

**Evaluación de un protocolo de IATF con semen sexado en novillas de dos razas  
bovinas en el Norte de Antioquia.**

**Trabajo de grado para optar al título de Médico Veterinario**

**Jhordan Heidegger Zapata Montoya**

**Asesor**

**Jhonny Alberto Buitrago  
Médico Veterinario U. de A.  
Zootecnista UNAL.**

**Unilasallista Corporación Universitaria  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Medicina Veterinaria**

**Caldas – Antioquia**

**2021**

## Tabla de contenido

<b>Resumen .....</b>	<b>6</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>7</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>9</b>
<b>Objetivo general.....</b>	<b>9</b>
<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>9</b>
<b>Marco teórico.....</b>	<b>10</b>
<b>Ciclo estral en bovinos.....</b>	<b>10</b>
<b>Estro .....</b>	<b>10</b>
<b>Metaestro.....</b>	<b>10</b>
<b>Diestro .....</b>	<b>10</b>
<b>Proestro.....</b>	<b>11</b>
<b>Control hormonal del ciclo estral. ....</b>	<b>11</b>
<b>Estrógenos .....</b>	<b>11</b>
<b>Prostaglandina.....</b>	<b>12</b>
<b>Hormona Folículo Estimulante (FSH) .....</b>	<b>13</b>
<b>Hormona Luteinizante (LH).....</b>	<b>13</b>
<b>Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) .....</b>	<b>13</b>
<b>Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG).....</b>	<b>14</b>
<b>Progesterona.....</b>	<b>14</b>
<b>Diferencias en la fisiología reproductiva de novillas y vacas.....</b>	<b>15</b>
<b>Sexaje de semen .....</b>	<b>18</b>
<b>Recomendaciones para el uso de semen sexado en bovinos: .....</b>	<b>19</b>
<b>Protocolos de IATF en novillas lecheras .....</b>	<b>21</b>
<b>J-Synch.....</b>	<b>21</b>
<b>Progesterona inyectable + BE .....</b>	<b>22</b>
<b>Co-Synch 5 días.....</b>	<b>22</b>
<b>Materiales y métodos.....</b>	<b>24</b>

<b>Lugar de Estudio.....</b>	<b>24</b>
<b>Población de estudio.....</b>	<b>24</b>
<b>Protocolo IATF .....</b>	<b>25</b>
<b>Determinación de preñez .....</b>	<b>27</b>
<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>28</b>
<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>29</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>34</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>35</b>

## Índice de gráficas

<b>Gráfico 1. Citometría de flujo .....</b>	<b>19</b>
<b>Gráfico 2. Diferenciación de tamaño del cromosoma X-Y.....</b>	<b>20</b>
<b>Gráfico 3. Protocolo J-Synch .....</b>	<b>22</b>
<b>Gráfico 4. Protocolo Co-Synch .....</b>	<b>23</b>
<b>Gráfico 5 Esquema de calificación de la C.C en bovinos lecheros¡Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Gráfico 6 Protocolo y materiales de inseminación con semen sexado .....</b>	<b>26</b>
<b>Gráfico 7 Parche despintado e inseminación.....</b>	<b>27</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1. Fases del ciclo estral.....</b>	<b>11</b>
<b>Tabla 2. Hormonas utilizadas para el control del ciclo estral bovino.....</b>	<b>15</b>
<b>Tabla 3. Evaluación del tracto reproductivo en vaquillonas prepúberes.....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 4 Tasa de preñez trabajo semen sexado .....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 5 Relación útero - preñez. ....</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 6 Tabla cruzada Preñez*Útero.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 7 Tabla cruzada Preñez*Raza.....</b>	<b>32</b>

## Resumen

Con el propósito de poder competir con los grandes productores y tener mejor rentabilidad en el negocio de la ganadería de leche se han implementado nuevas alternativas como la IATF con semen sexado, la cual permite aumentar los nacimientos de hembras; sin embargo, se deben realizar trabajos investigativos para verificar el buen efecto de esta en el Norte de Antioquia.

La investigación que se desarrolló es de tipo cuantitativo y cuasiexperimental, en donde se evaluó a 170 novillas de la finca “Venecia”, perteneciente a la ganadería “Estación Pérez”. Para el uso del semen sexado, se estableció un protocolo de IATF con aplicación de eCG con el cual se analizaron datos como el grado de desarrollo reproductivo, la tasa de preñez y la relación con la raza. El estudio se realizó en 7 trabajos en el periodo de tiempo transcurrido desde el 29 de septiembre del 2019 al 12 de febrero del 2021; logrando tasas de preñez de 69,2% - 66,7% - 67,9% - 40,6% - 42,1% - 68,4% & 70,8% (Trabajo 1 al 7, respectivamente) y una tasa de preñez promedio de 60,8%. En la relación del grado de desarrollo reproductivo con la preñez (útero – preñez) se evidenció 0,4% más de preñeces en útero 3 (60,4%) en comparación a útero 2 (60%) con un análisis estadístico Chi – cuadrado de Pearson de 0,003 ( $P \leq 0,05$ ) desde el software IBM SPS Statistics Versión 25, evidenciando la significancia estadística. Por medio de análisis Chi – cuadrado para evaluar la relación y respuesta preñez – raza, se obtuvo que la raza influye en la preñez, con un Chi – cuadrado de Pearson de 0,019 ( $P \leq 0,05$ ) y evidenciándose que el cruce *Parhol* tiene mejor respuesta.

**Palabras claves:** Reproducción, Bovinos, Semen Sexado, eCG, IATF.

## Introducción

La reproducción es uno de los pilares de cualquier producción ganadera, especialmente aquellas dedicadas a la lechería, ya que su producción está directamente relacionada con el número de partos obtenidos (Bach & España, 2002; Barco Santamaría, 2018).

El uso de biotecnologías, especialmente la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y el sexado de semen, han sido una herramienta para mejorar los índices reproductivos y la calidad genética de los hatos, llevando a mejorar la producción (Foote, 2002) (Saharrea Medina, 2016). Adicionalmente el uso de semen sexado, al permitir producir crías de un determinado sexo en dependencia del tipo de producción que se tenga, mejora la rentabilidad al disminuir las pérdidas económicas por la producción crías de sexo indeseado (Capitaine Funes, 2008; FEDEGAN - SENA, 2013; Marizancén Silva & Artunduaga Pimentel, 2017).

