

EVALUACIÓN DE DIFERENTES METODOLOGÍAS DE SINCRONIZACIÓN DE
LA ONDA FOLICULAR Y LA OVULACIÓN SOBRE LA EFICIENCIA
REPRODUCTIVA EN HEMBRAS BOVINAS DOBLE PROPÓSITO

SARAH ELIZABETH CONTRERAS PARRA

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ
2017

EVALUACIÓN DE DIFERENTES METODOLOGÍAS DE SINCRONIZACIÓN DE
LA ONDA FOLICULAR Y LA OVULACIÓN SOBRE LA EFICIENCIA
REPRODUCTIVA EN HEMBRAS BOVINAS DOBLE PROPÓSITO

Autor:

SARAH ELIZABETH CONTRERAS PARRA

TRABAJO DE GRADO

Director:

JEHISON TORRES TORRES

MV. Esp. Msc

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN	10
3. PLANTAMIENTO DE PROBLEMA	13
4. JUSTIFICAIÓN	14
5. OBJETIVOS.....	15
6. MARCO REFERENCIAL.....	16
6.1. CLASIFICACIÓN DE LAS HORMONAS RELACIONADAS CON LA REPRODUCCIÓN.....	16
6.1.1. Síntesis y secreción hormonal.....	17
6.1.2. transporte hormonal.....	18
6.2. HORMONAS RELACIONADAS CON LA REPRODUCCIÓN.....	19
6.2.1. Hormonas Hipotalámicas.....	19
6.2.1.1. Liberadora de gonadotrofinas (GnRH).....	19
6.2.1.2. Oxitocina.....	20
6.2.2. HORMONAS HIPOFISIARIAS.....	20
6.2.2.1. Foliculoestimulante.....	20
6.2.2.2. Luteinizante.....	21
6.2.2.3. Prolactina.....	20
6.2.2.4. Folistatina.....	22
6.2.3. HORMONAS ESTEROIDES.....	22
6.2.3.1. Estrógenos.....	22
6.2.3.2. Progesterona.....	24
6.2.4. HORMONAS UTERINAS.....	25
6.2.4.1. Prostaglandinas	25
6.3. DINAMICA FOLICULAR Y HORMONAL.....	26
6.3.1. MECANISMO DE OVULACIÓN.....	28
6.3.2. OVOGÉNESIS Y FOLICULOGÉNESIS.....	29
6.4. FACTORES QUE CONTROLAN EL DESARROLLO FOLICULA.....	31
6.4.1. Factores endocrinos.....	31

6.4.2. Factores exógenos.....	34
6.5. CONSIDERACIONES DEL CICLO ESTRAL DE LA HEMBRA	
BOVINA.....	35
6.5.1. presencia del anestro.....	36
6.5.2. tratamientos para reducción del anestro.....	37
6.5.3. parámetros que afectan el ciclo estral.....	38
6.6. PROTOCOLOS MÁS USADOS EN LA SINCRONIZACIÓN DEL CICLO	
ESTRAL.....	40
6.6.1. aplicaciones de eCG en la eficiencia reproductiva de hembras bovinas.....	41
6.6.2. USO DE LA GNRH EN LA SINCRONIZACIÓN DEL CICLO ESTRAL.....	42
6.6.3. PRE-SINCRONIZACIÓN CON PGF2 α	42
6.7. MEJORAMIENTO GENÉTICO A PARTIR DE LA INSEMINACIÓN	
ARTIFICIAL.....	44
6.8. DISEÑO METODOLÓGICOULTRASONOGRAFÍA	
REPRODUCTIVA.....	45
7. DISEÑO METODOLÓGICO.....	46
7.1. Ubicación y Características agroclimatológicas.....	46
7.2. Universo, población y muestra.....	46
7.3. Técnicas o instrumentos para la recolección de datos.....	47
7.3.1. Método de análisis.....	47
8. TRATAMIENTO Y DISEÑO ESPERIMENTAL.	48
8.1. Tratamiento 1 (grupo1).....	49
8.2. Tratamiento 2 (grupo 2).....	49
8.3. Tratamiento 3 (grupo 3).....	50
8.4. Tratamiento 4 (grupo 4).....	51
8.5. Tratamiento 5 (grupo 5).....	52
8.6. Tratamiento 6 (grupo 6).....	52
9. RESULTADOS Y ANALISIS ESTADISTICO	54
10. RECURSOS	59
11. CONCLUSIONES	61
12. BIBLIOGRAFIA.....	62

LISTA DE GRAFICAS

	pag.
Grafica 1. Tratamiento 1: eCG día 6.....	49
Grafica 2. Tratamiento 2: eCG día 6 + GnRH.....	49
Grafica 3. Tratamiento 3: eCG día 8	51
Grafica 4. Tratamiento 4: eCG día 8 + GnRH	51
Grafica 5. Preseincronizacion doble PGF + eCG día 6 + GnRH	52
Grafica 6. Preseincronizacion PGF unica + eCG día 6 + GnRH.....	53
Grafica 7. Diferencia en el Diámetro folicular entre tratamientos.....	55
Grafica 8. Porcentaje de preñez.....	58

LISTA DE TABLAS

	Pag
Tabla1: Diámetro Folicular.....	54
Tabla 2: Porcentaje de preñez	56
Tabla 3: Aplicación GnRH, presincronización PGF α dosis doble y simple sobre el porcentaje de preñez.....	57
Tabla 3: Presupuesto	60

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a Dios por bendecir cada día de mi vida, a mis padres por apoyarme incondicionalmente a lo largo de mis estudios y así poder cumplir todas mis metas.

A mi tutor del trabajo de grado Dr. JEHISON TORRES por dedicar su tiempo en el desarrollo de mi trabajo de investigación, transmitiendo su conocimiento en mi formación académica, su apoyo tanto en la parte investigativa y práctica de este trabajo.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres GUSTAVO CONTRERAS Y ZULMA PARRA, quienes me enseñaron a alcanzar y cumplir mis metas, depositando toda su confianza en mí, para que no exista ninguna dificultad tanto para la realización de este trabajo como para cumplir la meta de culminar mis estudios universitarios.

A mis hermanos ALEJANDRA Y SANTIAGO, quienes siempre están a mi lado apoyándome incondicionalmente.

A mis amigos por apoyarme y estar presente siempre en el momento adecuado.

1. RESUMEN

Los programas de sincronización del ciclo estral y la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se presentan como una estrategia de manejo reproductivo que permite aumentar el porcentaje de preñez en hembras bovinas, de la misma forma permite sincronizar y aumentar el porcentaje de ovulación durante un corto intervalo de tiempo, logrando de esta forma establecer etapas estratégicas de servicios y partos, garantizando que estos se produzcan en periodos del año donde la oferta forrajera es óptima, por tal razón ha sido siempre el propósito de los protocolos de IATF alcanzar porcentajes de preñez elevados, además de lograr preñar hembras en anestro que normalmente no presentarían signos de celo exhibiendo días abiertos críticamente largos, los cuales disminuyen notoriamente el retorno económico del sistema, conjuntamente existen reportes científicos que mencionan como al suplementar el protocolo de sincronización de la ovulación con diferentes hormonas como la Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) o la hormona liberadora de las gonadotrofinas (GnRH), o simplemente variaciones en los tiempos de aplicación hormonal, permite aumentar el número de hembras gestantes luego de la inseminación artificial (IA).

El presente trabajo pretende evaluar el efecto de la aplicación de diferentes metodologías de sincronización de la onda folicular y la ovulación en la hembra bovina, sobre el porcentaje de preñez y el diámetro folicular al momento de la inseminación artificial en hembras bovinas con cría al pie, ubicadas en el municipio de Cunday, Tolima

Palabras claves: ciclo estral, eCG, IATF.

2. INTRODUCCIÓN

La optimización del control reproductivo es una importante forma de maximizar la rentabilidad en los hatos bovinos, para lo cual se presentan diversas estrategias de manejo, dentro de las cuales se puede mencionar programas concretos de mejoramiento genético que implican la manipulación del ciclo estral e Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), los cuales han sido ampliamente utilizados a nivel mundial incrementando la eficiencia reproductiva, representando una herramienta determinante en el aumento de los porcentajes de preñez en las hembras bovinas, más aún en aquellas que presentan un intervalo elevado entre el parto y el primer servicio, logrando así una reducción notable de los días abiertos. (Rostami et al., 2011)

A pesar de que la naturaleza ha hecho que los mamíferos desarrollen adaptaciones para reproducirse con éxito, la baja eficiencia reproductiva es afectada por factores ambientales: fotoperiodo, climatología (temperatura ambiental y humedad relativa, calidad de los forrajes), factores técnicos: genética del ganado y sistemas de manejo. Por esto las técnicas de sincronización de estro y la ovulación, la inseminación artificial, se han desarrollado con el propósito de mejorar la calidad genética y productividad del hato (García, 2009).

Comúnmente en programas de IATF se utilizan hormonas como los estrógenos y los progestágenos los cuales promueven la atresia folicular e inducen el inicio de una nueva onda folicular en 4.5 días después aproximadamente, permitiendo obtener en forma controlada un folículo dominante que ovulará al final del protocolo, el cual posterior al retiro de la fuente de progesterona exógena y la aplicación de prostaglandina F₂α (PGF) junto con una dosis reducida (1 gr.) de estrógenos ocasionará un feed back hipotalámico que desencadenará un pico de liberación de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la cual promueve la liberación

de la hormona Luteinizante (LH) que inducirá su ovulación ofreciendo un periodo comprendido entre 52 a 56 horas posteriores al retiro del dispositivo disponible para inseminar a tiempo fijo las hembras sincronizadas. (Veiga et al., 2011).

Al hablar de GnRH se debe mencionar que es una hormona peptídica sintetizada por el hipotálamo y que realiza su función biológica a nivel hipofisario, provocando la secreción de FSH y LH. La GnRH es utilizada para estimular la función CL, la ovulación de los folículos dominantes y la formación de CL accesorio, aumentar progesterona (P_4) y reducir las concentraciones de estrógeno. (Bartolome et al., 2005).

Estas hormonas tienen un tipo de secreción tónica la cual no muestra variación estacional y asume control endocrino, ejercido por las hormonas esteroides secretadas por el ovario (estradiol y progesterona). La secreción cíclica de LH y FSH es propia de la hembra, y muestra una significativa variación durante el período preovulatorio. El estrógeno influye en la descarga de GnRH, a nivel de hipófisis, creciendo la sensibilidad de las células gonadótropas a la GnRH, lo que provoca finalmente un aumento importante en la secreción de LH; diversos reportes mencionan que con la aplicación de GnRH en el protocolo de IATF se incrementa el porcentaje de ovulaciones lo cual se reflejara en un aumento en el número de preñeces (Sales et al., 2011).

De la misma forma diversos autores afirman que suplementando los protocolos de IATF con hormonas que aumenten la sensibilidad de los receptores de LH y FSH del folículo dominante ocasiona un mayor crecimiento folicular obteniendo un folículo preovulatorio de mayor diámetro de lo normal, lo cual será determinante en la obtención de preñeces de hembras bovinas en anestro, siendo el anestro lactacional el más común y en el cual es de gran aplicabilidad este tipo de protocolos, dentro de estas hormonas encontramos la gonadotrofina corionica equina (eCG) la cual se obtiene de los cálices endometriales de yeguas gestantes

entre los días 40 y 130 (Feresín et al.,2003). Esta hormona se vincula a los receptores foliculares de LH y de FSH, de igual manera a los receptores de LH del CL, estableciendo de esta forma el crecimiento folicular, ovulación y luteinización (Filho et al., 2010). La eCG ha sido administrada en otras especies teniendo un efecto sobre los receptores de la granulosa y de la teca que a su vez estimula la secreción de progesterona y de estradiol. Se ha convertido en una sustancia de gran interés en programas reproductivos y utilizándose con frecuencia en protocolos de reproducción bovina, se ha comprobado que sus propiedades mejoran la eficiencia reproductiva en etapas de posparto, relacionándose con porcentajes altos de preñez, desarrollo y supervivencia embrionaria (Núñez, 2011).

Este trabajo pretende mejorar los rendimientos reproductivos, mediante el aumento de la tasa de preñez, realizando un protocolo de IATF que involucre la utilización de eCG (NOVORMON®) la cual actúa directamente en la estimulación del crecimiento folicular estimulando los receptores foliculares específicos de esta hormona. Tradicionalmente esta hormona se usa en dosis altas como estimulante en hembras donantes usadas en programas de superovulación y transferencia de embriones, y se ha demostrado que el uso de está en dosis bajas en protocolos de IATF permite estimular el crecimiento folicular logrando que el folículo dominante llegue a la etapa preovulatoria con un diámetro superior, siendo eficaz en vacas en anestro y de baja condición corporal, aumentando en estas el porcentaje de preñez (Emilio, 2008).

3. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

Actualmente en gran parte de los hatos bovinos que se dedican ya sea a la obtención de crías o a la producción de leche, se presentan días abiertos demasiado largos, debido principalmente a condiciones medioambientales adversas que disminuyen la oferta forrajera afectando la condición corporal de los animales y por ende impactan notoriamente en la calidad reproductiva, disminuyendo la intensidad de los signos de celo o induciendo periodos de anestro demasiado largos, igualmente la presencia del ternero junto a la vaca, induce un tipo de anestro denominado lactacional, ocasionando una marcada reducción de los niveles plasmáticos de GnRH, viéndose reflejado su efecto en un elevado número de hembras vacías durante un periodo prolongado de tiempo, de este modo afectando la rentabilidad del sistema productivo (Baruselli et al., 2004).

Al mismo tiempo se presentan casos en los cuales el manejo reproductivo evidencia falencias en actividades determinantes como lo es la detección de celos, lo cual reduce notablemente el número de servicios, impactando negativamente en el porcentaje de preñez (Emilio, 2008).

Existen reportes (Sales et al., 2011) en los cuales afirman que algunas situaciones fisiológicas aumentan los días abiertos, tales como la nutrición inadecuada, baja condición corporal, postparto temprano, entre otros, con lo cual se evidencian resultados inconsistentes en la capacidad reproductiva, por esta razón la sincronización de la onda folicular y la ovulación se presenta como una herramienta que mejora el porcentaje de concepción y de preñez final al implementar protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo que permitan controlar el ciclo estral y llevar a servicio hembras en anestro (Emilio, 2008).

4. JUSTIFICACIÓN

Mediante la implementación de un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), que estimule en forma eficiente el desarrollo folicular, y en base a reportes de estudios previos, los cuales mencionan como con la adición de hormonas como la Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) o la hormona liberadora de las gonadotrofinas (GnRH) logra llevar a servicio a hembras en anestro con cría al pie o en pobre condición corporal, con lo cual se pretende aumentar el número de vientres gestantes en un menor periodo de tiempo, disminuyendo los días abiertos y en consecuencia mejorar la eficiencia reproductiva del sistema (Gentry et al., 2016)

Conjuntamente, al aplicar GnRH al momento de la inseminación artificial, se provoca un aumento del porcentaje de ovulación, traducido en un mayor porcentaje de preñez (Emilio, 2008), de modo que al suplementar el protocolo con eCG y GnRH se estará abordando directamente el problema planteado, reactivando la función ovárica y logrando servir hembras en anestro, mejorando notablemente parámetros reproductivos críticos del sistema (Martins et al., 2010)

5. OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de diferentes metodologías de sincronización de la onda folicular y la ovulación sobre el porcentaje de preñez y diámetro folicular en hembras bovinas doble propósito.

Específicos

- Determinar el efecto de la aplicación de gonadotrofina corionica equina (eCG) en diferentes días del protocolo de sincronización sobre el porcentaje de preñez y diámetro folicular de hembras bovinas.
- Analizar el efecto de la implementación de una presincronización a dosis única o doble de prostaglandina F2 alfa (PGF) sobre el porcentaje de preñez.
- Estudiar el efecto de la suplementación de la Hormona Liberadora de las Gonadotrofinas (GnRH) al momento de la inseminación artificial sobre el porcentaje de preñez en hembras bovinas.

6. MARCO REFERENCIAL

6.1. CLASIFICACIÓN DE LAS HORMONAS RELACIONADAS CON LA REPRODUCCIÓN

Las hormonas relacionadas con la reproducción animal se pueden clasificar de acuerdo a su estructura bioquímica, su forma de acción, sitio de origen hormonal y sitio de acción hormonal.

Según su estructura bioquímica encontramos las glucoproteínas y polipeptidos (peso molecular de 300 a 70.000 daltons), estradiol (proveniente del colesterol con peso molecular de 300 a 400 daltons) ácidos grasos (provenientes del ácido araquidónico, peso molecular de 400 daltons) y aminas (derivadas de tirosina).

De acuerdo con la forma de acción se habla de la acción primaria, la cual se divide en dos grupos: el primero son las hormonas liposolubles las cuales traspasan la membrana celular y reaccionan con receptores (hormonas tiroideas y esteroides) que obtienen un efecto lento y duradero, el segundo grupo se encuentra las hormonas hidrosolubles las cuales no atraviesan la célula por su poca capacidad de solubilidad, interaccionan con proteínas de la membrana, reaccionando en forma de cascada permitiendo que la reacción celular sea más rápida. (Knobill, 2006)

Según su sitio de origen hormonal las podemos clasificar como: hormonas hipofisarias, hipotalámicas gonadales, tiroideas. De acuerdo al sitio de acción hormonal podemos clasificarlas según la comunicación utilizada para actuar en el órgano blanco: Paracrino: secretada por un tipo de célula y actúa en otro tipo de célula cercana; endocrina: su acción la ejerce en el órgano blanco más lejano; autocrina: actúan en la misma célula sintetizada, aunque también se comportan como paracrinas; Intracrinas: se producen y accionan en la misma célula. (David et al., 2000)

Para el desarrollo de los folículos ováricos son muy importantes los mecanismos de acción autocrinos y paracrinos, donde los factores de crecimiento se producen por células de la granulosa, actuando como agentes mitógenicos de la misma célula permitiendo una división celular rápida y de igual manera el crecimiento de folículos preantrales (Fortune,1994)

6.1.1. síntesis y secreción hormonal

Las hormonas peptídicas y proteicas se sintetizan en el retículo endoplasmático rugoso igual que todas las proteínas, inicialmente la proteína producida por el retículo, forma una Hormona de mayor tamaño llamada prehormona la cual es producida por el retículo endoplasmático y transformada a prohormona, se transporta al aparato de Golgi donde será empaquetada en gránulos secretorios de la células donde será nuevamente procesada (Knobill, 2006)

Las hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona, andrógenos, cortisol, aldosterona) se sintetizan a partir del colesterol, en las vacuolas del citoplasma existen reservas de ésteres de colesterol que se movilizan rápidamente para la síntesis de esteroides provocada por las células correspondientes. Las hormonas esteroideas circulan de la membrana celular hasta el líquido extracelular.

Las hormonas tiroideas se sintetizan a partir de la tirosina. Las hormonas tiroideas cuando aparecen en el citoplasma, por medio de la difusión abandonan la célula por medio de la membrana celular. Existen grandes concentraciones de tiroxina formando una proteína yodada (tiroglobulina) que se almacena en folículos de la glándula tiroidea. Hormonas derivado de la tirosina, como hormonas de la médula suprarrenal (adrenalina y noradrenalina), se atraen en vesículas preformadas donde se almacenaran hasta su secreción (cambell, 1995).

Las hormonas de los ácidos grasos son llamadas prostaglandinas. Principalmente encontramos prostaglandinas E₂ y F₂α se derivan del ácido araquidónico el cual proviene de los fosfolípidos de la membrana celular como el fosfato inositol y otros (De la cruz, 1992).

6.1.2. transporte hormonal

Posterior a la secreción las hormonas pueden encontrarse en el torrente circulatorio separado o unido a transportadores de origen proteico. Habitualmente las hormonas proteicas y peptídicas por el carácter hidrosoluble circulan de forma separada, por otro lado, las hormonas tiroideas y los esteroides se adhieren a proteínas transportadoras. Solamente las hormonas separadas tienen acción fisiológica (Tovio et al., 2011).

Existen varias moléculas que transportan esteroides, como la globulina ligante de cortisol o transcortina, unen con alta afinidad los corticosteroides y P₄. La testosterona y el estradiol se unen a la globulina ligante de hormonas sexuales (SHBG) (De la Cruz 1994).

La secreción hormonal se podría relacionar con la función que realizan en el mantenimiento de la homeostasis, por esto la regulación dominante se denomina retroalimentación negativa, por ejemplo; en la acción de la hormona (LH) sobre las células del folículo ovárico permitiendo su crecimiento y sintetizando el estradiol, a su vez las células de la granulosa del folículo producirán hormonas estradiol e inhibina, por esta razón la acción de estas dos hormonas en la sangre actuarán sobre el hipotálamo y la hipófisis para disminuir la secreción de FSH (Bò et al., 2004).

6.2. HORMONAS RELACIONADAS CON LA REPRODUCCIÓN

6.2.1. Hormonas Hipotalámicas

La acción hormonal del lóbulo anterior de la hipófisis esta intervenida por sustancias denominadas factores de liberación y factores de inhibición que llegan a la hipófisis por el sistema porta hipotálamo-hipofisario.

6.2.1.1. Liberadora de gonadotrofinas (GnRH)

Es una hormona peptídica (peso molecula 1183 daltons) tiene una función gonadal a través de estímulos de síntesis y secreción de gonadotrofinas, hormona folículo estimulante y leuteinizante en la adenohipofisis (hipófisis anterior) (De la Cruz, 1995)

La GnRH se ha sintetizado en dos tipos de análogos, antagonistas que se unen a receptores de la hipófisis, pero no liberan las hormonas LH y FSH y no permite que la hormona actúe de manera natural, los análogos estimuladores, permiten que las hormonas LH y FSH sean liberadas y de igual manera la GnRH actúe de manera natural. La acción de estos antagonistas se debe a la capacidad de estar unidos a los receptores de la hipófisis por más tiempo que la hormona natural (Bazer, 1992)

La GnRH tiene dos tipos de secreción, una es tónica el nivel basal, tiene un control endocrino causado por las hormonas tiroideas producidas por el ovario (estradiol y progesterona) y la segunda es cíclica donde la secreción de LH y FSH es propia de la hembra y muestra una variación durante el periodo preovulatorio.

6.2.1.2. Oxitocina

La oxitocina (OT) es un péptido, sintetizada por el núcleo supraóptico del hipotálamo junto a proteínas neurofisinas, se transporta por medio de axones de los nervios del eje hipotalamo-hipofisis en vesículas rodeadas por la membrana hacia la neurohipofisis, una vez se libera a la circulación, la vida media es corta (5min) ya que es degradada por endopeptidasas de hígado y el riñón (Knobill, 2006).

También es producida por las células de la glanulosa donde su función es muy importante durante la fase folicular del ciclo estral, Facilitando el transporte de los gametos tanto masculino como femenino en el oviducto. La oxitocina ejerce una relajación en el útero, variando los umbrales de excitabilidad del miometrio. También actúa en el proceso del parto facilitando la expulsión del feto, contrayendo los vasos umbrales y el útero después del parto para asegurar la hemostasia. La oxitocina estimula las células mioepiteliales ejerciendo presión en los alveolos mamarios desplazando así la leche hacia los conductos de la glándula mamaria (Senger, 2005). La oxitocina producida por el CL induce la liberación de la PGF₂, la cual interviene en el proceso luteolítico.

6.2.2. HORMONAS HIPOFISIARIAS

En el lóbulo anterior de la hipófisis existen, péptidos y polipeptidos como la folículoestimulante (FSH) leuteinizante (LH), la prolactina (PR), estimulantes de la tiroides (TSH) y folistatina (Senger, 2005).

6.2.2.1. Foliculoestimulante

La FSH (peso molecular 32.00 daltns) tiene una vida media entre 2 a 5 horas, su función es promover el crecimiento y la maduración folicular, la cual produce la secreción estrogenica, donde debe estar presente la LH, sintetizando el estradiol de

los folículos en desarrollo. La glicoproteína está formada por subunidades alfa (α) (Knobill, 2006).

Las subunidades α o β no tiene acción biológica por si mismas, por esta razón si α de la hormona luteinizante se ajusta con β de la hormona folículo estimulante, la molécula recobra su acción biológica de FSH (Bó et al., 2004).

6.2.2.2. Luteinizante

La LH (peso 30.000 daltons aprox.) tiene una acción biológica de 30 minutos. Es una hormona luteotrópica en los animales domésticos. Las células luteales tienen receptores para LH. Esta hormona igual que la FSH es secretada por impulsos y es regulada por dos vías, el tónico que genera el nivel basal circulante, que se presenta en las hormonas hipofisarias originando el desarrollo del elemento germinal y endocrino de las gonadas. (Berisha, 2005) El cíclico se presenta por 12 a 24 horas en el ciclo reproductivo, teniendo como función liberar el pico preovulatorio de LH, induciendo una cadena de reacciones enzimáticas que romperán la pared del folículo produciendo la ovulación (Niswender, 2002)

6.2.2.3. Prolactina

Es un polipéptido de 198 aminoácidos (peso molecular 24.000 daltons), la prolactina es la hormona que inicia y finaliza la lactación. Es una hormona también conocida como luteolítica ya que permite el mantenimiento del CL esta hormona actúa en el sistema de retroalimentación negativa, bloqueando su propia producción y de la GnRH, interrumpiendo la síntesis de secreción de las gonadotropinas hipofisarias (Knobill, 2006).

