de manera aislada. Teniendo en cuenta esto, el LABRA realizó un trabajo 2002 donde comparó la tasa de gestación en vacas cebuinas Brahman y vacas F1 (Cebú x Holstein) sin hallar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las razas 78.57 y 71.42%, respectivamente, con lo que se demuestra que no solo basta con la inclusión genes en los hatos ganaderos, sino que se debe garantizar la expresión de ellos (Salgado et al., 2002).

En cuanto a la influencia de la raza en la respuesta de tratamientos hormonales en vacas pos parto, se ha considerado que las vacas *B. indicus* son más sensibles a los efectos del amamantamiento en comparación con vacas *B. taurus*, lo cual las hace vulnerables al reinicio de la actividad reproductiva. Este evento se debe en gran parte a su conducta maternal y a un instinto de protección marcado hacia sus crías tal como lo asegura Perea et al (2009), quienes reportaron una mayor respuesta de sincronización vacas en con genes Europeos obteniendo una preñez del 43,7 vs 39% conseguido por vacas cebuinas.

### **5.3.2 Categoría animal.**

La categoría animal hace referencia al estado reproductivo en que se encuentren los animales de tal modo que se le denomina novilla de vientre a la hembra que aún no ha tenido su primer parto, vaca horra a aquella que ha parido, pero no tiene cría la pie y vaca parida a la hembra que se encuentra amamantando.

Con base en esto, el LABRA en 2008 realizó una investigación donde evaluó la tasa de preñez entre novillas de vientre (NV) y vacas con cría al

pie (VP), obteniendo diferencia significativa entre las categorías evaluadas, de tal modo que un 38,10% de las novillas se preñaron y solo el 26% de las vacas paridas lo hicieron. Recientemente, se hizo la comparación entre vacas horras (VH) y NS, estando los resultados a favor de las VH con una tasa de preñez 60 vs 30% obtenido para NS (Salgado et al., 2008).

Estos resultados podrían explicarse teniendo en cuenta las necesidades fisiológicas de cada categoría animal, por ejemplo las NS son animales que aún no han completado su crecimiento y por tanto los aportes nutricionales de la dieta se deben usar tanto para desarrollo corporal como para sus funciones reproductivas, en cuanto a la VP, su nivel de producción y mantenimiento de la cría dificulta el reinicio de la actividad ovárica y de allí las bajas respuestas a los programas de sincronización, finalmente se obtuvo mayores valores en vaca horra dado que en esta categoría los animales maximizan el uso de los nutrientes.

### **5.3.3 Condición corporal.**

El balance nutricional (energía, proteína, vitaminas, minerales y agua) de todas las especies debe ser adecuado y éste se mide a través de la condición corporal (CC). La CC es básicamente una medida para estimar la cantidad de tejido graso subcutáneo en ciertos puntos anatómicos, o el grado de pérdida de masa muscular en el caso de vacas flacas con muy poca grasa. En la escala desarrollada por Lowman (1976), la CC 1 corresponde a un animal emaciado; CC 2, delgado; CC 3, promedio; CC 4, grasoso; y CC 5, obeso.

Desde el punto de vista fisiológico, la baja condición corporal provoca un balance energético negativo que trae como consecuencia un aumento en

la producción de ácidos grasos no esterificados (NEFAs) y disminución en los niveles de glucosa e insulina (factor de crecimiento insulínico IGF1). Recordemos que el IGF1 tiene un rol fundamental en la expresión de receptores para la LH en las células de la granulosa (ver capítulo 1), que le permite al FD producir E2 de forma endógena. El E2 a su vez estimula la liberación de GnRH y ésta incrementa los pulsos de LH necesarios para la ovulación, por lo tanto, si existe un bloqueo en la producción de IGF1, los procesos anteriormente descritos se verán afectados, lo que refleja menores tasa de fertilidad.

Para dar un claro ejemplo de las nefastas consecuencias de una mala nutrición en vacas, traemos a consideración el trabajo realizado por Bó et al (2003), quienes manifestaron que a medida que aumentaba la condición corporal (1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; y 4.0) en vacas *Bos Taurus*, así mismo lo hacía las tasas de preñez (27.8; 46.5; 52.3; 57.7; 57.7; 57.6%, respectivamente). Ahora bien, se destaca el hecho de que a partir de una CC 3 a 4, los resultados fueron similares, lo que estaría indicando que el acumulo de tejido graso tiene un efecto adverso sobre el metabolismo hormonal.