El uso de las biotecnologías como la IATF con semen sexado en los pequeños sistemas productivos son una herramienta que les permiten mantenerse en el mercado, en el caso específico de la lechería le permite al productor obtener crías hembras de alta calidad genética que pueden ser mantenidas en el sistema como hembras de remplazo, permitiendo así el mejoramiento de su hato y por ende de su producción. (Sánchez Paniagua & Martínez Pastor, 2013; Alvarez Baldor, 2015; Capitaine Funes, 2008)

Aunque en la literatura se han reportado una gran diversidad de protocolos de IATF con semen sexado pocos han sido evaluados en las

condiciones de Colombia, y no se han encontrado reportes que evalúen su efectividad en los sistemas de la cuenca lechera del norte de Antioquia, por lo que en este trabajo se busca evaluar la efectividad de un protocolo de IATF con semen sexado en novillas *Holstein* y *Holstein x Pardo Suizo*, de una producción lechera del municipio de Santa Rosa de osos. (Lagioia, y otros, 2008; Nascimbene, Tarditi, & Brunello, 2019; Ortega Coello, López Parra, & Marini, 2020).

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

- Evaluar un protocolo de IATF con eCG en novillas de 2 razas bovinas en el Norte de Antioquia.

### **Objetivos específicos**

- Establecer la tasa de preñez usando un protocolo de IATF con eCG en novillas de 2 razas bovinas en el Norte de Antioquia.
- Determinar la tasa de manifestación de celo presentado por novillas de dos razas bovinas sometidas a un protocolo de IATF con eCG de 2 razas bovinas en el Norte de Antioquia.

## **Marco teórico**

### **Ciclo estral en bovinos**

El ciclo estral bovino involucra una serie compleja de transformaciones fisiológicas, histológicas y morfológicas que actúan bajo influjos neurohormonales (Capallejas, 2009). La hembra bovina presenta ciclos estrales en intervalos de 18 a 23 días, divididos en 4 etapas:

#### **Estro**

Tiene una duración de 18 a 24 horas. Es provocado por el incremento significativo de las concentraciones de estradiol producido por el folículo preovulatorio y por la ausencia de un cuerpo lúteo (Cerón, 2016).

#### **Metaestro**

Tiene una duración de 3 a 4 días. En este periodo ocurre la ovulación en la vaca, y comienza la organización celular y el desarrollo del cuerpo lúteo. La ovulación es espontánea, ocurriendo entre las 10 a 20 horas posteriores a la terminación del celo, desencadenada por el pico preovulatorio de LH. (Palma, 2001)

#### **Diestro**

Tiene una duración de 12 a 14 días, siendo el estadio más largo del ciclo estral. Se caracteriza por la presencia de un Cuerpo lúteo (CL) funcional y el incremento en las concentraciones de progesterona. Este periodo finaliza si la gestación no se establece, el endometrio secreta

prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), lo cual resulta en la regresión del CL y en la reducción de la producción de progesterona. (Portillo Martínez, 2018).

### **Proestro**

Tiene una duración de 2 a 3 días. Se caracteriza por la ausencia de un cuerpo lúteo funcional, por el desarrollo y maduración del folículo ovulatorio y el incremento de la frecuencia de los pulsos de secreción de LH que conducen a la maduración final del folículo ovulatorio y al incremento de estradiol sérico, lo que desencadena el estro (Cerón, 2016).

**Tabla 1. Fases del ciclo estral**

<b>FASE</b>	<b>DÍA</b>	<b>DURACIÓN</b>	<b>EVENTO</b>
<b>Estro</b>	0	10 - 12 hrs.	Maduración Folicular, altos niveles de Estrógeno y pico de LH
<b>Metaestro</b>	1 - 3	5 - 7 días	Ovulación (dentro de las 12-18 hrs.), formación del Cuerpo Hemorrágico que no responde a la PGF 2 $\alpha$
<b>Diestro</b>	5 -18	10 - 15 días	Maduración del Cuerpo Lúteo - Altos niveles de Progesterona.
<b>Proestro</b>	19 - 21	3 días	Regresión del Cuerpo Lúteo, maduración del folículo e incremento de estrógenos.

**Fuente:** Modificado de Shearer (2003).

### **Control hormonal del ciclo estral.**

#### **Estrógenos**

Se producen en la teca interna del folículo ovárico bajo la estimulación de las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) y en la placenta. Por retroalimentación negativa, los valores sanguíneos de estrógenos inhiben la secreción de FSH y LH se debe a un control neurohumoral influido en parte, por variables como horas de luz, nutrición,

genética, estímulos olfatorios (feromonas), entre otros (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

Los estrógenos son las hormonas que promueven la maduración y diferenciación de los órganos sexuales primarios y secundarios (oviductos, vagina, glándulas accesorias, etc.), así como la expresión de los caracteres sexuales secundarios, incluyendo el comportamiento sexual. También aumentan la vascularización de los órganos sexuales primarios y accesorios; estimulan el crecimiento endometrial y epitelial en general e inducen el crecimiento tubular en la glándula mamaria (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

### **Prostaglandina**

Los prostanoïdes son metabolitos obtenidos del ácido araquidónico a través de la vía metabólica conocida como ciclooxigenasa. Uno de ellos es la  $PGF_{2\alpha}$ , sustancia con actividad marcada sobre el control del ciclo estral. La  $PGF$  se produce en el endometrio, siendo transportada por el mecanismo de contracorriente útero-ovárico, ejerciendo su acción específica de luteólisis sobre el cuerpo lúteo del ovario; mecanismo propio de los bovinos y porcinos. También provoca contracciones uterinas favoreciendo el transporte de espermatozoides y el parto (González Stagnaro, Madrid Bury, & Soto Belloso, 2008).

La única actividad útil que desarrolla la  $PGF_{2\alpha}$  o sus análogos es la de inducir una luteólisis prematura y, en consecuencia, una caída de los niveles de progesterona; al desaparecer el feed back negativo se reanuda

una secuencia de eventos hormonales y ováricos que deben culminar en un celo ovulatorio (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

### **Hormona Folículo Estimulante (FSH)**

Promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o de Graff en la hembra. No causa la secreción de estrógeno del ovario por si sola, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno (González Stagnaro, Madrid Bury, & Soto Belloso, 2008).

### **Hormona Luteinizante (LH)**

La función de la LH es reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL). Ejerce su acción uniéndose a receptores de membrana en las células de la granulosa y tecales del folículo preovulatorio. (Castañeda Martínez, 2009)

### **Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH)**

Esta hormona controla la liberación adenohipofisaria de FSH y de LH. Estas dos pasan a la circulación mediante la secreción tónica pulsátil en el macho y la hembra; durante el ciclo estral es de tipo cíclico en la hembra. La liberación tónica de GnRH es controlada por un mecanismo de retroalimentación negativa que ejercen la FSH y LH sobre el hipotálamo y la hipófisis (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006).