6.2.2.4. Folistatina

Es un péptido segregado por varias células de la hipófisis, inhabilitando la síntesis y secreción de FSH en la hipófisis y reduce la respuesta de la FSH a la secreción pulsátil de GnRH. Inhabilita la actividad biológica uniéndose con la activina, permitiendo que se reduzca el incremento de secreción de FSH (Senger, 2005)

6.2.3. HORMONAS ESTEROIDES

Son procedentes por las gónadas, glándulas suprarrenales y la placenta. De acuerdo con su número de átomos carbonos se pueden dividir en tres grupos: andrógenos (18 carbonos), estrógenos (19 carbonos) y progestogenos (21 carbonos); los cuales pueden ser sintetizados por el ovario (Niswender, 2000).

Todos los estrógenos ováricos son producidos a partir de precursores androgénicos, ya que durante la hormogénesis esteroidea el número de carbonos del colesterol se reducen, pero no aumentan.

Principalmente la mayoría del colesterol se sintetiza en el hígado y trasladado a los tejidos esteroudogénicos (corteza adrenal, folículo y cuerpo lúteo) como lipoproteína de alta y baja densidad, siendo las fuentes más usuales del colesterol utilizado por CL, para producir hormonas esteroideas.

6.2.3.1. Estrógenos

Los estrógenos producidos por los folículos ováricos tienen una acción en el sistema nervioso central para provocar signos de celo, en el útero actúa aumentando la amplitud y frecuencia de los efectos de la oxitócica, $\text{PGF2}\alpha$ y el control de la retroalimentación negativa y positiva en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo.

Cuando el folículo dominante va creciendo la FSH provocará la síntesis de receptores de LH en las células de la granulosa, generando más producción de andrógenos que luego se biotransforman en estrógenos por parte del folículo (Olivera et al., 2007).

Los estrógenos se transportan por medio de proteínas de enlace durante la circulación, como la globulina fijadora de las hormonas sexuales, para llegar al órgano blanco, como el sistema nervioso central el cual estimula la conducta del celo y en el hipotálamo produce el feed back negativo sobre el sistema tónico y positivo en el sistema cíclico. En la vulva y la vagina origina un aumento en el plasma sanguíneo, congestión y aumento de color. En el útero los estrógenos producen proliferación de células y las glándulas endometriales aumentando su secreción. En el cérvix produce relajación, aumenta su diámetro y produce secreción de mucosa, y en el oviducto impulsa la acción del músculo liso y secreción de un líquido seroso y provoca la división celular (Olivera et al., 2007).

La retroalimentación positiva y negativa se relaciona con los niveles de P4. La retroalimentación negativa se presenta cuando hay un CL funcional y por altos niveles de P4 circulante, lo cual ocasiona la pérdida de sensibilidad de las células de los estrógenos. En la retroalimentación positiva al no haber presencia de P4 en la sangre, se induce la liberación de la LH y FSH en la fase folicular (Knobill, 2006).

6.2.3.2. Progesterona

La P4 es un progestágeno natural, el cual se secreta por la placenta, las glándulas suprarrenales y células luteales; estas últimas por la actividad luteotrópica de LH y en menor concentración por otras hormonas como GnRH, prolactina y la catecolaminas (Olivera et al. 2007).

En la luteinización, las células de la granulosa durante el pico de LH, obtienen la capacidad de producir progesterona y pierden la capacidad de producir estrógenos debido a la inhibición de la enzima aromatasa P450 arom y P450 17 – α (Rosales, 2008).

En los bovinos la IGF-1 (factor de crecimiento insulínico) y la GH (hormona de crecimiento) aumentan la secreción de P4, por los tejidos luteales. De acuerdo a esto se ha encontrado mRNA que agrupan los receptores de GH en el tejido luteal en el bovino. Estas hormonas tienen un efecto en la función lútea por medio de la unión de su receptor y activa la enzima tirosina kinasa incorporada a la membrana. La GH puede ser influenciada en la función lútea indirectamente por el aumento del IGF-1, el cual provoca la secreción de P4 a través de la transformación del citoesqueleto y puede estar implicado en la prevención de la muerte celular ayudando a conservar el peso luteal (Berisha, 2005).

Luego de la síntesis de P4 es transportada a la sangre por medio de una globulina de enlace de hormonas sexuales (SHBG) principalmente la globulina fijadora del cortisol (CGB). Se observa su acción cuando el tejido blanco ha estado a estímulo de los estrógenos. En el hipotálamo realiza el efecto de "feed back" negativo sobre la actividad tónica de la secreción de GnRH (Rosales, 2008).

En el endometrio aumenta el espesor del epitelio y las glándulas uterinas alcanzan su máximo desarrollo. Las glándulas son activamente secretoras; promueven un

líquido formado por proteínas séricas y específicas del útero, glucoproteínas y minerales, siendo estos esenciales para la nutrición del embrión en la fase de preadhesión. Inhibe las contracciones permitiendo que se lleve a cabo la gestación en el miometrio y en el cérvix se produce un tapón mucoso formado por una sustancia densa, opaca y de poca cantidad, convirtiendo al útero en una cámara de incubación (Kayser et al., 2006).

6.2.4. HORMONAS UTERINAS

6.2.4.1. Prostaglandinas

La $\text{PGF}_2\alpha$, es un ácido graso insaturado producida por casi todos los tejidos corporales, interviniendo en varios procesos fisiológicos como la presión sanguínea, lipólisis, secreción gástrica, coagulación de la sangre, respiración y de igual manera se puede ver asociada al dolor físico (Knobill, 2006).

La célula endometrial, es la fuente uterina de $\text{PGF}_2\alpha$ y de igual manera en el útero se produce PGE_2 .

Esta hormona es secretada de modo pulsátil, actúa en la regulación del ciclo estral por su efecto luteolítico y del mecanismo del parto. Induce contracciones uterinas ayudando en el transporte de espermatozoides en el tracto reproductivo de la hembra. PGE_2 interviene en el cambio de consistencia del cérvix durante el proestro y estro. La intervención de estas dos hormonas interviene en la ovulación de la vaca, respecto a esto, se dice que la ovulación podría ser retirada mediante la aplicación de indometacina, siendo un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (Knobill, 2006)

6.3. DINAMICA FOLICULAR Y HORMONAL

La dinámica folicular es el proceso de crecimiento y regresión de folículos antrales que conllevan al desarrollo de un folículo preovulatorio (sintex, 2005) las ondas de crecimiento folicular en las hembras se presentan entre 2 a 3 ondas. El ciclo con dos ondas, la maduración del segundo folículo dominante armoniza con la regresión del cuerpo lúteo y alcanza a la ovulación, en el ciclo de tres ondas es el ciclo estral con mayor duración, ya que retrasa el celo al no ovular el segundo folículo, y el tercer folículo dominante requiere de tiempo para su maduración y así poder ovular.

Reclutamiento: un grupo de folículos inician su desarrollo a partir de una abundancia de folículos antrales pequeños que empiezan a madurar bajo las gonadotropinas, especialmente por FSH que permite progresar en su desarrollo. El desarrollo folicular permite el inicio de la primera onda folicular, provocada por el segundo pico de FSH el cual se sucede posterior a la ovulación.

En la primera onda el incremento momentáneo de FSH, permite que los folículos exitosos aumenten su crecimiento y la síntesis de estradiol, así mismo la producción de inhibina y actina, el folículo dominante no se puede diferenciar hasta que suceda la selección.

Selección: entre los días 2 y 4 del ciclo estral, se puede identificar uno o varios folículos de 6 a 9mm, lo cual permite el inicio de la selección. Mientras los folículos maduran, estos dependen de LH siendo el mecanismo de selección del folículo dominante.

La selección se concierne a la presencia de un folículo más grande sobre los folículos más, pequeños de recibir un aporte adecuado de gonadotropinas. Esto podría ocurrir por dos vías; la vía pasiva donde el folículo mayor inhabilita

indirectamente los folículos más pequeños comprimiendo la concentración de FSH. La vía activa el folículo de mayor tamaño inhibe directamente el crecimiento de los otros folículos liberando sustancias en la sangre para reducir su sensibilidad a FSH (Fortune et al., 2001)

Dominancia: es el proceso donde el folículo escogido ejerce un resultado inhibitorio en el reclutamiento de un nuevo grupo de folículos. Para la dominancia se requiere la diferencia o desvío, esto concierne al tiempo que folículo dominante y los subordinados más desarrollados crecen a una regulación diferente, antes de que el subordinado se presente atresia.

La estimulación hormonal se destina hacia el folículo dominante aumentando su irrigación sanguínea. Los niveles altos de proteína reguladora iatrogénica aguda (StTAR) síntesis de receptores de FSH y LH, así mismo la producción de proteínas y enzimas aromatasas necesarias para generar andrógenos y progestrogenos, corresponden con la maduración del folículo dominante. El folículo dominante es el responsable de la secreción de estradiol.

La origen por la cual el folículo dominante regresiona en las primeras ondas es por la baja presencia de impulsos de LH causado por los altos niveles de progesterona, que induciría una mínima síntesis de andrógenos y en resultado menor síntesis de estradiol que causaría atresia folicular (Sintex, 2005)

Atresia: se presenta en la desaparición de los folículos que no llegaron a la dominancia, o de un folículo dominante que no ovula. La atresia se presenta en cualquier fase del desarrollo folicular, es más frecuente en folículos antrales esto está relacionado directamente con el tamaño de los folículos. Cuando los folículos se atresian disminuye la producción de estradiol y la P4 aumenta (Braw-Tal et al., 2005)

6.3.1. MECANISMO DE OVULACIÓN

Cuando el folículo dominante este completamente desarrollado y libere estradiol, pasa a folículo preovulatorio etapa en la cual ovula o libera el oocito (Richards, 2005).

La maduración folículo preovulatorio depende de la interacción entre gonadotropinas, hormonas esteroides, factores de crecimiento. El aumento plasmático de estradiol, antepone el aumento temporal de liberación de LH. El folículo preovulatorio aumenta los receptores de LH los cuales van a ser susceptibles en la concentración de LH en sangre, paso que activa la adenilciclase para originar AMPcíclico intracelular, impulsando la transducción de proteína quinasa A. el pico preovulatorio de LH incrementa la síntesis de mRNA que agrupa los receptores de progesterona, diclooxigenasa-2 (COX-2) y factor regulador de crecimiento temprano (Egr-1), los cuales son importantes en el transcurso de ovulación, permitiendo la ruptura de folículo por una superficie específica y la liberación del oocito maduro (Crowe, 2008), en el área del folículo donde ocurre la ovulación, se identifica varias capas celulares, diferenciados por una capa superficial simple de epitelio ovárico, la túnica albugínea y la teca externa rodeada por una red colágena que genera firmeza a la pared celular, la teca interna y posteriormente la capa de células de la granulosa apartada por la lámina basal del complejo cumlulos-oocito.

El complejo cumulus-oocito inicia por la acción de glicosaminoglicanos (ácido- β 1, 2-N-acetilglucosamina β -1-4-glucurónico) procedentes de las células del cumulus, teniendo como función extender la presión intrafolicular. De igual manera se desencadena la síntesis de mRNA que recopila el componente necrosis tumoral- α que activa las proteinasas desencadenantes de los mecanismos proteolíticos en la matriz extra celular (Richards, 2005)

Una vez el oocito es liberado, es atraído por las fibras del oviducto, las cuales están situadas hacia el ovario, por la acción estrogénica. En el ovario, el área vacía del folículo ovulado se llena ligeramente de sangre, creando el cuerpo hemorrágico, dando preámbulo a la formación del cuerpo lúteo.

6.3.2. OVOGÉNESIS Y FOLICULOGÉNESIS

La ovogénesis en las vacas inicia los días 50 a 130 de gestación con la división meiótica de las ovogonias, son desarrolladas en las células primordiales germinales que emigran al ovario durante la embriogénesis temprana. Durante los 80 días de gestación las ovogonias inicia la meiosis, estos acontecimientos se concierne con la formación de los folículos primordiales.

