

**Evaluación de la tasa de preñez en un protocolo de Inseminación
Artificial a Tiempo Fijo (IATF) con variaciones en la dosis y tiempo
de aplicación de la prostaglandina en novillas cebú comerciales del
trópico bajo colombiano**

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Oscar Andrés Franco Jaramillo

Asesor

Esp. Jorge Andrés Prada Torres

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Programa de Medicina Veterinaria

Caldas - Antioquia

2017

CONTENIDO

Introducción.....	6
Justificación.....	9
Objetivos	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos	11
Marco teórico	12
Desarrollo sexual en la hembra bovina.....	14
La pubertad en hembras.....	14
Metabolismo de las prostaglandinas.....	16
Regulación neuroendocrina y endocrina de la función ovárica.....	17
Regulación neuroendocrina de la función ovárica	17
Regulación endocrina de la función ovárica	18
Fase folicular o de regresión luteal:.....	19
Fase preovulatoria:.....	20
Fase luteal:.....	22
Función del cuerpo luteal.....	25
Factores luteotróficos	26
Factores luteolíticos.....	27
Aspectos morfológicos.....	28
Dinámica folicular	29
Desarrollo folicular durante el ciclo estral	29
Mecanismos de acción de las gonadotropinas	32
Condición corporal y alimentación	33
Medicamentos y materiales de trabajo	34

Normas elementales de higiene y procedimientos.....	36
Diagnóstico de preñez	37
Metodología	39
Parámetros de selección.....	39
Protocolo sincronización 5D-SYNCH + CIDR	40
Resultados	45
Conclusiones y recomendaciones.....	47
Referencias	49

Lista de tablas

Tabla 1. Correlación entre las escalas 1 a 5 y 1 a 9 para CC.....	39
Tabla 2. Valores y estado de preñez según número de cada animal, edad, peso y raza.....	42
Tabla 3. Significancia según raza, peso, edad y tratamientos	45

Lista de figuras

Figura 1. Protocolo IATF cinco días (5-d CO-Synch + CIDR)	14
Figura 2. Representación esquemática del ciclo estral y las ondas de crecimiento folicular	24
Figura 3. Presentación esquemática del protocolo 5-d CO – Synch + CIDR ..	41

Introducción

El hombre en la relación con los animales ha logrado reconocer las características productivas interviniendo la genética animal, con el fin de aumentar su producción y así obtener mejores ingresos que se reflejaban en su calidad de vida, Siendo la reproducción el pilar para acercarse a este fin. Fue la reproducción programada la que condujo a un aceleramiento de la selección del súper animal. Con el aprovechamiento de la variabilidad genética se pudo criar animales que respondían mejor al fenotipo establecido, o sea aquellos que poseían las características externas deseadas. Con el tiempo se establecieron programas de mejoramiento que no respondían solamente al deseo de una persona sino de varias y más tarde al objetivo de agrupaciones de criadores (asociaciones). El empleo de la genética poblacional como también de los métodos genéticos–estadísticos; junto con la aplicación de la inseminación artificial, el desarrollo de exigentes programa de selección y evaluación de la descendencia. Con las biotecnologías se alcanzó un nivel, el cual es posible la manipulación dirigida del genoma o determinados genes con mayor rapidez. Es posible además alcanzar la manifestación de algunas particularidades productivas, las cuales con la selección natural o programas de mejoramiento tradicional serian difíciles de alcanzar.

Las técnicas reproductivas abarcan la inseminación, la congelación de semen, la micro manipulación, la producción in vitro de embriones y congelación al igual que la clonación. Los tratamientos hormonales de inducción y sincronización del celo de las hembras receptoras de semen y embriones como así también de las donantes de

embriones, garantizan en muchos casos que las mencionadas técnicas se cumplan con éxito.