### **Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG)**

Como su nombre lo indica la eCG es una hormona producida por yeguas gestantes, específicamente en las copas endometriales, esta hormona cuando es usada en los rumiantes, se une a los receptores de LH y FSH del folículo, estimulando el desarrollo folicular, y en el cuerpo lúteo estimula la secreción de progesterona. La eCG se ha utilizado en los programas de superovulación, y en el manejo del anestro posparto para inducir la ciclicidad. En estos programas se inyecta la eCG al momento de retirar el progestágeno, lo cual favorece el desarrollo folicular y la presentación del estro (Cerón, 2016).

### **Progesterona**

La progesterona (P4) es una hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo (CL) y por la placenta que tiene papel fundamental en los eventos reproductivos y establecimiento, y mantenimiento de la gestación. (Davanço, 2016)

La progesterona natural tiene una vida media muy corta, de 3-4 minutos, por lo que es más común el uso de progestágenos o análogos de la progesterona, los cuales requieren dosis menores, sin producir efectos secundarios. Los progestágenos son secretados por el cuerpo lúteo ovárico, la placenta, la corteza suprarrenal y en menor cantidad los testículos. La progesterona suspende la secreción de gonadotropinas hipofisarias, y prepara al útero para la gestación al bloquear la capacidad contráctil del miometrio y permitir la implantación. Además, influye en el desarrollo del sistema tubuloalveolar de la glándula mamaria. Uno de sus

efectos más importantes es que retarda la ovulación al inhibir la secreción de FSH y LH. (Sumano López & Ocampo Camberos, 2006)

**Tabla 2. Hormonas utilizadas para el control del ciclo estral bovino.**

HORMONAS	ORIGEN	FUNCIÓN	PRESENTACIÓN COMERCIAL
<b>Estrógenos</b>	Folículos ováricos.	Crecimiento del útero, comportamiento estral, secreción de moco cervical y liberación de LH para la ovulación	Benzoato: Sincrodiol® – Benzoato de Estradiol®. Cipionato: Sincro CP® – Cipionato® – Cipiosyn®.
<b>Prostaglandina</b>	Útero (endometrio).	Regresión del cuerpo lúteo.	Ciclar® – Sincrocio® – Estrumate® – Zincrocel®.
<b>FSH</b>	Adenohipófisis.	Crecimiento y producción folicular.	Se usan los análogos de la GnRH o eCG.
<b>LH</b>	Adenohipófisis.	Maduración final del folículo, ovulación y formación del cuerpo lúteo.	
<b>GnRH</b>	Hipotálamo.	Estimulación y liberación de FSH y LH.	Gestar® – Buserelina® – Maxpren®.
<b>eCG</b>	Cálices endometriales en yegua gestante.	Efecto FSH y LH.	Sincro eCG® – Novormón® – Sincval®.
<b>Progesterona</b>	Cuerpo lúteo, placenta, corteza suprarrenal.	Preparación del útero para la implantación del embrión y la gestación.	Sincrogest® de 1gr. – Dispocel® de 600mg. – Prociclar® de 750mg. – CIDR® de 1,38gr.

**Fuente:** Elaboración propia.

### **Diferencias en la fisiología reproductiva de novillas y vacas.**

Existen algunas diferencias fisiológicas entre las novillas y las vacas adultas, razón por la cual las novillas expresan el celo con mayor intensidad y por un mayor periodo de tiempo, por lo que en estas se ve facilitada la detección de celos en los programas de IA. Estas diferencias se relacionan con la mayor exigencias metabólica que presentan las vacas adultas, lo que hacen que grandes cantidades de sangre circulen a nivel hepático y favorecen una rápida desaparición del estradiol del torrente circulatorio

(Monge, 2016; Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004; Wolfenson, y otros, 2004; Pursley, y otros, 1997).

Otra diferencia observada es una mayor tasa de concepción y una menor cantidad de servicios por concepción en las novillas, esto se atribuye a la dinámica folicular, pues en la mayoría de las vacas se presentan dos oleadas de crecimiento folicular, mientras que alrededor del 50% de las novillas presentan al menos tres oleadas de crecimiento folicular, aspecto que condiciona los tratamientos de sincronización de celo y ovulación (Monge, 2016; Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004; Wolfenson, y otros, 2004; Pursley, y otros, 1997).

Aunque las vacas en lactancia tienen folículos ovulatorios más grandes, las concentraciones máximas de estradiol sérico alrededor del celo inferiores a las de las novillas y las vacas no lactantes (De La Sota, Lucy, Staples, & Thatcher, 1993; Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004). Estas menores concentraciones de estradiol se han relacionado con una capacidad esteroideogénica inferior del folículo preovulatorio o con un mayor metabolismo del estradiol en las vacas en lactación que en novillas o vacas no lactantes (Sangsrivong, Combs, Sartori, & Wiltbank, 2002). Por esta razón en la vaca en lactación el folículo preovulatorio dominante tiene que crecer a un tamaño más grande y estar presente durante más tiempo para llegar a una concentración de estradiol suficiente para iniciar la cascada luteolítica y posteriormente inducir el aumento de GnRH para la ovulación (Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004). Las concentraciones reducidas de estradiol preovulatorio circulante podrían ser una de las principales razones de la alteración de la fisiología reproductiva en vacas en lactación, lo

que conduce a una menor duración e intensidad del estro conductual (Nebel, Jobst, Dransfield, Pansolfi, & Bailey, 1997).

Una menor concentración de estradiol alrededor de la ovulación podría causar una mala fertilización y pobre desarrollo embrionario temprano (King, Anderson, & Killian, 1994). Si los niveles séricos de estradiol son bajos, la influencia inhibidora de estradiol sobre la liberación de FSH disminuye. Precisamente, una pequeña pero significativa concentración de FSH más alta se produce durante el ciclo estral en las vacas en comparación con las novillas. Una concentración más alta de FSH induciría el crecimiento de más de un folículo grande y una mayor tasa de ovulaciones dobles (Wolfenson, y otros, 2004). Las vacas en periodo de lactación presentan una mayor incidencia de ovulaciones múltiples. Este hecho explica también la mayor tasa de gemelos en las vacas multíparas en comparación con las vacas primíparas (Kinsel, Marsh, Ruegg, & Etherington, 1998).