Autores plantean que la clasificación folicular se divide en preantrales los cuales se subdividen en primordiales, primarios y secundarios, y antrales se subdividen en terciarios y preovulatorios (Jaiswal, 2003)

En los mamíferos los folículos se constituyen de capas celulares denominadas de la teca y de la granulosa las cuales envuelven al oocito. Las células de la granulosa durante el crecimiento de los folículos se separan en dos subtipos; células granulosas cúmulos (CC) que rodean profundamente al oocito y las células granulosas murales (MGC) recubren al folículo formando un epitelio estratificado con la capa basal. Las células granulosas cúmulos tienen procesos que permiten penetrar por la zona preclucida y unirse al oocito, permitiendo el paso de moléculas con bajo peso molecular entre oocito y células del cumulo (Hunter, 2004).

Es muy importante la comunicación entre el oocito y las células del cumulo ya que permite el desarrollo, crecimiento del oocito y el folículo. Se puede decir que los componentes secretados por el oocito son reguladores de la foliculogénesis,

armonizando así actividades asociadas con el crecimiento y diferencia de las células de la granulosa.

Autores afirman que los oocitos son regulados el sistema para que actúen la actina, inhibina y folistatina y de igual manera inhibiendo la luteinización folicular (Glistler et al 2003). Los oocitos progresivos estimulan las células de la granulosa de los folículos preantrales para producir el factor KL (kit-ligando), factor parácrino promoviendo el crecimiento del oocito.

Al llegar el oocito a un tamaño apropiado, la síntesis de KL es causada en el momento en que la señal paracrina del oocito hacia las células de la granulosa cambia de estimulación a inhibición, lo cual causa el fin de la fase de crecimiento del oocito.

La foliculogénesis inicia en la vida fetal en las vacas, durante varios meses el folículo primordial se transformara en un folículo preovulatorio o de graff. Los folículos primordiales se forman por el oocito rodeado por células foliculares planas y de acuerdo al mecanismo intraovarico, emprende un grupo de folículos en crecimiento, donde la zona pelúcida comienza su formación (Bartlewski, 2001) se dice que los folículos empiezan a crecer cuando; incrementa el tamaño del oocito, cambia de forma las células de granulosa planas a cúbicas, formación de zona pelúcida, formando el folículo primario. Cuando las células cúbicas se multiplican formando dos o más capas de células de la granulosa, logrando al final 6 o más capas terminando el proceso de la cavidad antral. Los capilares invaden la parte fibrosa situada entre las células que envuelven el folículo formando la capa de la teca interna, la cual es la que contribuye nutrientes a la membrana granulosa y al ovocito. La teca externa se encuentra fuera de esta, es rica en tejido conectivo y fibroblastos, nombrándose folículos secundarios (Hafez, 2002).

A continuación aparece un espacio entre las células granulosas llamado antro folicular, el cual va extendiendo su tamaño, aquí empieza a denominarse folículo terciario, el cual está en condiciones a ovular, también se le llama folículo preovulatorio o de graff (Hafez, 2002).

6.4. FACTORES QUE CONTROLAN EL DESARROLLO FOLICULAR

6.4.1. Factores endocrinos

Los mecanismos de selección folicular implican complejos afines entre esteroides intrafoliculares, péptidos ováricos, factores de crecimiento y gonadotropinas hipofisarias.

El líquido folicular tiene componentes secretados por células de la granulosa y de la teca. Estos componentes interactúan continuamente, donde el balance entre acción estimuladora e inhibidora en el folículo en sus diferentes etapas fijara el desarrollo o la atresia folicular (Ireland et al., 2000).

En el crecimiento, diferenciación y función folicular, juegan un papel muy importante los componentes del fluido folicular como los factores de crecimiento, tales como inhibina, actina, factor insulínico de crecimiento (IGF) y proteínas transportadoras. La diferenciación entre estos define el folículo dominante en cada onda folicular. Estudios realizados hallaron que los folículos dominantes producen mayor cantidad de E2 y P4, mientras las proteínas transportadoras de IGF están en concentraciones bajas, siendo estos marcadores bioquímicos determinara que folículo de reclutamiento de similar tamaño será dominante. El valor de P4, inhibina, actina, folistatina y proteínas transportadoras para IGF fueron similares en todos los folículos reclutados (Mihm et al., 2000).

El suceso de una onda folicular durante el pico de FSH armoniza con el crecimiento del folículo dominante, el cual tiene mayor concentración de estradiol que los folículos subordinados. Las concentraciones de FSH que anteponen al suceso de la onda ovulatoria son encargadas por las bajas de concentraciones de sustancias inhibitoras (estradiol, inhibina, folistatina) (Ginther et al., 2003).

Los folículos alcanzan su desarrollo reactivo a las gonadotropinas, cuando las células de la granulosa exhiben receptores de FSH y las células de la teca exhiben receptores de LH. Al segregarse la LH en la adenohipofisis, al pegarse a los receptores de las células de la teca provoca la síntesis de andrógenos por intervención del cAMP. Los andrógenos sintetizados en las células de la teca a partir del colesterol en el cual actúa las enzimas P450_{scc} y 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, transitan a través de la membrana basal hasta las células de la granulosa donde ocurre una aromatización producida por el citocromo P450_{arom} (aromatasa) y P450 17- α hidroxilasa, convirtiéndose los andrógenos en estrógenos, presentándose por la presencia de FSH la cual cuenta con los receptores en estas células. La pérdida de la aromatización es causada por enzimas específicas que dan inicio la luteinización (Ireland et al., 2000).

Un mayor número de células de la granulosa sintetiza continuamente altos niveles de estrógenos y la secreción del folículo maduro. Los estrógenos tienen la función a nivel folicular de inducir la incursión de vasos sanguíneos por la teca interna; donde el folículo recibirá más cantidad de sangre que los otros folículos de su onda de desarrollo. Los estrógenos en altas cantidades a nivel hipofisiario junto con la inhibina impiden la secreción de FSH (feed back negativo). Esto permite mejorar el desarrollo del folículo dominante sobre los otros folículos, así mismo se genera dominancia pasiva sobre ellos, imposibilitando que sus receptores de FSH sea cada vez más insuficientes (Ginther et al., 2003).

La fase final del desarrollo preovulatorio, los estrógenos producen un tercer efecto sobre el folículo, provocando la formación de receptores de LH en las células de la granulosa. El folículo preovulatorio orientaría los puntos de unión hormonal para la secreción de LH provocando la ovulación.

Beg, 2006 determinó que el mRNA para proteína receptora de LH es 8 veces mayor en el folículo más grande que en el secundario durante el inicio de la desviación. Por esta razón los receptores de LH en las células de la granulosa establecen la elección del folículo dominante.

La presencia de enzimas esteroidogénicas y de genes receptores de gonadotropinas procede de los folículos preovulatorios posteriormente del pico de LH, seguido con la caída de androstenediona y 17β estradiol y el aumento de P4 en el fluido folicular. El aumento de LH está concerniente con la iniciación la luteinización de las células teca y la granulosa o reducción en transformación progesteronas a andrógenos (Fortune et al., 2004).

Los receptores de FSH de una célula de la granulosa son limitados, de modo que el folículo en crecimiento solo puede multiplicar los receptores de FSH hasta cierto punto en una célula de la granulosa ya que la retroalimentación es limitada. A medida que crece el folículo se desarrolla un número de células de la granulosa lo que permite desarrollar la proliferación de receptores de FSH, ya que el estrógeno sintetizado tiene un resultado estimulante de la mitosis. La etapa final del folículo depende de la capacidad de sintetizar cantidades suficientes de estrógenos para ampliar su número de células, donde actúa indirectamente el número de receptores de FSH (Lucy, 2000).

6.4.2. Factores exógenos

La nutrición es muy importante en la reproducción. El 80% de las vacas lactantes tempranas tienen un balance energético negativo, pierden peso, bajan la producción de leche y reducen la función reproductiva

El estrés nutricional en las vacas ocasiona fracaso en la ovulación del primer folículo dominante, debido a que los impulsos de LH es mínima para estimular la suficiente selección de estrógenos por parte del folículo dominante y promover el pico preovulatorio de LH. En vacas de carne la limitación nutricional ejerce a nivel ovárico como del eje hipotalámico-hipofisiario, disminuye la tasa de crecimiento del folículo dominante que es eliminada por descenso en la concentración del IGF.

La condición corporal (CC) es un factor el cual se afecta ya sea por situaciones en el periodo posparto, lactancia, estrés calórico, nutricionales, patológicas. Las vacas al perder condición corporal desde el parto hasta el servicio su concepción es más baja. La condición corporal y el número de folículos pequeños en el ovario siendo mayor en vacas con CC de 3 a 5, se puede decir que está afín con el balance energético. Las vacas que mantienen su CC y su peso, presentan una concentración de LH basal mayor, así mismo una gran liberación de LH inducida por la GnRH comparadas con las vacas que tienen baja CC (Wiltbank, 2001).

La leptina una citoquina se ha propuesto como un modulador del eje hipotalámico-hipofisiario, secretada por adipositos y su concentración plasmática afecta la pérdida de condición corporal, ya que la restricción nutricional desarrolla receptores de leptina en el núcleo hipotalámico. La concentración de leptina en plasma reduce durante el balance energético negativo, ya que el consumo de nutrientes interviene sobre los aumentos de mRNA para leptina en grasa (Amstalden et al., 2000).

Las señales de leptina se convierten en el hipotálamo en respuestas neuronales sobre el consumo de alimento. El neuropéptido Y (NPY) es un neurotransmisor que se localiza en el núcleo Arquato y afecta la secreción de las hormonas hipofisarias principalmente LH. Las señales de NPY son inhibidas por la leptina afectando el consumo de alimento. Los niveles de leptina durante la preñez son altos y se reducen ligeramente luego del parto. La disminución corresponde a los costos energéticos de la producción de leche (Zieba et al., 2003).

6.5. CONSIDERACIONES DEL CICLO ESTRAL DE LA HEMBRA BOVINA

El ciclo estral se puede definir como una etapa que hay entre un celo y otro, se caracteriza por la combinación de una serie de sucesos fisiológicos que inician en un período estral y terminan en el siguiente, que tienen como objetivo la ovulación, apareamiento y gestación. Comprenden la ovulación y formación de CL espontaneo (Echeverría, 2004).

El ciclo estral empieza en la pubertad, donde en las vaquillonas de 18 – 22 días y en las vacas es de 21 – 24 días la duración del ciclo estral, podemos ver que esta condición puede ser afectada por la raza, estación del año, nutrición, presencia del toro o lactancia. El ciclo estral está dividido principalmente en dos fases: folicular (proestro y estro), inicia en el proestro; donde ocurre un aumento de estrógenos del folículo preovulatorio induciendo un período de receptividad o estro, finaliza cerca de la ovulación 35 a 45 h después. Fase lútea (metaestro y diestro) inicia en el diestro y finaliza cerca de la fase de luteolisis, diferenciada por ausencia de expresiones de comportamiento sexual, presencia de cuerpo lúteo activo y altos niveles de progesterona plasmática circulantes (F.Albani et al., 2008).

Durante el ciclo estral ocurre una serie de eventos que se repiten. La foliculogénesis (desarrollo y maduración folicular) se inicia con la formación de folículos durante la

vida fetal, donde tiene un definitivo número de folículos primordiales en las gónadas, en el cual la mayoría de estos folículos durante el crecimiento generaran atresia folicular, escasamente unos folículos completaran la maduración y van a ovular (De La Sota, 2002).

De igual manera se presenta la luteolisis la cual se caracteriza por la maduración y regresión del cuerpo lúteo (CL) que se forma en la cavidad dejada por el folículo hacia el día 5 del ciclo estral, secretando progesterona en las vacas que no resultan preñadas hasta que presente un nuevo desarrollo del folículo que ovulara el siguiente estro. (Asprón, 2004). El CL se degradará con la presencia de un factor luteolico como la PGF2a que se secreta en el miometrio durante todo el ciclo estral alcanzando una alta concentración en el momento de la luteolisis (Tamayo, 2007).

6.5.1. presencia del anestro

Anestro se refiere a la alteración de la normalidad en el ciclo estral, de modo que la hembra no evidencia comportamiento de celo, por varios ciclos consecutivos, debido a una disminución de los niveles circundantes de hormonas reproductivas como la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), este fenómeno puede ser de tipo fisiológico, o normal, cuando la vaca esta gestante o en el postparto temprano, sin embargo existen situaciones o estímulos externos al animal que inducen este tipo de comportamiento; en los cuales una baja condición corporal (CC), una pobre alimentación y el amamantamiento también lo desencadenan. Otro tipo de “anestro” se conoce como falso, el cual se caracteriza por el mal manejo y mala detección del estro, esto se presenta por la irregularidad en las observaciones, interpretación errada de los signos o mal uso de los registros, conjuntamente con chequeos reproductivos deficiente (Belloso et al.,2002).