Las técnicas reproductivas de mayor aplicación son la inseminación artificial (en adelante IA) y con ella la congelación de semen. Una de las ventajas de la IA es la disminución de las enfermedades infecciosas transmitidas a través de la cópula, la celeridad para obtener una mayor descendencia por el uso masivo de pajillas inseminando un sinnúmero de hembras simultáneamente. De esta forma es posible aprovechar el potencial de los machos en forma intensiva y mejorar así la estimación del valor genético de los reproductores, dado que las particularidades heredables son mejor evaluadas con un gran número descendencia.

La sincronización de celos es una técnica complementaria a la inseminación artificial que modifica los ciclos estrales de un grupo de hembras. A nivel individual hay cambios hormonales que logran desarrollar un ciclo estral homogeneizado para todas las hembras, lo que permite programar celos fértiles en uno o unos días, llevando así la ejecución de la IA de un gran número de animales en un periodo de tiempo establecido (fechas concretas), esta técnica permite una gran cantidad de crías “al mismo tiempo”, por otro lado se seleccionan toros de alta calidad genética, que además de corregir características fenotípicas o genotípicas permiten acelerar de manera considerable el proceso de mejoramiento genético que es el principal fin de la IA.

A pesar de que la IA es considerada una de las técnicas más apropiada para acelerar el avance genético y el retorno económico en una explotación de cría, el porcentaje de hatos trabajando bajo estos esquemas es notablemente bajo y más aún

es el caso para la IATF, por lo que es de suma importancia demostrar bajo estudios científicos que existen protocolos de IATF que permiten obtener un retorno económico positivo además de aumentar la tasa de preñez obtenidas en novillas sometidas a un protocolo de IATF bajo unas condiciones climáticas específicas.

Justificación

El uso de los tratamientos hormonales para sincronizar las hembras bovinas y obtener unas ovulaciones sincrónicas, a través del control de las ondas de desarrollo folicular del ovario, aplicando GnRH y un posterior efecto por medio de agentes luteolíticos como es el análogo sintético de las Prostaglandinas F2 α (Crupe LH, 2011), permiten inseminar colectivamente un numeroso grupo de vientres en un corto periodo de tiempo, puesto que al hacer una inseminación a término fijo se cubrirán las novillas sirviendo todo el lote que se tenga programado.

Esta técnica constituye un avance de gran importancia en las empresas ganaderas para la aplicación de la inseminación artificial y una herramienta, que sin dudas abre nuevos horizontes para que la industria ganadera sea competitiva y rentable. Las ventajas más importantes de IATF son:

- Las programaciones de trabajo se darán en lapsos muy definidos de tiempo, lo cual hace que el trabajo se concentre, dando mejor aprovechamiento de mano de obra (Garrido, 2011).
- Disminución en el tiempo de los animales dentro del programa de inseminación artificial pues se hace IA con el servicio de repaso con toros, en 60 días se concentrara el 90% de las vacas preñadas (Garrido, 2011).
- Se logra una concentración de los nacimientos en los meses del año lo que permite así hacer una programación de los meses en que queremos los partos, lo que nos lleva a saber determinar cuando las condiciones ambientales son las más favorables para la ocupación del potrero. También con el calendario comercial se

determina la programación de los meses cuando la oferta y la demanda sean más ventajosas. Hablamos de una mayor uniformidad del hato, puesto que el uso de toros probados para IA son superiores a los del hato dentro de la finca, aumentando la producción por ende la calidad genética de los reemplazos. Los toros para el uso en la monta natural son disminuidos en la finca.

- Disminución en días abiertos al igual que el intervalo entre partos, pues en vacas posparto se anticipa la salida del anestro y el retorno al celo (Garrido, 2011).

Dentro de los contras están las limitantes de los altos costos en los programas de inseminación a tiempo fijo, pues los tratamientos y específicamente el implante o dispositivo que se utilice, independientemente de la casa comercial que lo provea, suman altos costos totales. Como alternativa se tiene el uso de implantes reutilizables, amortizando los costos de los mismos en dos usos reduciendo así la inversión significativamente.