Las vacas en lactación desarrollan más volumen de tejido luteal que las novillas, el cual puede ser detectado desde el día 4 del ciclo (Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004).

Existe una correlación positiva entre el tamaño del folículo ovulatorio y el volumen del cuerpo lúteo, por lo que vacas en lactación al tener un folículo ovulatorio más grande, tendrán un CL mayor (Vasconcelos, Sartori, Oliveira, Guenther, & Wiltbank, 2001). Sin embargo, aunque el tejido lúteo es más grande, la concentración de progesterona en suero es menor en las vacas que en las novillas, probablemente debido también al mayor metabolismo de esteroides de las vacas en lactación (Sartori, Haughian, Shaver, Rosa, & Wiltbank, 2004; Wolfenson, y otros, 2004).

Además, una menor concentración de progesterona sérica, permitiría mayor frecuencia de pulso de LH, causando una maduración prematura del ovocito y dando lugar a la ovulación de un ovocito de menor edad; después del pico de GnRH inducido por el estradiol. Esto podría contribuir también a reducir la fecundidad observada en vacas en lactación, en comparación con las novillas. (Revah & Butler, 1996)

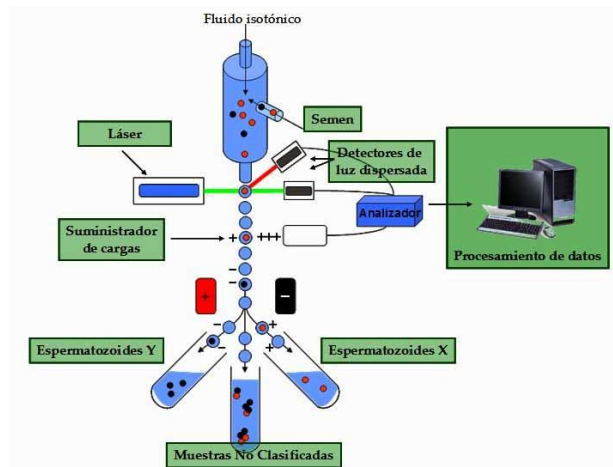
### **Sexaje de semen**

Las células se pueden distinguir y seleccionar basados en el tamaño y la forma, así como también la presencia de diferentes moléculas internas o en la superficie de la célula, citometría es un término genérico que se aplica a cualquier tecnología que se usa para la medición, recuento, comparación u otra caracterización de células. El sexaje de semen se realiza a través del citómetro de flujo, en donde uno de sus usos es la diferenciación de ADN, ampliamente usado en zootecnia como recurso para producir animales con sexo deseado, el citómetro de flujo data desde los años setenta, pero ha sufrido modificaciones haciéndolo más efectivo, veloz y accesible a empresas dedicadas a la producción de semen sexado a nivel mundial, brindándole la posibilidad a pequeños y medianos productores de mejorar sus ganaderías dando. (Mora Muñoz, 2018)

Esta técnica permite la separación de espermatozoides X – Y en su contenido de ADN, teniendo en cuenta la concentración y calidad espermática, debido a que pueden considerarse los factores más importantes en la separación de población espermática. En el caso del toro,

se deben tener en cuenta tres ítems básicos, los cuales son: libido elevada, perfectas condiciones en la evaluación física reproductiva y óptima calidad espermática. (León, Sánchez, & Rodríguez, 2019)

### **Gráfico 1. Citometría de flujo**



**Fuente:** León y colaboradores (2019).

El proceso se basa en hacer la separación de espermatozoides X y Y, los cuales son necesarios para dar origen a un nuevo ser, siendo la codificación de macho XY y la de la hembra XX, como el cromosoma X tiene 3,8% más de ADN, permite que la separación cromosómica sea más eficiente. (León, Sánchez, & Rodríguez, 2019)

### **Recomendaciones para el uso de semen sexado en bovinos:**

1. Usarlo solamente en vaquillas vírgenes o en vacas con excelentes antecedentes de concepción con IA.

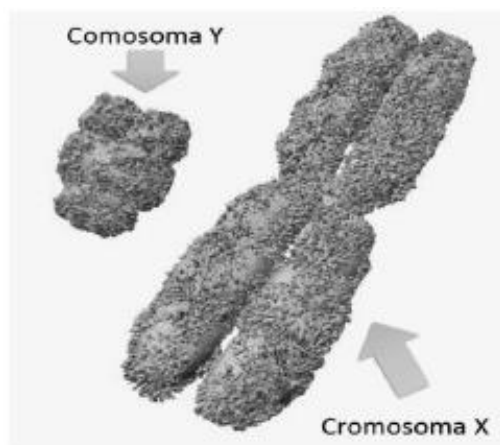
2. Inseminar de 14 a 16 horas después de los primeros signos de estro. El semen sexado debe usarse en animales que muestren signos claros de un buen celo.

3. Evitar el uso de semen sexado en vacas que han recibido más de 2 o 3 servicios.

4. El semen sexado debe usarse en programas de IA bien establecidos y de preferencia por técnicos inseminadores con experiencia.

5. Evitar usar semen sexado en animales que se encuentren en cualquier tipo de situación estresante que pueda comprometer los porcentajes de concepción. (Romo García, 2016).

**Gráfico 2. Diferenciación de tamaño del cromosoma X-Y.**



**Fuente:** Mora Muñoz (2018).

Si bien la utilización de semen sexado mantuvo gran interés en los últimos 20 años para inseminar novillas de leche, el uso masivo del semen sexado se vio de alguna manera limitado debido a que con la tecnología

disponible hasta hace unos pocos años la fertilidad estaba muy comprometida y solo se adaptaba a su utilización con detección de celos. Sin embargo, se han desarrollado recientemente nuevos procedimientos simplificados y menos traumáticos para los espermatozoides sexados, que permiten obtener tasas de concepción que se acercan mucho a las obtenidas con semen convencional (no sexado). Esta nueva tecnología consta de nuevos métodos para la manipulación y procesado antes de la separación espermática, fundamentalmente cambios en la composición de los medios utilizados en los estadios del proceso de separación, promoviendo un ambiente más inocuo que evita cambios de pH y temperatura, respetando la integridad de los espermatozoides. (Bó G. , 2018)