El Anestro lactacional es provocado en la mayoría de los mamíferos, o también llamado estímulo de succión, relacionado con la habilidad materna de la vaca en procura de facilitar la recuperación de la cría y asegure su supervivencia. La duración de la infertilidad de la lactancia depende de la actividad de succión o amamantamiento del ternero. La succión impide que haya una secreción normal de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropina (GnRH) que resulta en reducción de la liberación de LH por la hipófisis. La liberación de FSH vuelve a su patrón cíclico normal y los folículos ováricos pueden desarrollarse bajo su influencia. No obstante, hasta la disminución de amamantamiento, los folículos dejan de secretar cantidades de estradiol adecuadas para estimular un aumento de LH y la ovulación (Pérez et al., 2001).

Para la recuperación del ciclo estral posparto la principal limitación en la vaca es la baja secreción de GnRH y LH. Se ha observado que el amamantamiento y la constante presencia del becerro reducen la liberación de GnRH y LH, y de esta manera extienden el anestro posparto; en cambio, cuando hay un destete del becerro incrementa la liberación de GnRH y abundancia de los pulsos de LH (Pérez et al., 2001).

6.5.2. tratamientos para reducción del anestro

Los tratamientos más empleados para la reducción del anestro posparto y mejorar el desempeño reproductivo de vacas con cría al pie, es con una implantación subcutánea de norgestomet o de dispositivos intravaginales que liberan Progesterona (P4) estos mantienen elevadas las concentraciones plasmáticas de P4, induciendo un aumento en la frecuencia de pulsos de LH, provocando el crecimiento folicular, la maduración del folículo y su capacidad ovulatoria (G A. Bó et al., 2005).

Se ha reportado un efecto positivo con estos tratamientos como un incremento de tasa de servicios durante los primeros 45 días de la estación de monta, también se halló que redujo el intervalo entre parto-primer estro. En un trabajo, realizado en vacas con cría al pie de aproximadamente 70 días de edad, se usó implante de dispositivo con P4 mas BE asociado con destete temporario, seguido desde la retirada del dispositivo hasta la IA (50-52 H), se vio una mejora en el porcentaje de preñez en comparación con vacas que solamente fueron destetadas por 48 h y que recibieron monta natural durante 60 días (Robson et al., 2007).

Otros sistemas para reducir el anestro posparto son: Destete precoz, la cual se utiliza comúnmente cuando hay condiciones de sequías permitiendo servir las vacas sin los altos requerimientos nutricionales asociados con la lactación; destete temporario, también conocido como enlatado este consiste impedir que succione con el uso de una tablilla plástica en los ollares del ternero (G. A. Bó et al., 2005).

6.5.3. parámetros que afectan el ciclo estral

La causa primordial de las fallas reproductivas es la baja detección de calor, causando bajas tasas de concepción y por ende largos intervalos entre partos, las cuales no permiten adquirir una cría por año, la inseminación artificial tiene unas ventajas favorables para la aceptación de los productores como el bajo costo del semen, la aplicación de este y el éxito que garantiza el proceso, de igual manera disminuye los peligros asociados con la monta natural, mejorar la genética del hato y aumentar las tasas de preñez. El 50 % del aumento de la producción ganadera es aplicable al mejoramiento genético a través de la inseminación artificial, y el resto es atribuido al factor ambiental como la salud, nutrición, sitio de pastoreo y la administración, dando una idea del potencial que tiene la inseminación artificial para inducir un desarrollo reproductivo de la ganadería (Restrepo, 2007).

En diversas investigaciones que destacan el tiempo posparto y la condición corporal (CC) de las vacas frente a los porcentajes de ovulación y preñez, los autores concluyeron que la condición corporal es afectada por el tiempo posparto que debe ser mayor a 70 días, donde las vacas deben tener una puntuación de CC mayor a 2,5 para que los resultados sean satisfactorios. En vacas con mejor puntuación de CC los tratamientos hormonales ayudan a los animales a ciclar y obtener mayor porcentaje de quedar preñadas durante el siguiente servicio (Bó et al., 2004).

El ganado de carne obtiene del pastoreo sus requerimientos nutricionales, por esta razón la oferta forrajera a lo largo de año es muy significativa en la fase nutricional de los animales, en épocas de escasez de alimento coincidiendo con el tiempo posparto, las vacas pueden llegar a un balance energético negativo, reduciendo las reservas energéticas, impactando significativamente en relación a la preñez, por esta razón la baja condición corporal altera el desempeño reproductivo en las hembras (Correa et al., 2010).

Según reportes presentados por Rubio et al. (2010) en vacas Brahman los cuales revelaron similitudes entre CC y presencia de folículos ováricos, determinando que a medida que una vaca recupera su CC permitirá el desarrollo de folículos ováricos de diferentes tamaños, de igual manera la presencia del estro y la ovulación. Otra investigación la cual relacionaron la CC y el tamaño del folículo, en vacas Angus x Hereford al parto con condición corporal moderada obtuvieron un folículo grande en el primer estro relacionándolas con vacas con CC baja (Lents et al., 2008). Vasconcelos et al. (2009), Realizo un estudio en Brasil, con vacas Angus x Nelore que presentaban anestro con mayor índice de CC, alcanzaron folículos grandes el día del retiro del implante de progesterona, aumentaron la tasa de detección de celos durante los días 3 y 25 durante la época de reproducción y una mayor tasa de preñez entre los primeros 25 y 80 días. Estos autores llegaron a la conclusión que las vacas de baja condición corporal no restituyeron su ciclo estral por la cual presentaron baja tasa de detección de celos y bajas tasas de preñez.

Otro de los factores que afectan el desempeño reproductivo es la presencia de anestros posparto que aumenta el intervalo parto-concepción e intervalo de partos y la baja nutrición, reduciendo la fertilidad, el amamantamiento y la detección del estro, para esto se han diseñado técnicas reproductivas como la inseminación artificial y transferencia de embriones que permiten hacer más eficiente la producción (Correa et al., 2010).

Estudios revelaron que el intervalo desde el parto al primer estro y ovulación, en vacas de carne está influenciada por la reserva de energía corporal al parto. No obstante, el consumo de nutrientes posparto puede regular el anestro, el aumento de peso en vacas delgadas no alcanza a optimar esta deficiencia, ya que una vaca de CC buena al parto la cual mantuvo su peso, ovulara más temprano (Wettemann et al., 2003).

6.6. PROTOCOLOS MÁS USADOS EN LA SINCRONIZACIÓN DEL CICLO ESTRAL

La sincronización hormonal del estro, consiente llevar las vacas al estro en un tiempo establecido, beneficiando la eficiencia en la detección del mismo, donde existen múltiples protocolos para la sincronización del estro, como una o dos aplicaciones de prostaglandina u otras hormonas como la GnRH, progestágenos inyectables o implantes subcutáneos o intravaginales liberadores de hormonas, o el uso de, LH, eCG, FSH, hCG y estrógenos. (Restrepo, 2007).

El protocolo Ovsynch, un componente efectivo para la inseminación a tiempo fijo, Consiste en la aplicación de GnRH, el día 6 o 7 seguido la aplicación de prostaglandina (PGF 2α), 48 horas después una segunda dosis de GnRH logrando la ovulación, y realiza la inseminación en un tiempo de 24 horas, otro protocolo es el Co-Synch, las vacas son inseminadas al aplicar la segunda dosis de GnRH. El protocolo Select Synch, consiste en la aplicación de GnRH, continuando con la

aplicación de PGF a los 7 días, para inseminar las vacas al ser observadas en calor; Pre-Synch, consiste en doble aplicación de PGF, a un intervalo de 14 días, la segunda aplicación se realiza 12 a 14 horas antes de un protocolo Ovsynch, logrando tasas de preñez de 43 a 48% comparado con 29 a 38% de Ovsynch. Un protocolo adecuado para novillas es Eazi-Breed CIDR, consiste en implantar un dispositivo liberador de progesterona (CIDR) en la vagina de la novilla por 7 días, este dispositivo es retirado y se le aplica una dosis de PGF (Restrepo, 2007).

La pre-sincronización pretende obtener las vacas en un estado de celo al iniciar el protocolo para la inseminación, en el cual se utiliza doble aplicación de PGF2 α a 14 días de intervalo, en la segunda dosis de PGF2 α se aplica 14 días antes de iniciar el protocolo con OvSynsh o CoSynch pretendiendo que la aplicación sea dada el mismo día de la semana o aplicar la segunda dosis de PGF2 α a 11 o 12 días antes del protocolo OvySynch o CoSynch si se quiere maximizar la tasa de concepción.

Otro protocolo utilizado es ReSynch las vacas son inseminadas después de saber que se encuentran en estado de anestro, los hatos con buena detección de celos optan por este protocolo a la hora de la palpación, donde siete días antes de realizar la palpación, se les aplica una dosis de GnRH, las vacas que se encuentran en periodo de anestro se les aplica una dosis de PGF2 α a las 48 horas reciben GnRH y se inseminan 8 a 18 horas después (Nebel et al., 2016).

6.6.1. aplicaciones de eCG en la eficiencia reproductiva de hembras bovinas

La hormona gonadotrofina coriónica equina (eCG) tiene una vida media aproximada de 3 días, ésta tiene la capacidad de estimular los receptores de LH del cuerpo lúteo (CL), de la misma forma al ser administrada previamente a la ovulación permite el crecimiento del folículo dominante a través de su acción agonista de la FSH y la LH, incrementa las concentraciones plasmáticas de progesterona inmediatamente

después de la ovulación, mejorando el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la gestación (Ospina et al., 2013).

Existen reportes que mencionan como la administración de eCG dos días antes de retirar el dispositivo intravaginal, podría ser una estrategia benéfica para mejorar el diámetro del folículo preovulatorio, aumentar las concentraciones plasmáticas de P4 y mejorar la tasa de preñez, los autores obtuvieron una tasa de ovulación de 70.4% y un porcentaje de preñez de 27,27% (Dorneles et al., 2013). Otro estudio realizado por Rostami, (2011) en el cual suplementó el protocolo de IATF con eCG, obtuvo resultados en los cuales revelan un 71,4% de ovulación del folículo dominante de la primera onda. Pinheiro, (2008) menciona en su estudio en el cual aplicó eCG el día del retiro del dispositivo, obtuvo un porcentaje de preñez del 48,9%, además menciona como con el uso de la eCG aumenta el porcentaje de ovulación y la tasa de preñez en vacas con estrés nutricional.

Estudios realizados los cuales utilizaron la aplicación de eCG en un protocolo de IATF el día del retiro del dispositivo intravaginal obtuvieron resultados de un 88,6% de ovulación y una tasa de concepción del 41.5% en vacas con baja condición corporal. Otros autores realizaron un estudio con el objetivo de aumentar las tasas de ovulación implementó el uso de eCG, obteniendo resultados de un 68% de ovulación y un 16% en el porcentaje de preñez (Dorneles et al., 2013). Nuñez, (2011) realizó un estudio implementado eCG el día 8 del protocolo de IATF con vacas y vaquillonas obteniendo resultados significativos en el porcentaje de preñez y disminuyendo las pérdidas embrionarias.

6.6.2. USO DE LA GNRH EN LA SINCRONIZACIÓN DEL CICLO ESTRAL

La hormona liberadora de gonadotrofinas se sintetiza en las células que se encuentran en el hipotálamo y es secretada en el sistema portahipofisario, la cual tiene una vida media de 2 a 4 minutos, por esta razón el sostenimiento del ciclo

estral depende de la secreción permanente de esta hormona. La GnRH es importante ya que estimula la secreción de otras hormonas, la luteinizante (LH) y el folículo estimulante (FSH), que permiten inducir la ovulación de un folículo dominante y la aparición de una nueva onda folicular (Colazo et al., 2009).

En estudios realizados con la administración de GnRH se pudo determinar que esta hormona permite aumentar la tasa de preñez y reduce la pérdida de la gestación (Bartolome et al., 2005).

Colazo (2009), realizó un estudio adicionando la GnRH en un protocolo de IATF con el fin de inducir la ovulación del folículo dominante, adquiriendo como resultado un 44 % en la tasa de ovulación y un 28% en la tasa de preñez.

6.6.3. PRE-SINCRONIZACIÓN CON PGF2

La PGF2 α es un factor luteolico producida por el miometrio, la cual se hace presente durante todo el ciclo estral para la regresión del CL, alcanza su concentración máxima en el momento de la lúteolisis. La secreción de PGF2 α es pulsátil entre 3 y 4 pulsos por día. Se ha determinado que es preciso ceca de 5 pulsos para que suceda la lúteolisis completa (Gaytan et al, 1998).