#### **5.3.4 Estado ovárico.**

Hace referencia a todas las estructuras de los ovarios, cuya presencia, ausencia y /o tamaño podrían afectar las tasas de gestación. En un estudio retrospectivo realizado por el LABRA en los departamentos de Córdoba y Antioquia, Colombia entre los años 2002-2014 se evaluó mediante palpación rectal un total de 1418 hembras de raza Cebú y mestizas de las cuales el 22.78% tenían cuerpo lúteo como estructura ovárica, el 4.31% fueron diagnosticadas con folículos dominantes (FD), el 33.71% tuvieron ovarios estáticos y el 39.56% estaban preñadas (Datos no publicados).

Con respecto a la relación entre las estructuras ováricas y la fertilidad, Vasconcelos et al (2001) comprobaron que un menor tamaño folicular genera un cuerpo lúteo pequeño incapaz de producir los niveles adecuados de P4. Pero cuando se evaluó el efecto de la presencia de cuerpo lúteo o folículo previo a la sincronización del celo y ovulación de vacas Bradford, el grupo de investigación de Bó, no encontró efecto significativo sobre la tasa de preñez.

En la experiencia del LABRA (2007), se obtuvieron mayores tasas de preñez cuando las vacas estaban ciclando (41.7%), pero el valor de 35.3% reportados en hembras acíclicas no es un dato que discrimine el uso de protocolos en este tipo de animales contrariamente, ante estas circunstancias la sincronización se convierte en una estrategia para inducir su ciclicidad y mejorar la fertilidad en los hatos ganaderos.

Con respecto al anestro pos parto, las estructuras ováricas más específicamente los folículos tienen la habilidad de responder a las concentraciones de FSH durante los 5 a 10 días posteriores al parto, y uno o dos días después de cada incremento se produce el reinicio de las ondas foliculares, proceso caracterizado por el desarrollo de folículos medianos (5 a 10 mm) y la formación posterior del primer folículo dominante.

El FD originado en esta onda se ve afectado por una inadecuada frecuencia de pulsos de LH y la baja producción de andrógenos y de estradiol que impide la descarga de gonadotrofinas. En caso de que ocurra ovulación, sería de folículos muy pequeños que provocan la regresión prematura del cuerpo lúteo y la pérdida de gestaciones a los 23 ó 25 días.

### **5.3.5 Grado de desarrollo uterino.**

El desarrollo uterino hace referencia al diámetro alcanzado por el cuerpo del útero, cuyo valor está directamente relacionado con el porcentaje de preñez. Es un parámetro muy importante, pero lastimosamente en la práctica de campo poco se tiene en cuenta.

El desarrollo uterino se puede clasificar como grado I:  $\leq 10$  mm; grado II:  $> 10$  mm  $\leq 15$  mm; y grado III:  $> 15$  mm de tal modo, que entre mayor sea mejor será la tasa de preñez, tal como lo demostraron Cutaia et al (2006).

En un estudio realizado por el LABRA (2007) se obtuvo una ciclicidad del 8% en novillas cebuínas cuyo desarrollo uterino correspondía al grado I, y valores de 76.7 y 82.4% con grados II y III, respectivamente (Salgado et al., 2007).

### **5.3.6 Manejo del amamantamiento.**

Según Henao et al (2002), el amamantamiento es un estímulo externo que tiene un rol importante en la regulación de los ciclos reproductivos en hembras. Las vacas amamantando presentan un aumento en los parámetros reproductivos: Intervalo parto- primer celo, intervalo parto- primer servicio e intervalo parto- parto, y aunque muchos autores han relacionado el aumento de la prolactina con el bloqueo de hormonas liberadas por la adenohipófisis, actualmente no existen teorías comprobadas que verifiquen tal hecho, de lo que sí se tiene conocimiento es que a relación madre – cría por contacto visual y olfativo produce un aumento en la liberación de péptidos opioides, los que a su vez inciden en la liberación de endorfinas y dopamina. Estas últimas hormonas

ejercen una retroalimentación negativa sobre la GnRH, viéndose afectado los pulsos de LH y FSH.

A continuación, se revelarán algunas estrategias que tratan de evitar el efecto negativo del amamantamiento sobre la fertilidad de hatos ganaderos.

**a. Destete precoz.** El destete precoz es una técnica utilizada en novillas cuando las condiciones de sequías severas le impiden obtener los nutrientes necesarios para continuar con la lactación. El destete se recomienda a partir de los 4 ó 5 meses de edad y para conocer sus ventajas se trae a consideración la experiencia de Menchaca (2007) en Uruguay quien reportó una mejora en la condición corporal de las vacas permitiéndoles aumentar hasta 10 kg, y desde el punto de vista reproductivo reveló un aumento significativo en el porcentaje de preñez (78.3%) al usar métodos de sincronización a base de P4 y BE.