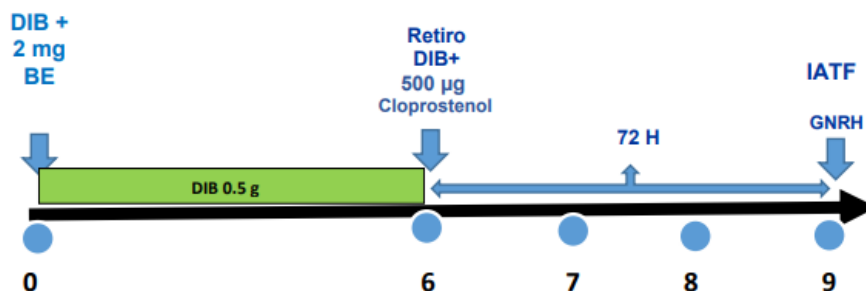
## **Protocolos de IATF en novillas lecheras**

### **J-Synch**

- **Día 0:** Todas las novillas reciben un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (DIB 0,5 gr.) y 2 mg de benzoato de estradiol.
- **Día 6:** Se retira el dispositivo intravaginal, se aplica una dosis de 150 µg de D-Cloprostenol, y se aplica un parche o raya la base de la cola con marcador especial. En algunos protocolos se inyectan 300 UI de eCG.
- **Día 9:** Todas las novillas despintadas son inseminadas en ese momento, si no están despintadas, se les aplica 100 µg de GnRH o 21 µg

de Buserelina. (Lagioia, y otros, 2008; Ortega Coello, López Parra, & Marini, 2020)

### Gráfico 3. Protocolo J-Synch



Fuente: Ortega Coello y Colaboradores (2020).

### Progesterona inyectable + BE

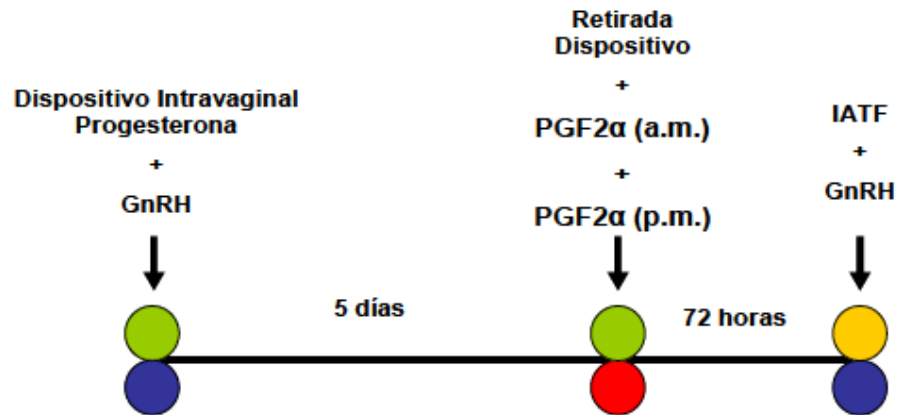
- **Día 0:** Se aplica una dosis de 250 mg de progesterona inyectable más 2 mg de benzoato de estradiol.
- **Día 8:** Se inyectan 500 µg de cloprostenol sódico y 350 UI de eCG.
- **Día 9:** Se aplica 1 mg de benzoato de estradiol para sincronizar la ovulación.
- **Día 10:** Inseminación artificial. (Nascimbene, Tarditi, & Brunello, 2019)

### Co-Synch 5 días

- **Día 0:** Se aplica un dispositivo intravaginal más una GnRH
- **Día 5:** Se retira el DIB y se inyecta una Prostaglandina AM y de nuevo PM.

- **Día 8:** Se inyecta una dosis de GnRH y se realiza la inseminación artificial. (Alvarez Baldor, 2015).

**Gráfico 4. Protocolo Co-Synch**



**Fuente:** Alvarez Baldor (2015)

## **Materiales y métodos**

### **Lugar de Estudio**

El trabajo fue realizado en la finca “Venecia”, predio perteneciente a la ganadería “Estación Pérez” ubicada en la vereda El Carmen, del municipio de Santa Rosa de Osos en el norte de Antioquia, con una altitud de 2.550 msnm y con una temperatura media anual de 13,3°C. Los cuales datan desde el 29 de septiembre del 2019 al 12 de febrero del 2021.

### **Población de estudio**

Se uso un protocolo de IATF en 100 novillas Holstein y 70 novillas del cruce racial *Pardo suizo x Holstein (Parhol)* distribuidas en 7 lotes separados, con una edad de 16 a 24 meses, una condición corporal promedio de 3.0 a 3.5 (escala de 1 a 5) y un peso base para entrar en el programa de 340kg, todas en aptas condiciones sanitarias.

. Los animales fueron criadas bajo un manejo intensivo, y eran alimentadas con ración totalmente mezclada con un concentrado comercial y pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), agua y sal mineralizada ad libitum. Todos los animales se encontraban con una condición corporal de 3.2 a 3.7 en escala de 5, con el plan sanitario al día.

Como base para el desarrollo reproductivo se utilizó la clasificación representada en la tabla 1. Entrando en el programa las novillas que presentaban Útero 3 -Tono 2 o Útero 2 - Tono 2.y con estructuras ováricas (Cuerpo lúteo “CL” o Folículo “F”).

**Tabla 3. Evaluación del tracto reproductivo en novillas prepúberes.**

<b>Útero 1.</b>	< 1 cm.
<b>Útero 2.</b>	1 a 1,5 cm.
<b>Útero 3.</b>	> 1,5 cm.
<b>Tono 1.</b>	Sin tono.
<b>Tono 2.</b>	Poco tono.
<b>Tono 3.</b>	Buen tono, erecto.
<b>Ovario 1.</b>	< 1 cm.
<b>Ovario 2.</b>	1 a 1,5 cm.
<b>Ovario 3.</b>	> 1,5 cm.

**Fuente:** Bó & Evans (2014).

### **Protocolo IATF**

Al momento de iniciar el tratamiento en cada lote se procedió a implantar un dispositivo intravaginal bovino (DIB) y a aplicar benzoato de estradiol, siete días después se retiró el dispositivo y se aplicó un análogo de prostaglandina f2a, gonadotropina coriónica equina y estradiol, adicionalmente se usó un parche marcador para detectar las hembras que entraban en celo, para realizar la inseminación al décimo día de iniciado el protocolo (gráfico 6).

### Gráfico 5 Protocolo y materiales de inseminación con semen sexado



**Fuente:** Elaboración propia.

La inseminación se realizó con semen sexado comercial de toros *Holstein* (SexedULTRA 4M; ST Genetics). Solo se inseminaron las novillas que entraron en celo (novillas que tenían el parche despintado, gráfico 8), las que no mostraron se le aplicó GnRH y se inseminaron a las 6 horas con semen convencional.