La utilización de PGF2 α para sincronizar los celos, presenta el estro entre los días 2 a 6 después de su aplicación, lo cual se requiere la inseminación asociada a la detección del celo. Para eliminar la necesidad de detectar celos se puede implementar un sistema de manejo reproductivo en bovinos con el uso de la sincronización de los celos e inseminación artificial a tiempo fijo, lo cual es posible conseguir si se logra sincronizar la ovulación después de la aplicación de PGF2 α (Macmillan et al., 1996).

Al administrar PGF2 α a cualquier grupo de hembras bovinas una dosis con intervalo de 11 días, las que se encuentran entre el día 5 y 17 del ciclo al comienzo del procedimiento responderán a la primera inyección. Al momento de la segunda inyección la mayoría de hembras se encuentran entre día 8 y 11 del ciclo y responderán a la PGF2 α (Bó, et al., 2004). Se propusieron varios protocolos de sincronización de estros con PGF2 α , donde los tratamientos propuestos son modificación del tratamiento con dos dosis de PGF2 α con intervalo de 11 días y se utilizan cuando hay buena tasa de detección estros (Bó, et al., 2004).

Según estudios realizados reportan que el uso de los protocolos de presincronización usando dos dosis de PGF con 14 días de diferencia e iniciando un protocolo OvSynch a los 11 a 14 días, después de la segunda dosis de PGF2 α se ha determinado que mejora la fertilidad en la primera inseminación artificial, (Gumen et al., 2012) o una combinación de GnRH y PGF2 α las cuales las vacas en la etapa del ciclo estral aumentarían la probabilidad de ovular en respuesta a la GnRH y ha reducido la aparición de luteolisis antes del final del protocolo de la inseminación prolongada (Ribeiro et al., 2011) Otros resultados de investigación demostraron que el efecto de PGF2 α simultáneamente con GnRH en el inicio del ciclo estral antes del protocolo OvSynch redujo el porcentaje de vacas con respuesta ovulatoria completa de luteolisis (Rizwan et al., 2016).

6.7. MEJORAMIENTO GENÉTICO A PARTIR DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

En la inseminación artificial en el mejoramiento genético se tiene en cuenta como el factor más beneficioso. Según unos autores, en los hatos con una alta producción de leche, la IA se está utilizando con más frecuencia ya que es una metodología simple, exitosa y económicamente aprobada para introducir genes de interés para los ganaderos. La IA requiere la selección de un pequeño número de toros para

generar progenie, y en cuanto a la selección los toros son identificados por mérito genético, basado en registros del desempeño de sus hijas y otras generaciones (Giraldo, 2007).

El mejoramiento genético de la ganadería compone una de las prioridades en el sector agropecuario, haciéndose evidente el año 2007 con la creación del Consejo Nacional de Mejoramiento Genético (CONAMEG) por parte del Ministerio de Agricultura, la cual permitirá que los pequeños productores tengan la posibilidad de mejorarla producción de sus hatos, en varios aspectos (Piñeira et al., 2009).

Los criadores de animales, han aprendido a dominar los componentes ambientales perfeccionando las prácticas de cría y alimentación de los animales, y tratamiento de las enfermedades.

6.8. ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA

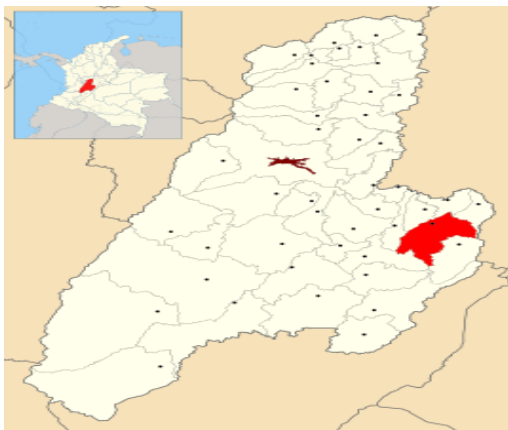
Esta técnica se ha venido utilizando hace ya un tiempo como una herramienta significativa en el manejo de procesos reproductivos. Es un equipo que opera con ondas de ultrasonido las cuales penetran los tejidos y se devuelven creando una imagen ecogenica en la pantalla (Bó et al., 2007).

Esta es igualmente precisa en el diagnóstico de gestación, su mayor impacto consiste en la realización de una evaluación precoz y de alto porcentaje de certeza de la preñez. Principalmente se realiza una ecografía transrectal el día en que presenta el celo para determinar en cada ovario la presencia o ausencia de un cuerpo lúteo. El diagnóstico de la gestación se realiza por ultrasonografía 35-40 días después de la IATF, el porcentaje se da por el número de vacas preñadas dividido por el número total de vacas Inseminadas en cada tratamiento con eCG (sa `Filho et al., 2010).

7. DISEÑO METODOLÓGICO

7.1. Ubicación y Características agroclimatológicas.

Este trabajo se realizó en la finca Aguas Claras, de ganado doble propósito ubicada en la vereda Agua Blanca, en el municipio de Cunday (Tolima), localizado a los 4°03'40'' N 74°41'33''O, temperatura de 30 °C, humedad relativa 52%.



Fuente: página web Alcaldía de Cunday – Tolima

7.2. Universo, población y muestra

Se utilizaron 87 Hembras doble propósito biotipo racial cruce *Bos indicus*, con edades que oscilan entre 36 y 48 meses, pesos entre 380 a 490 kilogramos, aproximadamente con 60 días posparto con cría al pie y condición corporal (CC) de 2.5 en escala clasificatoria de 1 a 5, las cuales se les realizó palpación rectal para examinar el útero y estructuras ováricas (folículos y cuerpo lúteo), con la finalidad de confirmar si están vacías, en anestro y estado uterino. Los animales a tratar son manejados nutricionalmente en condiciones de pastoreo de *brachiaria decumbens* intensivo, el cual tiene un valor nutricional de proteína de 10 a 12%, una digestibilidad 50% con Ph de 3.8 a 7.5, sal mineralizada y agua a voluntad, las vacas son manejadas por monta natural; con este trabajo se implementará un protocolo

de IATF con la finalidad de mejorar la eficiencia reproductiva traducida específicamente en el porcentaje de preñez.

7.3. Técnicas o instrumentos para la recolección de datos

La recolección de datos se realizó por medio de una hoja de registro en la cual se tiene en cuenta el número de vacas a tratar, fecha de inicio del protocolo, hormonas y cantidad a utilizar, condición corporal, número de chapeta que identifica a cada animal, raza del animal, raza con la cual se va a inseminar, diámetro folicular, diagnóstico y observaciones.

7.3.1. Método de análisis

Este proyecto pretende evaluar parámetros reproductivos como lo es el porcentaje de preñez y el diámetro del folículo preovulatorio, influenciado con por el uso de hormonas como la eCG, GnRH y PGF2 α usadas en el protocolo de IATF, este valor se obtiene relacionando el número de hembras gestantes 35 días posteriores luego de la inseminación artificial, y se divide por el total de hembras tratadas tomando estas como el 100 por ciento. (BoDurant, 2007). Otro parámetro que se evaluaron es la medida del diámetro folicular al día de la inseminación artificial, el cual se obtendrá luego de la medición por ultrasonografía del folículo preovulatorio previo a iniciar la técnica de inseminación artificial.

El porcentaje de preñez como el diámetro folicular son dos de los más importantes parámetros reproductivos que intervienen directamente en la eficiencia reproductiva del hato, por tal razón su objetivo de estudio en el presente trabajo (Ayres, 2011).

8. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Los protocolos de sincronización tendrán una duración aproximada de diez (10) días, por lo tanto, se enumera el día de inicio del tratamiento, como día 0, el día en que se presenta el celo se expresa como día 10 con la finalidad de una mejor comprensión, de acuerdo a varios estudios realizados (Martemucci et al., 2011).

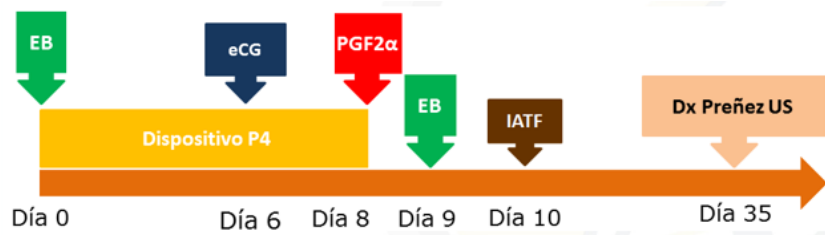
Las 76 hembras bovinas fueron sometidas a un protocolo de sincronización del ciclo estral e IATF, estas se distribuyeron en seis grupos al azar, de este modo, el Grupo 1: 13 hembras (n=13) recibirán una dosis de 400 unidades internacionales (UI) de eCG el día 6 del protocolo, el Grupo 2: 17 hembras (n =17) recibieron igualmente, una dosis de eCG el día 6 y además una dosis de 2 mg de GnRH el día 10 de la inseminación artificial, Grupo 3: 12 hembras (n=12) se les aplicó una dosis de 400 UI de eCG el día 8 de iniciado el protocolo, Grupo 4: 17 hembras (n=17) se les aplicó una dosis de eCG el día 8 junto con una dosis de 2mg de GnRH el día 10 de la inseminación artificial, Grupo 5: 17 hembras (n=17) recibieron una presincronización con dos dosis de 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina), una al día 0 y la otra al día 14 del protocolo. Todos los grupos se les realizó ultrasonografía para verificar las hembras que quedaron gestantes 35 días después de la inseminación artificial. A continuación, se especificarán detalladamente cada protocolo.

8.1. Tratamiento 1 (grupo1)

Se tomaron 13 hembras bovinas a las cuales se les aplicó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), seis días después recibieron una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina), 48 horas después se retira el DIB junto

con la aplicación de 500µg PGF2α (Prostal, over, Argentina), 24 más tarde se aplicó 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realiza la IATF.

Grafica 1. Tratamiento 1: eCG día 6



-Novormon: Gonadotrofina corionica equina, 1000 UI/ml, laboratorio Syntex S. A. Argentina.

-Fertagyl: gonadorelina, 500 cmg/ ml, MSD Salud Animal, Mexico

- Benzoato de Estradiol: benzoato de estradiol, 100ml, laboratorio Syntex S.A.,. Argentina

- Dispositivo Intravaginal Bovino: 1gr P., Syntex S.A. Argentina

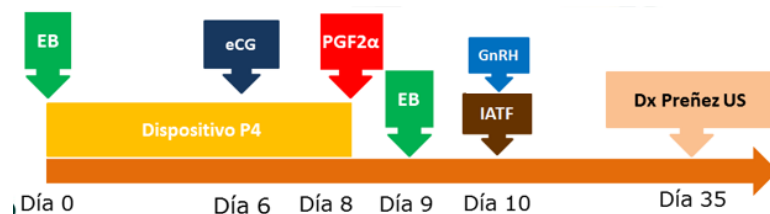
- Prostal: cloprostenol, 20ml, Over, Argentina

8.2. Tratamiento 2 (grupo 2)

Se tomaron 17 hembras bovinas a las cuales se les aplicó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), seis días después recibieron una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina), 48 horas posteriores se realizó el retiro del DIB junto con la aplicación de 500µg GF2α (Prostal, over, Argentina), 24 más tarde se aplica 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A.

Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realiza la IATF y se les aplicara 2mg de GnRH.

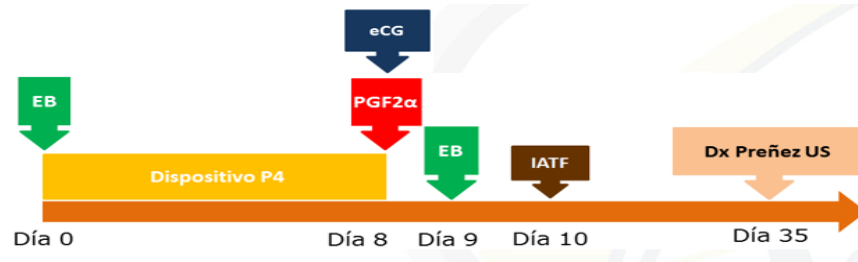
Grafica 2. Tratamiento 2: eCG día 6 + GnRH



8.3. Tratamiento 3 (grupo 3)

Se tomaron 12 hembras bovinas a las cuales se les aplicó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), ocho días después recibieron una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina), se realizó el retiro del DIB junto con la aplicación de 500µg GF2α (Prostal, over, Argentina), 24 más tarde se aplicó 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realizará la IATF.