Con este mismo sistema, en Argentina lograron un 56% de preñez en vacas *Bos taurus* frente a un 17% obtenido en aquellas que permanecieron con la cría al pie. Sin embargo, el destete precoz acarrea el uso de estrategias para manejo nutricional del ternero y demanda mano de obra, factores que limitan su implementación

**b. Interrupción temporal del amamantamiento (ITA).** Esta práctica es conocida desde la década de 1970. Consiste en la remoción temporal del ternero por un lapso de 48, 72 o 96 horas, pero tiene mejores resultados cuando se le combina con tratamientos hormonales de sincronización de celos.

En este sentido, se resaltan los trabajos de Barreiros et al (2013), quienes manifestaron que el destete temporario de 48 horas, incrementó en un 22% el porcentaje de preñez en vacas *Bos indicus* cuando el ternero fue separado en el lapso del retiro del dispositivo intravaginal y la IATF. Sin embargo, este es un hecho muy contradictorio si se tiene en cuenta que Vittone et al (2011) obtuvieron mejores resultados en vacas Hereford sobre el tamaño del folículo preovulatorio (13.8 mm) y tasa de ovulación (88,9%) cuando la cría fue destetada al día 0 del tratamiento hormonal. Estas diferencias podrían atribuirse al efecto de la raza y la condición corporal de los animales.

Otro trabajo interesante fue desarrollado por el grupo de investigación de Bó (2003), quienes reportaron el mismo efecto del destete temporario (48 horas) ó el uso de eCG sobre el porcentaje de preñez en vacas F1 (Cebú x Hereford), siendo este de 45 vs 48.7%, respectivamente sin haber diferencias significativa entre los resultados ( $p > 0.05$ ). Lo anterior hace inferir que un buen manejo del amamantamiento tiene el mismo efecto ejercido por la eCG como fuente exógeno de gonadotropinas, sin embargo, debemos reconocer que el DTT no se le ha comprobado correlación con el crecimiento del folículo preovulatorio.

Así mismo, se resalta el estudio de Osorno y Castro (2010), quienes revelaron que un DTT por 80 horas y un aislamiento madre - cría a una distancia de 1 km, permitió un porcentaje de preñez de 62% en vacas cebuinas. Como ya se explicó, el olfateo y el contacto visual madre-cría contribuyen a la producción de péptidos opioides que disminuyen la fertilidad, de tal modo el distanciamiento impidió el efecto negativo sobre la secreción de LH.

En cuanto a la relación entre la época y el DTT, Perea et al (2009), establecieron que existen diferencias en la tasa de preñez. En su investigación se reportaron porcentajes de 16.6% cuando el DTT fue realizado en época de sequía y de 40% cuando se realizó en época lluviosa, lo que ratifica la influencia de la disponibilidad de alimentos sobre estos resultados.

Con base a estos estudios, podríamos concluir que el DTT es una buena opción para garantizar el inicio reproductivo de animales en anestro, pero este debe estar acompañado por una buena condición corporal de los animales y disponibilidad de alimento, de lo contrario, el DTT no sería suficiente para disminuir el periodo de anestro posparto tal como lo asegura Maraña et al (2005).

**c. Amamantamiento restringido.** Se ha demostrado que un ternero puede llegar a mamar más de 8 veces en el día y aras de disminuir este número de estímulos, surgió la idea del destete restringido. En este sistema se requiere el distanciamiento madre – cría, permitiendo tan solo la ingesta de leche en periodos reducidos y con menor intervalo de tiempo, generalmente se realiza en la mañana y tarde.

Según Bó, el amamantamiento restringido ha demostrado ser beneficioso en categoría de animales de primer parto a tal punto que se han obtenido mejores resultados sobre la reactivación de la ciclicidad en comparación con el efecto de la suplementación alimenticia luego del parto.

Haciendo énfasis en los beneficios de este sistema, el LABRA en 2003 realizó un trabajo donde comparó la respuesta de vacas Cebú y mestizas a los tratamientos de sincronización, en este trabajo se evaluó el efecto del sistema de amamantamiento tradicional vs amamantamiento restringido teniendo como resultado una mejora significativa en la tasa de concepción (70%) y una reducción del periodo de días 50 días abiertos (Salgado et al., 2003). Por su parte, Tous et al (2002) obtuvieron un intervalo de 142 días entre el parto y la concepción; y de 39 días entre el parto y el primer celo en vacas Brahman rojo.