Como alternativa de manejo para evitar o disminuir la detección de celos y acortar el intervalo parto-parto se han desarrollado protocolos de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (en adelante IATF), utilizando DIB de progesterona (Dispositivo Intravaginal de liberación Lenta de Progesterona), Prostaglandina F₂ α , gonadotropina coriónica equina (eCG), estrógenos y hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Mediante el uso de la IATF se elimina la variable detección de celos, la cual es el principal factor para pérdidas económicas en las ganaderías debido al inadecuado conocimiento de los signos que presenta el animal, y también por factores raciales, edad, condición corporal, entre otros.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar las tasas de preñez obtenidas en novillas sometidas a un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) con variaciones en la dosis y tiempo de aplicación de la prostaglandina.

Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad de la aplicación de dos dosis de prostaglandina con intervalos de seis horas en el momento del retiro del dispositivo intravaginal.
- Evaluar la efectividad de la aplicación de una dosis doble de prostaglandina en el momento del retiro del dispositivo intravaginal.
- Determinar la viabilidad de aplicar un protocolo IATF en novillas bajo las condiciones del trópico en el municipio de Acandí, departamento del Chocó.
- Evaluar la incidencia de la edad y peso de las novillas sobre la tasa de preñez para llevar a cabo el protocolo de IATF.

Marco teórico

La práctica de la IA demanda un sinnúmero de recursos que se pueden catalogar entre tangibles e intangibles. Como ejemplo de ello se observan recursos del sector primario, recursos genéticos, recursos logísticos, recursos financieros, recursos humanos, entre otros. Esto nos trae demanda de tiempo, mano de obra, equipo y contribución monetaria que pueden impedir su integración como estrategia de manejo reproductivo para los productores. Todo lo anterior trae consigo unas limitaciones, lo que conlleva a seguir investigando en el desarrollo y el perfeccionamiento de los protocolos de IA. El incremento en el uso de la IA a través de la implementación de programas de IATF maximiza la incorporación de animales de alta genética al hato.

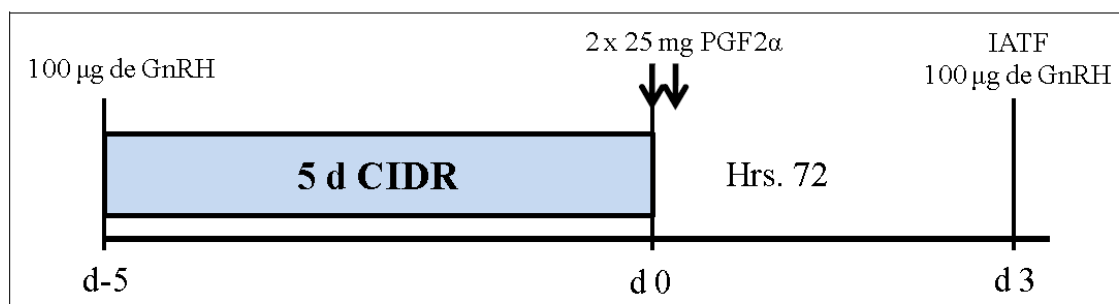
Uno de los programas de IATF más comúnmente utilizados en el ganado de carne de los Estados Unidos es el programa *CO-Synch* (Geary TW, 1998). Programa de sincronización 5-D CO-SYNCH + CIDR en vacas posparto de carne. El protocolo de cinco días (5-d CO-Synch + CIDR) (ver figura 1) fue desarrollado en la Universidad Estatal de Ohio (The Ohio State University) en los últimos siete años, y ha sido ampliamente recomendado para la sincronización de IATF en vacas de carne. Este protocolo incrementa en un 10.5% puntos porcentuales la tasa de preñez a IATF comparado con el programa de sincronización tradicional de siete días CO-Synch + CIDR (Bridges GA, 2008). En promedio la tasa de preñez alcanzada con el programa 5-d CO-Synch + CIDR es de 68% en estudios realizados en 23 hatos y en tres Estados diferentes. En contraste, el promedio de la tasa de preñez a la IATF para el programa de siete días es del 54% en estudios realizados en 14 hatos en siete Estados diferentes (Larson, 2006).