**Gráfico 6** Parche despintado e inseminación



*Fuente: Elaboración propia.*

### **Determinación de preñez**

Desde el día 18 posterior a la inseminación se evaluó el no retorno al celo. Para determinar el total de hembras preñadas y establecer la tasa de preñez en cada uno de los trabajos, se realizó examen ecográfico 35 a 40 días después de la inseminación.

**Análisis estadístico**

Se realizó un análisis descriptivo de las variables de estudio, y las posibles relaciones se determinaron mediante un análisis de Chi-cuadrado de Pearson desde el software IBM SPSS Statistics Versión 25.

## Resultados y discusión

De los 170 animales solo respondieron al tratamiento 166 correspondientes a 97 novillas *Holstein* y 69 novillas *Pardo suizo x Holstein*. Se logro una tasa de gestación mayor al 50% en casi todos los lotes y un promedio general de 60,8% (tabla 4).

**Tabla 4 Tasa de preñez trabajo semen sexado**

<b>Lote 1</b>		<b>Lote 5</b>	
Total animales	29	Total animales	19
Total inseminados	26	Total inseminados	19
Total preñeces	18	Total preñeces	8
Tasa de preñez (%)	69,2	Tasa de preñez (%)	42,1
<b>Lote 2</b>		<b>Lote 6</b>	
Total animales	18	Total animales	19
Total inseminados	18	Total inseminados	19
Total preñeces	12	Total preñeces	13
Tasa de preñez (%)	66,7	Tasa de preñez (%)	68,4
<b>Lote 3</b>		<b>Lote 7</b>	
Total animales	28	Total animales	25
Total inseminados	28	Total inseminados	24
Total preñeces	19	Total preñeces	17
Tasa de preñez (%)	67,9	Tasa de preñez (%)	70,8
<b>Lote 4</b>		<b>RESULTADO GENERAL</b>	
Total animales	32	<b>Total animales</b>	<b>170</b>
Total inseminados	32	<b>Total inseminados</b>	<b>166</b>
Total preñeces	13	<b>Total preñeces</b>	<b>100</b>
Tasa de preñez (%)	40,6	<b>Promedio tasa de preñez (%)</b>	<b>60,8</b>

Los resultados obtenidos en la tasa de gestación son similares a los estudios realizados por Saenz (2019) y Cutaia et al (2007), pero superiores a los obtenidos en otros estudios, como el de Mora (2018), quien evaluó la tasa de concepción en novillas *Holstein* con semen sexado y semen convencional, obteniendo una tasa de concepción promedio de 45% para semen sexado y de 56% (rango de 34 a 83%) con semen convencional (Mora Muñoz, 2018), esta diferencia puede ser debida al uso de eCG

dentro del protocolo IATF, que mejoraría el tamaño del folículo preovulatorio, el tamaño del cuerpo lúteo, el porcentaje de ovulación y los niveles de progesterona que generan condiciones adecuadas para que se produzca la fecundación y se lleve a cabo la gestación. (Erbiti, Lissarrague, & Cabodevila, 2018).

El uso de la eCG en protocolos de IATF es útil cuando se utilizan de 300 a 400 UI, en animales comprometidos metabólicamente; así, ayuda al crecimiento folicular, incrementa el tamaño del folículo preovulatorio y las concentraciones plasmáticas de progesterona tras la ovulación. (Sanz, Macmillan, & Colazo, 2019). Wallace (2014) obtuvo una tasa de concepción dos veces mayor en novillas respecto a vacas multíparas (47,5% vs 24,4% respectivamente) en protocolos de inseminación en los que se usaba una dosis de 400 UI eCG.

Los resultados de este estudio están en contraposición a lo indicado por algunos autores, como Puerto (2019), quien indica que el semen sexado no debe ser usado en novillas con implementación de protocolos de IATF, debido a que la eficacia de preñez es reducida (Puerto Rodríguez, 2019).

Según el grado de desarrollo uterino se obtuvo no hubo diferencias significativas en las preñeces obtenidas en úteros grado 2 y grado 3 (tabla 5). Esto contrastan con lo reportado por múltiples autores que indican que las novillas con GDR 2 presentan una tasa de concepción significativamente menor que las novillas con GDR 3 y 4 (Dahlen, Lamb, Zehnder, Miller, & DiCostanzo, 2003; Martin, et al., 2010 citado en Leonetti, et al., 2015). Montero et al (2009), reporto que las novillas con GDR 4 tienen 3,2 veces más posibilidades de preñarse que una con GDR 2 y 1,39 veces más que las de GDR 3 (Montero, Chayer, Rodríguez, & Callejas, 2009).

**Tabla 5 Relación útero - preñez.**

	<b>TOTAL ANIMALES</b>	<b>TOTAL PREÑECES</b>	<b>TASA DE PREÑEZ (%)</b>
<b>ÚTERO 2</b>	70	42	60,0
<b>ÚTERO 3</b>	96	58	60,4

Tomando los valores obtenidos en la relación del GDR y la preñez ( útero 3 > 0,4% veces que útero 2), aunque estos resultados sean válidos para los trabajos propuestos, no son comparables con los obtenidos en el presente trabajo, ya que son condiciones experimentales diferentes, ninguno fue con semen sexado y puede que haya discrepancias al momento de comparar las escalas para el GDR, aunque pueden servir de referencia general en nuestro trabajo, que al hacer un análisis comparativo debería tener aproximadamente 2,3 veces más posibilidades de preñarse una novilla con útero 3 que una con útero 2 como lo reporta la literatura; dejando los valores obtenidos en este trabajo, abiertos a otros posibles estudios teniendo en cuenta todas las posibles variables.

La prueba Chi cuadrado (con significancia estadística  $P < 0,05$ ) mostro una alta relación preñez – útero con un valor Chi cuadrado de 0,003 (tabla 6), confirmando lo reportado por la literatura, en donde el desarrollo uterino que tienen las novillas al momento de iniciar con un servicio (sea natural o IATF) influye sobre la eficiencia reproductiva de las mismas.

Tabla 6 Tabla cruzada Preñez\*Útero

RECuento		ÚTERO		Total	Valor Chi-cuadrado de Pearson
		2	3		
Palpación	Preñada	42	58	100	0,003
	Vacía	28	38	66	
Total		70	96	166	

Evaluando la respuesta al tratamiento según la raza, mediante análisis Chi – cuadrado, se logra evidenciar una mayor respuesta en el cruce *Pardo suizo x Holstein (Parhol)* en la tabla 7. Al hacer la relación raza – preñez, se obtiene un valor Chi cuadrado de 0,019 logrando la significancia estadística ( $P < 0,05$ ).