Finalmente, en lo investigado por Castellanos et al (2011), la combinación del sistema de amamantamiento restringido (ordeño media hora, mañana y tarde) con el destete precoz (a los 4 meses) de vacas Brahman permitió una tasa de fertilidad del 95%.

**d. Enlatado.** Este sistema consiste en una restricción temporaria del amamantamiento mediante la colocación de una máscara plástica o metálica (lata) en los ollares de terneros mayores a 60 días de edad y con peso promedio de 75 kg. El enlatado impide que se prolongue el amamantamiento pero no corta totalmente la relación entre la madre y la cría por lo que, debe permanecer por 14 a 21 días para que sea efectivo.

En los trabajos realizados en la Argentina, el impacto de este tratamiento sobre la reproducción fue efectivo cuando las vacas tenían una CC mínima de 2 (escala 1 al 5), con mejoras de la tasa de preñez del 13 al 30%.

### **5.3.7 Calidad seminal.**

Después de haber realizado con eficacia el tratamiento de sincronización, la atención se concentra sobre el material seminal, a tal punto que factores como calidad espermática, tiempo de descongelación de la pajilla, temperatura de descongelación, y lugar de aplicación del semen están directamente relacionados con los resultados de la inseminación artificial.

Con respecto a la calidad seminal, la National Association of Animal Breeders (NAAB) manifestó que el semen después del descongelamiento debe tener al menos un 25% de células motiles a una velocidad 3 y pasado dos horas en incubación a 37°C la motilidad debe estar en alrededor de 15%.

En cuanto a su concentración, se recomienda que sea de 5 a 10 millones de espermatozoides, no obstante esto puede variar cuando se conoce la fertilidad de los toros. Con respecto a la morfología, debe tener al menos un 70% de espermatozoides normales y menos de 20% de defectos de cabeza, cola y acrosoma. Recordemos que las anomalías espermáticas del semen reflejan la salud del proceso de espermatogénesis en los testículos de los toros y en particular de su ADN.

En las investigaciones desarrolladas al respecto, se destacan lo realizado por el grupo de investigación de Bó (2004) quienes no encontraron diferencias significativas cuando se inseminó a dosis de 10 millones espermatozoides móviles pos descongelación o 5 millones de espermatozoides. No obstante, debemos aclarar que el material inseminante correspondía a toros de fertilidad probada, evento que permite maximizar el uso del semen.

Según Saacke (2009) las dosis de semen para inseminar también guarda relación con el número de espermatozoides accesorios que logran rodear la zona pelúcida, el autor manifiesta que la presencia de estos espermatozoides dan muestra de su capacitación y aptitud para lograr la fecundación. En pocas palabras, entre más espermatozoides accesorios tenga un semen menor será la dosis a inseminar y menor error tendrá el inseminador.

En cuanto al proceso de descongelación, este es un momento crítico que debe respetar cada uno de los pasos descritos previamente para que el semen conserve su máxima fertilidad. Al respecto, Bernardini (2015) demostraron que el control de la temperatura y el tiempo de exposición del baño de descongelación resultaron de vital importancia para mantener intactas las características estructurales y funcionales en la mayor cantidad posible de espermatozoides. Las temperaturas extremas (21°C por 5 minutos, 75°C por 9 segundos y 95°C por 7 segundos), tuvieron un efecto dañino sobre los espermatozoides móviles progresivos, la velocidad, la distancia recorrida y sobre el porcentaje de espermatozoides con membrana funcionalmente activa.

Otros estudios, compararon la fertilidad obtenida al utilizar semen descongelado a 37°C con distintos tiempos de inmersión en el baño; los mejores resultados se obtuvieron al extender el tiempo en que la pajuela se sumerge en el agua caliente entre 30 y 60 segundos.

Finalmente y teniendo en cuenta que el reservorio más importante de espermatozoides son los oviductos, y más precisamente el segmento denominado istmo. La descarga seminal más cerca del oviducto puede ser una alternativa viable para obtener buenos porcentajes de preñez

cuando se utilizan dosis inseminantes bajas, como ocurre con el semen sexado.

La descarga intracornual parece disminuir la pérdida de espermatozoides. Sin embargo, no se obtienen diferencias cuando se deposita el semen en el cuerpo o cuerno del útero, de tal modo que Andersson et al (2004) reportaron tasa de preñez 31 y 38.6% respectivamente. Por lo tanto, se deben seguir haciendo más experimentos.