Al implementar este tipo de protocolos, el principal mecanismo de acción de la progesterona es evitar la presentación del estro y la ovulación, se emplea junto con la GnRH para provocar la regresión del folículo dominante independientemente de la fase del ciclo estral y la formación de una nueva onda folicular aproximadamente en tres a cuatro días posteriores, permitir una diferenciación normal de las células de la granulosa, una expresión normal del celo, mejorando las tasas de preñez (Dowell, 2013).

La utilización de prostaglandina F_{2α} en el protocolo de IATF para permitir la luteólisis reduciendo las concentraciones séricas de progesterona (<1 ng/mL), que al mismo tiempo se requieren para que se incremente de manera rápida y frecuente la secreción de LH que lleve a la ovulación (Randel, 1998), en su estímulo sobre las células internas y alrededor del folículo dominante, las cuales permiten un retroalimentación a favor del oocito para que reanude la maduración citoplasmática y nuclear y sea liberado del folículo (Ball, 2004).

El hipotálamo produce y sintetizan la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), esta permite por el sistema portahipofisiario la estimulación y posterior secreción tónica o cíclica de LH y FSH. En los protocolos hormonales, se administra al inicio del tratamiento (Kohram, 1998), en el momento del implante del dispositivo liberador de progesterona, para controlar la dinámica folicular o posterior al retiro del mismo, con el fin de asegurar la ovulación del folículo dominante (Sá Filho, 2011).

Figura 1. Protocolo IATF cinco días (5-d CO-Synch + CIDR)



Desarrollo sexual en la hembra bovina

La pubertad en hembras

La pubertad es el tiempo donde se encuentra el estro y la ovulación y se hace posible una preñez. Los órganos de la reproducción se hacen funcionales en este periodo alcanzando su máximo desarrollo. Esta se presenta a diferentes edades, y responde a factores como raza, heredabilidad, nutrición, clima, etc. La funcionalidad de los ovarios se activa al llegar la pubertad, con la ovulación con la siguiente formación del cuerpo lúteo (CL). Todo sucede involucrando no solo los órganos sexuales sino también cambios en el sistema neuroendocrino lo cual hacen que haya un desarrollo de madurez que se manifestara con la capacidad de concebir por parte de la hembra.

La pubertad es importante pues acontece la capacidad en la hembra de iniciar la vida reproductiva y entre más pronto inicie permitirá captar ganancias para la explotación (Reynolds, 1963). La interacción de varias hormonas hipotalámicas e hipofisarias estimulan al ovario para dar un óvulo y la presencia de libido. Los niveles en la concentración de GnRH y FSH, antes y después del primer ciclo estral no varían determinadamente (González Padilla, 1975).

Durante el periodo prepuberal y la pubertad, la novilla presenta cambios en los niveles de LH. Hay una primera elevación de LH 10 (+/-) días antes del celo, posteriormente otra de la misma magnitud durante el estro. Para el segundo caso es indispensable para que se presente ovulación (González Padilla, 1975).

Se podría decir que el aparato reproductor de la hembra prepúber está listo para responder al estímulo hormonal desde el nacimiento. Se han realizado estudios donde se han inducido a la ovulación en hembras pre púberes, por medio de eCG y HCG (Reynolds, 1963), lo que hace pensar la posibilidad de realizar el trasplante de embriones; decimos que estas contienen más de 100.000 folículos primordiales (Ericson, 1966).

La influencia genética es muy marcada entre razas puras con híbridas. La pubertad se retrasa con los cruces consanguíneos y se acortan con cruces entre razas. Un estudio sobre un reducido número de animales de raza y los productos de sus cruces demostró que los segundos alcanzan la pubertad en edades intermedias a las correspondientes a las razas progenitoras (Long, 1979). Otros investigadores, encontraron cierta influencia del padre sobre la edad en que las hembras alcanzan su pubertad (Reynolds, 1963).