Tabla 7 Tabla cruzada Preñez\*Raza

RECuento		RAZA		Total	Valor Chi-cuadrado de Pearson
		H	PH		
Palpación	Preñada	58 (59.8%)	42 (60.8%)	100 (59.8%)	0,019
	Vacía	39 (40.2%)	27 (39.1%)	66 (40.1%)	
Total		97 (100%)	69 (100%)	166 (100%)	

En cuanto a la comparación reproductiva entre los cruces raciales, son pocos los trabajos en los que se evalúen estas razas y en especial muy limitada la información de la tasa de preñez, podemos encontrar y relacionar los datos obtenidos por (García y García, 1988) en el trabajo realizado sobre producción y reproducción de los grupos raciales *Holstein*, *Holstein x Guernsey*, *Pardo Suizo*, *Jersey* y *Holstein x Brahman*, en el cual se evidencia que las *Pardo suizo* y algunos cruces con *Holstein* tienen mejor fertilidad, evaluando los servicios por preñez (SPP) en la cual las *Pardo suizo* fueron las mejores (1.63 SPP) en comparación a las demás: *Holstein* (1.75), *Holstein x Guernsey*

(1.96), *Jersey* (1.73) y *Holstein x Brahman* (1.64), corroborando esto al compararlo con (Murillo, 1982 en García y García, 1988) que encontró para las *Pardo suizo* un SPP de 1.65 y para *Holstein* de 1.69. (Huertas et al.,1971 en García y García, 1988) lograron valores de 3.0 SPP para *Holstein* y 2.6 para *Pardo suizo*; evidenciándose que las *Pardo suizo* tienen mejor fertilidad, aunque no es mucha la diferencia y que posiblemente al hacer un híbrido (*Parhol*) se puedan obtener unos resultados positivos influenciados por el grupo racial *Pardo suizo*, como lo reportan (Vargas Leitón & Romero Zuñiga, 2010) al estudiar los efectos genéticos aditivos y no aditivos en cruces rotacionales *Holstein x Jersey* y *Holstein x Pardo suizo*, en donde afirman que estos últimos tienen un efecto aditivo directo significativo, en cuanto a los días abiertos; ya que tienden a bajar conforme aumenta la fracción de la raza Pardo Suizo, aunque esto aplicaría para vacas, puede tomarse como ayudar al pequeño productor para mejorar su genética y con base en esto sus parámetros reproductivos.

Relacionado a la fertilidad atribuida a la raza *Pardo suizo*, (Moncayo Montalvo, 2004) encontró que entre mayor sea la fracción de *Pardo suizo*, menor serán los servicios por concepción (S/C) dando como resultado 2.01 para PS6H2 (6 partes de *Pardo suizo* x 2 *Holstein*) en comparación a la raza pura *Holstein* (H8) 2.54 S/C y a mayor fracción de *Holstein* (H5PS3) 2.77 S/C, evidenciándose un mayor número de servicios por concepción para los cruces raciales con mayor fracción de *Holstein*. La raza Pardo Suizo y los cruces PS5H3, PS6H2, H4PS4, H6PS2 y H7PS1 superaron a los demás cruces en las características reproductivas (Moncayo Montalvo, 2004)

## **Conclusiones**

Según los resultados obtenidos en este estudio la incorporación de eCG en los protocolos de sincronización de novillas mejora las tasas de concepción obtenidas en cuando se implementan programas de IATF con semen sexado, por lo que esta biotecnología puede ser una opción para los productores del Municipio de Santa Rosa de Osos que deseen aumentar la obtención de crías hembras. Sin embargo el protocolo con eCG con semen sexado queda abierto a otros trabajos, en el que se pueda evaluar con un tamaño de muestra mayor: la tasa de ovulación, la presencia de folículo dominante y la comparación con el semen convencional.

## Referencias

- Alvarez Baldor, A. F. (2015). *Aportaciones al control reproductivo de las novillas frisonas en la provincia de León (España)*. León: Universidad de León Facultad de Veterinaria.
- Bach, A., & España, P. (2002). *La reproducción del vacuno lechero: Nutrición y Fisiología*. XVII Curso de Especialización FEDNA.
- Barco Santamaría, L. C. (2018). *Comparación del porcentaje de preñez y días abiertos en vacas holstein con inseminación artificial a tiempo fijo vs inseminación artificial a celo detectado*. Ciencia Universidad de La Salle.
- Bó, G. (2018). *Uso de semen sexado en bovinos: Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas y vaquillonas de carne*. Sitio Argentino de Producción Animal.
- Bó, G. A. (2014). *Fisiología de la pubertad en vaquillonas*. Argentina: Instituto de Reproducción Animal Córdoba.
- Capallejas, R. B. (2009). *Fisiología de la reproducción animal*. La Habana: Félix Varela.
- Capitaine Funes, A. (2008). Semen sexado, una técnica que llegó para quedarse. *Producir XXI*, 16(197), 54-57.
- Castañeda Martínez, L. (2009). *Fisiología de la reproducción desde la fecundación hasta la implantación embrionaria*. Ciencia Universidad de La Salle.
- Cerón, J. H. (2016). *Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros*. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cutaia, L. E., Veneranda, G., & Bo, G. (2007). Semen sexado, una herramienta tecnológica para el tambo. *Producir XXI*, 15(188), 52-57.
- Dahlen, R., Lamb, G., Zehnder, C., Miller, L., & DiCostanzo, A. (2003). Fixed-time insemination in peripuberal, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, 59(8), 1827-1837.
- Davanço, F. D. (2016). La importancia de la progesterona. *Entorno Ganadero*, 76, 1-3.
- De La Sota, R., Lucy, M., Staples, C., & Thatcher, W. (1993). Effects of recombinant bovine somatotrophin (Sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 76, 1002-1013.
- Erbiti, F., Lissarrague, C., & Cabodevila, J. &. (2018). Efecto de algunas variables sobre la preñez de vaquillonas post-inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista veterinaria*, 29(1), 35-39.
- Evans, G. A. (2014). *Fisiología de la Pubertad en Vaquillonas*. Irac.Biogen.