## **CONCLUSIONES**

- Las técnicas de sincronización del celo y la ovulación permiten obtener en promedio un 50% de tasa de preñez en los animales tratados, no obstante estos valores podrían reducir cuando no existe estrategias que controlen la incidencia de los factores interferentes
- Los factores inherentes al personal, al animal y al medio ambiente constituyen el 50% del éxito de un programa de sincronización, de ahí que su control garantice la eficacia de la biotécnica.
- La capacitación del personal, los programas de alimentación y prevención de enfermedades, así como el manejo del amamantamiento, son las principales estrategias que se deben implementar en los hatos ganaderos, de ahí que los reportes literarios revelan mayores resultados cuando se les emplea.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aban J.,** Delgado R., Magaña J., Segura J., 2008. Factores que afectan el porcentaje de gestación a 120 días posparto en vacas cebú y cruza con europeo en el sureste de México. *Revista Avances en Información Agropecuaria*; 12(1): 45-56.
- Álvarez A.,** Giraldo J., 2015. Relación del tamaño del folículo dominante y tasa de concepción al momento del servicio en vacas Holstein de alta producción. *Journal of Agriculture and Animal Science*; 4(1): 9-17.
- Andersson M.,** Taponen J., Koskinen E., Dahlbom M. 2004. Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. *Theriogenology*, 61: 1583-1588
- Barreiros, T.,** Blaschi, W., Santos, G., Morotti, F., Andrade, E., Baruselli, P., Seneda, M. 2013. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*, (81):651-6.
- Bernardini, S.,** Prinzió M, Maglione D, Rinaudo A, Marini P. 2015. Efecto del protocolo de descongelación de semen sobre el porcentaje de preñez en bovinos lecheros. *Revista Veterinaria*; 26 (1):27-32.
- Bó, G.,** Cutaia L, Maraña D, Baruselli P . 2002. El uso de tratamientos hormonales y estrategias de manejo para mejorar el desempeño reproductivo en ganado de carne en anestro pos parto. 3-11.
- Castellanos, A.,** Pareja R, Betancourt L, Conde A, Moreno D, Aguilar F. 2011. Efecto del amamantamiento restringido, destete precoz e IATF sobre días abiertos de vacas cebu en pastoreo rotacional en el piedemonte Casanareño. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*; 24 (3).
- Cutaia, L.,** 2007. Estudio comparativo de preñeces obtenidas por unidad de tiempo utilizando inseminación artificial a celo detectado (IACD) e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Diéguez, A.,** Escobar R. 2009. Efecto de la condición corporal sobre el porcentaje de preñez en vacas sincronizadas con dispositivos intravaginales DIV-B®. Tesis de grado en Ingeniería Agronómica, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria; Honduras.
- González, Maldonado J.,** Santos RR, De Lara RR, Ramírez GV., 2017. Impacts of vitamin C and E injections on ovarian structures and fertility in Holstein cows under heat stress conditions. *Turk J Vet Anim Sci* 41:345-350.
- López, F.,** 2006. Relación entre condición corporal y eficiencia reproductiva en vacas Holstein. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*; 4(1): 1-10.
- Lowman, B.,** Scott N, Somerville S., 1976. Condition Scoring beef cattle. The east of Scotland College of Agriculture. Bulletin N° 6.

**Maraña, D.,** Cutaia, L., Borges, L., Pincinato, D., Peres, L., Balla, E., Bó, G. 2005. Efecto de la aplicación de 400 UI de eCG y destete temporal sobre los porcentajes de preñez en vacas posparto tratadas con DIB y benzoato de estradiol. En: VI Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. Córdoba, Argentina

**Maraña, D.,** 2008 . Efecto del destete temporario y la aplicación de eCG sobre las tasas de preñez en vacas cruza cebú inseminadas a tiempo fijo. Reproducción bovina, Argentina.

**Martínez, C.,** 2009. Evaluación de cuatro protocolos de sincronización de celos a los 35 días posparto en vacas cruzadas *Bos taurus* por *Bos indicus* sobre el porcentaje de preñez y días abiertos con I.A.T.F. Tesis de grado, Facultad de ciencias agropecuarias; Programa de Zootecnia, Universidad de la Salle.

**Maza, L.,** Salgado O, Vergara O. 2001. Efecto de la condición corporal al parto sobre el comportamiento reproductivo y variación de peso corporal postparto de vacas mestizas lecheras. Revista MVZ; 6(2): 75-80.