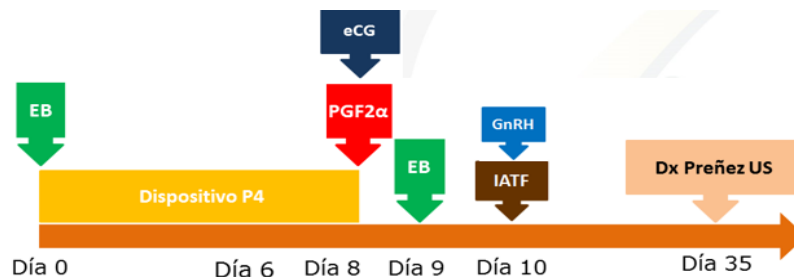
Grafica 3. Tratamiento 3: eCG día 8



8.4. Tratamiento 4 (grupo 4)

Se tomaron 17 hembras bovinas a las cuales se les aplicó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), seis días después recibirán una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina), 48 horas después se realiza el retiro del DIB junto con la aplicación de 500µg GF2α (Prostal, over, Argentina), 24 más tarde se aplica 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realiza la IATF y se les aplicara 2mg de GnRH.

Grafica 4. Tratamiento 4: eCG día 8 + GnRH



8.5. Tratamiento 5 (grupo 5)

Se tomaron 17 hembras bovinas a las cuales se les aplica el día cero 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina) 14 días posteriores se aplica una segunda dosis de 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina) el día 25 se les puso un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), el día 31 recibieron una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina) el día 33 se aplica 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina) y se retira el DIB, 24 horas más tarde se aplica 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realiza la IATF y se les aplica 2mg de GnRH.

Grafica 5. Preseincronizacion doble PGF + eCG día 6 + GnRH



8.6. Tratamiento 6 (grupo 6)

Tomaron 11 hembras bovinas a las cuales se les aplica el día 0 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina) 11 días posteriores se aplica un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB, 1gr P., Syntex S.A. Argentina), junto una dosis

de 2 mg de Benzoato de Estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), el día 17 recibieron una dosis de 400 Unidades Internacionales (UI) de eCG (Novormon. Syntex S.A. Argentina) el día 19 se aplica 2mg de PGF2a (Prostal, over, Argentina) y se retira el DIB, 24 horas más tarde se aplica 1 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol, Syntex S.A. Argentina), y 54 horas posteriores al retiro del DIB se realizará la IATF y se les aplica 2mg de GnRH

Grafica 6. Preseincronizacion PGF unica + eCG día 6 + GnRH



9. RESULTADOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realiza un análisis descriptivo en el que se reflejarán los porcentajes de preñez de las 87 vacas a tratar. Se evaluarán dos variables dependientes, las cuales son el porcentaje de preñez y el diámetro folicular, sobre una variable independiente que es tratamiento, para ello se utilizará un estudio estadístico basado en la prueba t-student, conjuntamente se realizará una prueba de Chi cuadrado con el objetivo de determinar si existe alguna relación entre la aplicación de GnRH, la presincronización con doble dosis de PGF o dosis simple y el porcentaje de preñez; en la aplicación de las pruebas se usará el software estadístico Infostat UNC 2016. Con relación al diámetro lúteal se empleará Chi-cuadrado. Infostat UNC 2016.

Tabla1: Diámetro Folicular

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	21,03	3	7,01	2,42	0,0761
Tratamiento	21,03	3	7,01	2,42	0,0761
Error	159,48	55	2,90		
Total	180,51	58			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,68169

Error: 2,8997 gl: 55

Tratamiento	Medias	n	E.E.
Tto 3: eCG día 8	11,25	12	0,49 A
Tto 5: Presincronización d..	12,24	17	0,41 A B
Tto 1: eCG día 6	12,54	13	0,47 A B
Tto 2: eCG día 6 + GnRH	12,94	17	0,41 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

El análisis de varianza del diámetro folicular presenta diferencia significativa entre los tratamientos 2 (eCG día 6+ GnRH) y tratamiento 3 (eCG día 8), siendo el tratamiento 2 el que presenta mayor diámetro folicular 12,94, mientras el tratamiento

1 (eCG en el día 6) presenta el diámetro folicular menor de 11,25. El cual no presenta una diferencia significativa con el tratamiento 5 (doble PGF α) .

De acuerdo con reportes de otros autores, al aplicar eCG el día 8 causa efectos consistentes en la última estimulación folicular, permitiendo el crecimiento del folículo dominante a través de su acción de FSH y LH, incrementa las concentraciones plasmáticas de progesterona inmediatamente de la ovulación, mejorando el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la gestación. (Ospina et al., 2013). Sales et al., (2011) obtuvo diámetro folicular similar al que se logró en este trabajo 11.40

Al aplicar eCG el día 6 es estrategia benéfica para mejorar el diámetro del folículo preovulatorio, aumentar las concentraciones plasmáticas de P4 y mejorar la tasa de preñez (Dorneles et al., 2013).

Grafica 7. Diferencia en el Diámetro folicular entre tratamientos

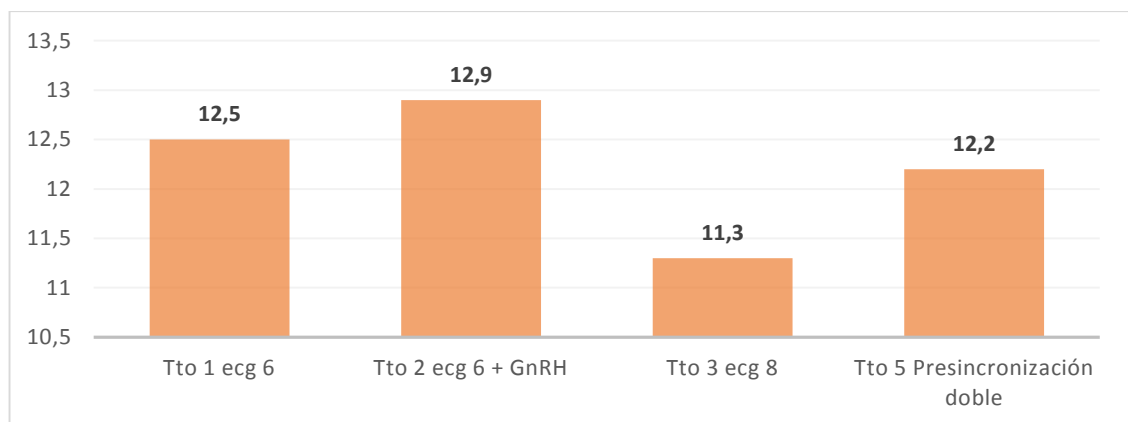


Tabla 2: Porcentaje de preñez

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Preñez	87	0,02	0,00	94,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4819,16	5	963,83	0,37	0,8681
Tratamiento	4819,16	5	963,83	0,37	0,8681
Error	211272,80	81	2608,31		
Total	216091,95	86			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=56,28571

Error: 2608,3061 gl: 81

Tratamiento	Medias	n	E.E.
Tto 3: eCG día 8	41,67	12	14,74 A
Tto 2: eCG día 6 + GnRH	47,06	17	12,39 A
Tto 5: Presincronización d..	52,94	17	12,39 A
Tto 4: eCG día 8 + GnRH	58,82	17	12,39 A
Tto 1: eCG día 6	61,54	13	14,16 A
Tto 6: Presincronización P..	63,64	11	15,40 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

El análisis de varianza nos muestra que el porcentaje de preñez entre el tratamiento 1 (eCG día 6) y tratamiento 3 (eCG día 8) se obtuvo un mayor porcentaje en el tratamiento 1 (61,54%), en los tratamientos con el uso de GnRH se obtuvo mayor preñez en tratamiento 4 (eCG día 8 + GnRH) y con el uso de PGF2 en el tratamiento 5 (doble PGF) y tratamiento 6 (simple PGF) se logró un 63.64% de preñez con dosis simple de PGF. Determinando que no existe diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos

De acuerdo con autores como Dorneles et al (2013) el cual obtuvieron un porcentaje de preñez de 27.27% un porcentaje menor al que se obtuvo en este trabajo, pero de acuerdo con estos autores el aplicar esta hormona el día 6 del protocolo aumenta el diámetro del folículo preovulatorio, amplía las concentraciones plasmáticas de P4 y mejora la tasa de preñez, y así mismo permiten un alto porcentaje de preñez en vacas con estrés nutricional. De igual manera el uso de eCG el día del retiro del

dispositivo, se logró obtener resultados similares con otros autores los cuales obtuvieron una tasa de concepción del 41.5% en vacas con baja condición corporal. (Dorneles et al., 2013). así mismo obtener resultados significativos en el porcentaje de preñez y disminuyendo las pérdidas embrionarias. (Nuñez, (2011)

Tabla 3: aplicación GnRH, presincronización PGF α dosis doble y simple sobre en porcentaje de preñez

Tablas de contingencia

Frecuencias: # vacas

Frecuencias absolutas

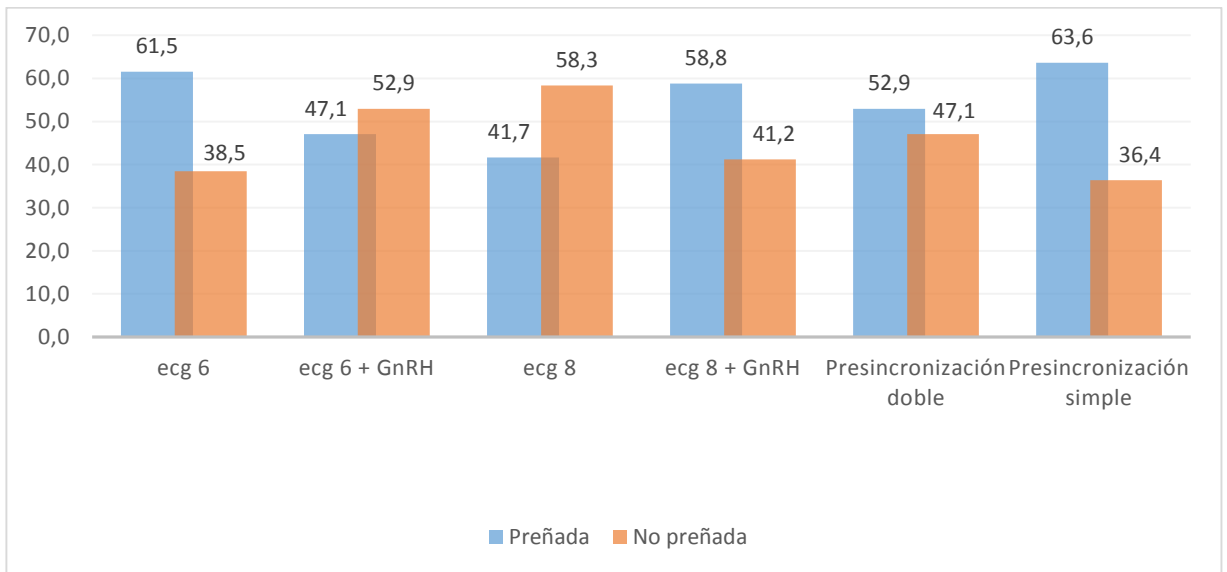
En columnas: Preñez

Tratamiento	No preñada	Preñada	Total
ecg 6	5	8	13
ecg 6 + GnRH	9	8	17
ecg 8	7	5	12
ecg 8 + GnRH	7	10	17
Presincronización doble	8	9	17
Presincronización simple	4	7	11
Total	40	47	87

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	1,94	5	0,8574
Chi Cuadrado MV-G2	1,95	5	0,8563
Coef. Conting. Cramer	0,11		
Coef. Conting. Pearson	0,15		

En la prueba de Chi cuadrado el valor 0,8574 indica que no existe relación sobre el porcentaje de preñez entre el tratamiento 2 (eCG día 6 + GnRH) y tratamiento 4 (eCG día 8 + GnRH) y así mismo entre el tratamiento 5 (PGF α dosis doble) y tratamiento 6 (PGF α dosis simple)

Grafica 8. Porcentaje de preñez



En esta grafica observamos los porcentajes de preñez obtenidos en cada tratamiento, los cuales no presentaron diferencia significativa.

10. RECURSOS

Humanos: Se contó con el apoyo de un médico veterinario, el cual realizo todo el proceso de sincronización de la ovulación, inseminación artificial y diagnóstico de preñez en las hembras bovinas involucradas en el estudio, será mi trabajo como alumna como asistente y recopiladora de información, y con todo el personal operativo de la finca.