- FEDEGAN - SENA. (2013). *Costos modales en ganadería de leche. Trópico alto de Colombia: ventana a la competitividad ganadera*. Bogotá: Oficina de Investigaciones Económicas de Fedegán.
- Foot, R. H. (2002). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, 80, 1-10.
- García y García, M. G. (1988). *Producción y reproducción de los grupos raciales Holstein, Holstein x Guernsey, Pardo suizo, Jersey y Holstein x Brahman en el hato de la escuela agrícola panamericana*. Escuela agrícola panamericana.
- González Stagnaro, C., Madrid Bury, N., & Soto Belloso, E. (2008). Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito. En C. González Stagnaro, N. Madrid Bury, & E. Soto Belloso, *Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito* (págs. 515-526). Maracaibo: GIRARZ.
- King, R., Anderson, S., & Killian, G. (1994). Effect of bovine oviductal estrus-associated protein on the ability of sperm to capacitate and fertilize oocytes. *J. Androl.*, 15, 468–478.
- Kinsel, M., Marsh, W., Ruegg, P., & Etherington, W. (1998). Risk factors for twinning in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 81, 989–993.
- Lagioia, J., Loguercio, J., Young, S., Basualdo, M., Feula, P., Santarena, A., & Panarace, M. &. (2008). Inseminación artificial a tiempo fijo con semen sexado en vaquillonas. *Taurus, Bs, As, Centro de Investigaciones Reproductivas Pérez Compac, Goyaike, Ea*, 10(39), 22-25.
- León, L., Sánchez, H., & Rodríguez, L. (2019). *Semen Sexado en Ganado Bovino*. Ibagué: Universidad Cooperativa de Colombia Sede Ibagué Espinal.
- Leonetti, T. J., Chayer, R., González Chaves, S., Cabodevila, J., & Callejas, S. (2015). *Efecto de un complejo vitamínico-mineral sobre la preñez post-IATF*. Tandil: Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA.
- Marizancén Silva, M. A., & Artunduaga Pimentel, L. (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 247-259.
- Martin, M., Chayer, R., Rodríguez, E., & Callejas, S. (2010). *Evaluación de un sistema de manejo reproductivo diferencial de vaquillonas de acuerdo al Grado de Desarrollo Reproductivo*. Buenos Aires: Tesina.
- Moncayo Montalvo, G. J. (2004). *Evaluación del desempeño productivo y reproductivo de las razas Holstein, Pardo Suizo y sus cruces en dos fincas de Honduras y una de Costa Rica*. Zamorano.
- Monge, A. (2016). *Manejo reproductivo de la novilla de reposición*. España: Zoetis.

- Montero, V., Chayer, R., Rodríguez, E., & Callejas, S. (2009). Efecto del grado de desarrollo reproductivo sobre la preñez de vaquillonas de 15 meses con servicio natural. *Taurus*, 11(43), 28-32.
- Mora Muñoz, V. (2018). *Uso del semen sexado en bovinos, seminario de profundización*. Villavicencio: Universidad Cooperativa de Colombia .
- Nascimbene, A., Tarditi, J., & Brunello, G. &. (2019). Uso de progesterona inyectable en un protocolo para IATF en vaquillonas holando argentino con semen sexado. *Simposio Internacional de Reproducción Animal*, 13, 294.
- Nebel, R., Jobst, S., Dransfield, M., Pansolfi, S., & Bailey, T. (1997). Use of a radio frequency data communication system, HeatWatch, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 80, 179.
- Ortega Coello, M., López Parra, J., & Marini, P. R. (2020). Utilización de un protocolo con proestro prolongado con y sin ECG en vacas lecheras holstein en la Amazonía ecuatoriana. *Asociación Peruana de Reproducción Animal*, 10(1), 18-25.
- Palma, G. A. (2001). *Biotechnología de la Reproducción*. Machala, Ecuador: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Portillo Martínez, G. E. (2018). *Fisiología de la reproducción bovina (diferencias entre el ganado europeo y cebú)*. Recuperado el 14 de 03 de 2021, de <https://zoovetesmipasion.com/ganaderia/reproduccion-bovina/fisiologia-de-la-reproduccion-bovina/>
- Puerto Rodríguez, L. F. (2019). *Semen Sexado en Ganado Bovino*. Universidad Cooperativa de Colombia.
- Pursley, J., Wiltbank, M., Stevenson, J., Ottobre, J., Garverick, H., & Anderson, L. (1997). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.*, 80, 295-300.
- Revah, I., & Butler, W. (1996). Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, 106, 39–47.
- Romo García, S. (15 de Febrero de 2016). *Ganaderia.com*. Obtenido de <https://www.ganaderia.com/destacado/Recomendaciones-practicas-para-el-uso-de-semen-y-embriones-sexados>
- Saharrea Medina, A. (2016). *Uso de la inseminación artificial para mejorar la producción de carne y leche en la ganadería tropical*. Recuperado el 14 de 03 de 2021, de <https://www.ganaderia.com/destacado/Uso-de-la-inseminacion-artificial-para-mejorar-la-produccion-de-carne-y-leche-en-la-ganaderia-tropical>
- Sánchez Paniagua, D. I., & Martínez Pastor, F. (2013). *El uso de las biotecnologías como la IATF con semen sexado y la fertilidad del toro*. INDEGSAL.

- Sangsritavong, S., Combs, D., Sartori, R., & Wiltbank, M. (2002). High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 $\beta$  in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 85, 2831–2842.
- Sanz, A., Macmillan, K., & Colazo, M. G. (2019). Revisión de los programas de sincronización ovárica basados en el uso de hormona liberadora de gonadotropinas y prostaglandina F2 $\alpha$  para novillas de leche y de carne. *Información Técnica Económica Agraria*, 115(4), 326-341.
- Sartori, R., Haughian, J., Shaver, R., Rosa, G., & Wiltbank, M. (2004). Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 905-920.
- Shearer, J. K. (2003). *Reproductive anatomy and physiology of dairy cattle*. University of Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- Sumano López, H., & Ocampo Camberos, L. (2006). *Farmacología veterinaria*.
- Vargas Leitón, B., & Romero Zuñiga, J. J. (2010). Efectos genéticos aditivos y no aditivos en cruces rotacionales Holstein  $\times$  Jersey y Holstein  $\times$  Pardo suizo. *Agronomía Mesoamericana*, 21(2), 223-234.
- Vasconcelos, J., Sartori, R., Oliveira, H., Guenther, J., & Wiltbank, M. (2001). Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56, 307–314.
- Wallace Pérez, S. (2014). *Manejo Reproductivo Sistemático en Rodeos Lecheros*. Uruguay: Zoetis.
- Wolfenson, D., Bartol, F., Badinga, L., Barros, C., Marple, D., & Cummins, K. (2004). Secretion of PGF2 $\alpha$  and oxytocin during hyperthermia in cyclic and pregnant heifers. *Theriogenology*, 39, 1129-1141.