**Monsalve, S.,** Zumaeta Y. 2011. Comparación entre la inseminación artificial profunda y tradicional en novillas Brahman blanco en la finca "león" en Icononzo (Tolima). Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agropecuarias; Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de la Salle.

**Nuñez, J.,** Dominguez R . 2014. Efecto del amamantamiento restringido sobre la tasa de preñez en vacas cebuinas con cría sometidas a un programa de IATF y repaso con toros en el departamento de caaguazú. Tesis de Especialización en Reproducción Bovina; Instituto de Reproducción Animal (IRAC), Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

**Oses, V.,** Callejas S, Cabodevila J. 2008. Inseminación artificial en bovinos: el lugar de descarga del semen y la dosis inseminante, factores en constante revisión. Taurus; 10(38):26-37.

**Osorno, R.,** Castro G . 2010. Efectos de la interrupción temporal de la lactancia (ITA) en vacas Brahman comercial utilizando dispositivos con p4, benzoato de Estradiol y eCG para programas de IATF. Tesis de Especialización en Reproducción Bovina; Instituto de Reproducción Animal (IRAC), Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

**Oyuela, L.,** Jimenez C . 2010 . Factores que afectan la tasa de preñez en programas de transferencia de embriones. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia; 1-9.

**Perea, F.,** Palomares R, De Ondiz A, Hernández H . 2009. Factores que afectan la respuesta reproductiva de vacas mestizas en anestro tratadas con un progestágeno intravaginal o con destete temporal por 120 horas. Asociación Latinoamericana de Producción Animal; 17 (1):43-54.

**Pita, F.,** Matute R, Intriago I, Velásquez D .,2005. Anestro Post-Parto en Ganado de Carne. INTERVET.

- Rabson, C.**, Aller J, Callejas S, Cabodevila J, Albeiro R. 2007. Factores que afectan el anestro posparto en bovinos. *Taurus*; 9 (33):8-25.
- Rivera, J.**, Madrid M, González C, Sandoval L. 2001. Efecto del índice de Humedad – Temperatura sobre la tasa de fertilidad en vacas meatizas. *Revista Facultad de Ciencias veterinarias, Universidad del Zulia*; XI (1): 30-34.
- Rodríguez, T.**, Espinoza J, Verde O. 1995. Efecto del momento de inseminación artificial, masaje del clitorico, temperatura rectal y otros factores sobre la tasa de preñez en Bovinos. *Zootecnia Tropical*; 13 (2): 129-149.
- Saacke, R.**, 2009. Factores de la inseminación relacionados con el momento de a IATF en bovinos. VIII simposio internacional de reproducción animal, IRAC Argentina.
- Salgado, R.**, Cury A, Ruiz R, Alvarez J. 2002. Evaluación del comportamiento reproductivo postparto, influido por la época del año y la raza en bovinos bajo el sistema doble propósito. *Revista MVZ*; 7(1); 152-156.
- Salgado, R.**, Alvarez J, Bertel M, González M, Maza L, Torregrosa L. 2003. Efecto de la época del parto y del sistema de amamantamiento sobre la eficiencia reproductiva de vacas del sistema doble propósito. *Revista MVZ*; 8 (2): 323-328.
- Salgado, R.**, Gonzalez M, Simanca J. 2007. Inseminación artificial a tempo fijo en vacas Brahman lactantes. *Revista MVZ*; 12 (2): 1050-1053.
- Stahringer, R.**, 2003. El manejo del amamantamiento y su efecto sobre la eficiencia productiva y reproductiva en rodeos bovinos de cría. Resultados en el NEA. INTA, Argentina.
- Tous, G.**, Prieto E, Espitia A .2002. Restricción del Amamantamiento en vacas del sistema cría libre. *Revista MVZ*; 7 (1): 157-161.
- Vasconcelos, J.**, Sartori R, Oliveira H, Guenther J, Wiltbank, M .2001. Reduction on size of ovulatory follicle reduce subssequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56: 307-314.
- Velásquez, D.**, Vélez G .2011. Porcentaje de preñez en vacas con baja condición corporal tratadas con dos dosis de eCG en el día ocho del tratamiento con dispositivos intravaginales DIV-B®. Tesis de grado en Ingeniería Agronómica; Carrera de Ciencia y Producción Agrícola, Honduras.
- Vittone, J.**, Otero G, Scena C, Alberio R, Cano A . 2011 . Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. *Archivo de Zootecnia*; 60 (232): 1065-1076.