Institucionales: En el presente trabajo estarán involucrada la Finca Aguas Claras ubicada en el Municipio de Cunday (Tolima) y la Universidad de Cundinamarca representada por la alumna Sarah E. Contreras como tesista

Físicos, logísticos y/o técnicos: la herramienta que se utilizara en este trabajo comprende de un termo con nitrógeno líquido conservador de semen, pajillas con semen, guantes con manga desechables plásticos, catéter, termo o recipiente de boca ancha para descongelar las pajuelas, toallas de papel, pistola de metal para inseminar (según la pajilla a utilizar), fundas plásticas desechables, corta-pajillas,

Recursos Económicos:

Este proyecto se presentó a una convocatoria interna de proyectos de investigación a través del semillero de investigación SIBREB, de esta forma se pretende obtener el apoyo económico en la realización de la investigación; de la misma forma se contará con el apoyo del propietario del predio en el cual se tiene proyectado la implementación de los protocolos de IATF.

Tabla 4: Presupuesto

CONCEPTO	PRESENTACIÓN	CANTIDAD	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
Dispositivo de Liberación de progesterona DIB	bolsa x 10 unidades	88 unidades	\$ 12.000	\$ 1.056.000
Benzoato de Estradiol	Frasco por 100 ml	264 ml	\$ 639	\$ 168.696
Gonadotrofina corionica equina eCG	Frasco por 1000 UI	32.200 UI	\$ 38.000	\$ 1.337.600
PGF2	Frasco por 20 ml	210 ml	\$ 2.875	\$ 603.750
GnRH	Frasco por 5 ml	110 ml	\$ 5.780	\$ 635.800
Pajilla	Pajilla congelada por 0.5 ml	88	\$30.000	\$ 2.640.000
IATF	Servicio desincronización, inseminación artificial y diagnostico reproductivo por animal	88	\$ 80.000	\$ 7.040.000
			TOTAL	\$ 13.481.846

Financiamiento:

El dueño de la finca asumirá los gastos de las hormonas y los desplazamientos del personal durante la sincronización, la inseminación artificial y el diagnostico de preñez.

11. CONCLUSIONES

- La administración de eCG al día 6 del protocolo de sincronización de la onda folicular en hembras bovinas doble propósito con cría, se relaciona a porcentajes de preñez superiores si esta es aplicada al día 8.
- La administración de una dosis simple de PgF2 α 11 días antes del inicio del protocolo de IATF, como inductor de la Luteolisis, presenta mayor porcentaje de preñez con relación a una presincronización a doble dosis de PgF2 α .
- El uso de GnRH como inductor de la ovulación no presento diferencias estadísticas con relación a su no aplicación, sin embargo, según las diferencias numéricas encontradas, mejora el porcentaje de preñez cuando es usado en un protocolo de IATF con eCG al día 8.
- Según resultados obtenidos, el diámetro folicular siempre será mayor cuando la eCG es aplicada al día 6 del protocolo, ya sea con presincronización o con GnRH como inductor de la ovulación, frente a la aplicación al día 8.
- Acorde con Vasconcelos et al., 2001, el tamaño del folículo ovulatorio influye en la formación y diámetro del subsecuente CL y su funcionamiento durante la fase lútea temprana, lo cual se relaciona con porcentajes de preñez mayores a mayor diámetro folicular.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Albani. F.O., Nascimento. V.A., Alves Torres V.A, Dias. M, Paulino, M.F, Penitente J.M (2008). Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. Lavras, Mg – UFLA.
- Asprón, M. A. (2004). Curso de Actualización - Manejo Reproductivo del Ganado Bovino.
- Ayres.H. (2011). O uso de FHS exógena estimula o crescimento folicular e a função luteínica de vacas Holandesas em lactação sincronizadas para la Inseminação Artificial em tempo fixo? São Paulo
- Baruselli ps, reis el, marques mo, nasser lf, bo ga. (2004) the use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *anim reprod sci* 82–83:479–86
- Bartolomea J.A., Melendez. P., Kelbert. D., Swift. K., McHale. J., Hernandez. J., Silvestre. F., Risco. C.A., Artech. A.C., Thatcher. W.W., Archbalda L.F.(2005) Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination, *Theriogenology*. 1;63(4):1026-37.
- Belloso, S. E.; Portillo, M. G., De Ondiz. A.; Rojas, N.; Soto, C. G.; Ramirez, I. L.; Perea, G. (2002). Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous suckled primiparus cows by treatment with norgestomet implants or 96 h calf removal. *theriogenology* 57, 1503-1510.
- Bó, G.A.; Cutaia, L.; Peres, L.C.; Pincinato, D.; Maraña, D.; Baruselli, P. S(2007). Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of bos indicus cattle. *Reproduction in domestic ruminants vi*, Juengel JI, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press. 223-236
- Bò. G.A., Cutaia, L. (2005). Estrategias para incrementar la preñez en vacas en anestro. *Manual de Ganadería Doble Propósito*. Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Universidad Católica de Córdoba, Argentina.
- Bò, G. A. (2004). Sincronización de celos para Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones en tiempo fijo. *Simposio sobre Control farmacológico del ciclo estral de rumiantes*. Universidad de San Pablo, Brasil Proc: 35 – 60
- BonDurant RH. (2007). Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. *Theriogenology*; 68:461-473.
- Colazo.M.G., Gordon. M.B., Rajamahendra. R., Mapletoft. R.J., Ambrose. D.J. (2009) Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin releasing hormone or porcine luteinizing hormone, *Canajda, Theriogenology* 72. 262–270
- Correa. O.A, Uribe.V.L.F.(2010) Body Condition Score as Tool to Predict the Reproductive Potential of Beef Cows, *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 5607-5619.
- De La Sota, R. L.; Soto, A. T.; Gobello, M. C. (2002). *Farmacología del estro y del parto*. Cap. 32 pp 423-434
- Dorneles. R.T., Ferreira.R., Tonello dos Santos J., Silveira de Andrade Neto , Barreta. M.H., Oliveira.J. F., Gonçalves.P.B., Neves.J., (2013), The effect of equine chorionic

gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Campus Universitário Curitibanos, Curitibanos, Santa Catarina, Brazil, Theriogenology* 1204–1209

- Echeverría, J. (2004). *Endocrinología Reproductiva: Hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH). Revisión bibliográfica. Boletín técnico elaborado para Laboratorio Biogénesis S.A*
- Emilio de Sous R. (2008). *manual técnico sobre sincronização e inseminação artificial em tempo fixo (iatf) em bovinos. São Paulo. cep 04379-020*
- Feresín, F., Taboada A.L. (2003). *Programas de sincronización y resincronización de celos utilizando Dispositivos con Progesterona y Estradiol en tambos comerciales. V° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba. Abstr 389.*
- García. Z. L. (2009) *plan de mejoramiento productivo y reproductivo en la unidad ganadera de la granja los alpes, corporación universitaria lasallista, facultad de ciencias administrativas y agropecuarias, industrias pecuarias, Caldas-Antioquia Gentry G.T., Walker, R.S. Gentry. L.R. (2016). Impacts of incorporation of follicle stimulating hormone into an estrous synchronization protocol for timed artificial insemination of crossbred beef cattle. Animal Reproduction Science* 168 .19–25
- Gaytán, F., Bellido, C., Morales, C., Sánchez. J.E., (1998). *Both prolactin and progesterone in proestrus are necessary for the induction of apoptosis in the regressing corpus luteum of the Rat. Biology of Reproduction* 59 1200–1206
- Giraldo, J. J. (2007) *Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos Revista Lasallista de Investigación, Corporación Universitaria Lasallista Antioquia, Colombia vol. 4, núm. 1, pp. 51-57*
- Gumen A., Keskin A., Yilmazbas G., Karakayaa E., Alkanb A., Okutç H y Wiltbank M.C. (2012). *Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows.*
- Lents, C.A., White F.J., Ciccioli. N.H., Wettemann. R.P., Spicer L.J., Lalman. D.L. (2008). *Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. Journal of Animal Science* 86(10): 2549-2556.
- Macmillan, K. L.; Burke, C. R. (1996). *Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. Anim. Reprod. Sci; 42: 307 – 320.*
- Martemucci G, D'Alessandro. A.G., (2011) *Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time, Department of Progettazione e Gestione dei Sistemi Agro-Zootecnici e Forestali - PRO.GE.S.A., University of Bari, Via Amendola, Animal Reproduction Science* 123 32–39.
- Martins, C.M., Valentim, R., Bombonato, D.S., Santos, I.C.C.; Baruselli, P.S. (2010). *Efeito do FSH e do eCG na dinâmica folicular e taxa de prenhez de protocolos de IATF em vacas zebuínas em anestro. SBTE,*
- Nebel. R., Dejarnete. M., (2016), *protocolos de sincronización para vacas lecheras, selective reproductive solutions.*

- Ospina C.A., Ramos C.A. (2013). efecto de la gonadotrofina coriónica equina (eCG), sobre el crecimiento del folículo preovulatorio y la tasa de preñez pos iatf, en vacas y novillas normando. universidad nacional de córdoba, Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC).
- Pérez Hernández, C. Sánchez del Real, J. Gallegos Sánchez. (2001). Anestro postparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico. Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. Vol. 16 (2).
- Pinheiro. V.G, Souza A.F., Pegorer M.F., Satrapa R.A ., Ereno R.L, Trinca L.A , Barros C.M. (2009) Effects of temporary calf removal and eCG on pregnancy rates to timed-insemination in progesterone-treated postpartum Nelore cows, Theriogenology 71 .519–524
- Piñeira. V. J. (2009), herramientas de última generación para mejoramiento genético animal. Revista, iniaTierradentro ganadería y pradesras. Colombia
- Restrepo. G., (2007) grupo de investigación en biotecnología animal -giba- politecnico colombiano jaimé isaza Cadavid. Medellín
- Ribeiro. E.S., Bisinotto. R.S., Favoreto M.G.,, Martins. L.T, Cerri. R.L., Silvestre.F.T., Greco L.F., Thatcher. W.W., Santos. J.E.P, (2012), Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F2a as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol, Animal Health, Bakersfield, California, USA, Theriogenology 78 273–284
- Rizwan. M., MartinsJ., Ahmad. N.,Nobis. M, Pursley. J.R., (2016), Presynchronization of lactating dairy cows with PGF2a and GnRH simultaneously, 7 days before Ovsynch have similar outcomes compared to G6G, Michigan, USA, Theriogenology 86 1607–1614
- Robson, C, Aller, J.E, Callejas, S, Cabodevila, J y Alberio, R.H. (2007) factores que afectan el anestro posparto en bovinos, fac. cs. vet. unicen, campus universitario, tandil, argentina.
- Rostami, B., Niasari-Naslaji, A. Vojgani, M., Nikjou, D., Amanlou, H., Gerami.A. (2011). Effect of eCG on early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows, Animal Reproduction Science 128. 100– 106Núñez O.R., (2011).Utilización de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en vacas de carne, sobre la tasa de preñez y pérdidas embrionarias en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo, Instituto de Reproducción Animal Córdoba.
- Rubio, I., Castillo. E., Soto R, Alarcón F., Murcia C, Galina.C.S, (2010). Postpartum follicular development in Brahman cows under two stocking rates. Tropical Animal Health and Production 42(3): 539-545.
- Sà Filho. M.F., Torres-Júnior. J.R.S., Penteado. L., Ferreira, R.M., Ayres. H., Castro e Paula L.A., Sales. J.N.S., Baruselli., P.S. (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
- Sales J.N.S, G.A. Crepaldi, R.W. Giroto, A.H. Souza, P.S. Baruselli, (2011) Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows, Animal Reproduction Science 124 12–18

- Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination, Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida, Theriogenology 63. 1026–1037
- Tamayo, M.; Bernal, A. y Campo, E. (2007). Biotecnología de la reproducción bovina. Factores que influyen en la transferencia de embriones.
- Veiga, P; Montiel, J; Chayer, R; Uslenghi, G. (2011). Effect of different esters of estradiol used to synchronize ovulation on pregnancy rate to FTAI in Angus heifers, Buenos Aires, 13(2): 39-45.
- Vasconcelos, J.L.M., Sá Filho O.G., Perez G.C. Silva. A.T (2009). Intravaginal progesterone device and/ or temporary weaning on reproductive performance of anestrus crossbred Angus x Nelore cows. Animal Reproduction Science 111:302-311.
- Wettemann, R.P., Lents. C.A., Ciccioli N, HWhite, F.J., Rubio I., (2003). Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. Journal of Animal Science 81 (E. Suppl. 2): E48-E59.