La pubertad también va relacionada con la talla de la raza. Los cruces de Jersey alcanzan la pubertad mucho más rápido que las razas de talla intermedia (Hereford , Angus y Shouth Devon, Limosín y Simental), mientras que los cruces de talla grande (Charolais) lo hacen a una mayor edad (Laster, 1978).

En el área nutricional, el factor alimenticio hace demasiado hincapié en el desarrollo del animal. La subalimentación prolonga el lapso que media hasta la pubertad,

la sobrealimentación lo acorta (Laster, 1978). Las condiciones adversas, sean temperatura, humedad o nutrición, afectan notablemente el desarrollo temprano de la pubertad.

Metabolismo de las prostaglandinas

Ha surgido interés desde 1960 por este grupo de ácidos grasos no saturados de 20 carbonos que se ha podido establecer en diferentes tejidos del cuerpo en mamíferos. Las prostaglandinas poseen un metabolismo acelerado que actúan como hormonas locales actuando sobre tejido cercano al sitio de su formación. Las prostaglandinas se originan del ácido araquidónico, que provienen de fosfolípidos o triglicéridos de membrana, teniendo acciones fisiológicas muy importantes. Algunos tienen efectos vasodilatadores, como las prostaglandinas E₂, mientras que otros como los tromboxanos A₂, son vasoconstrictores. En el riñón se sintetiza también prostaglandina pero con efectos vasodilatadores y disminución de la absorción de sodio y disminución en la reabsorción de agua, ejerciendo un mecanismo hipotensor. Las prostaglandinas regulan los efectos del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona y a su vez ejercen retroalimentación sobre el mismo.

Las prostaglandinas como PGE₂, PGF₂α (luteolítico), PGA₁ (inhibición de la secreción gástrica), PGE₁ y PGE₂ (dilatación bronquial), PGA₁ (vasodilatación y diuresis) y PGE₁ (inhibición de la acumulación de plaquetas).

La prostaglandina (PGF) se llamó así porque es soluble en fosfato, mientras que la (PGE) es más soluble en éter (García, 1995). McCracken (1971) propuso el mecanismo de intercambio contra corriente, ya que la arteria ovárica sigue su curso tortuoso estrechamente adherente a lo largo de la vena uterina ovárica. Sobre el sistema reproductor de las hembras las prostaglandinas $PGF_{2\alpha}$ y PGE tienen efectos importantes (McCracken, 1971). La $PGF_{2\alpha}$ producida en el endometrio entra a la vena uterina, donde está en una concentración relativamente alta. La arteria ovárica está en íntima relación con la vena útero-ovárica. En efecto, hay un íntimo contacto con la vena uterina, la $PGF_{2\alpha}$ producida en el endometrio entra a la vena uterina, donde está en una concentración relativamente alta. La arteria ovárica está en íntima relación con la vena útero-ovárica (Weems, 2006). En efecto, hay un íntimo contacto con la vena uterina, donde la $PGF_{2\alpha}$ es transferida a través de las paredes de la vena útero-ovárica a la sangre de la arteria ovárica, donde la luteolisina se encuentra en una concentración relativamente menor (Hunzicker-Dunn, 2006). El sistema de intercambio de contracorriente está presente en vacas, cerdas, y ovejas pero no en yeguas. Las yeguas no metabolizan la $PGF_{2\alpha}$ tan rápido como otras especies (Spencer, 2004).

Regulación neuroendocrina y endocrina de la función ovárica

Regulación neuroendocrina de la función ovárica

El control de la secreción de gonadotrópica. La secreción de gonadotropinas hipofisarias (LH y FSH), es el principal factor que regula la función ovárica. Neuronas

hipotalámicas especializadas, producen y secretan la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que controla la función hipofisaria. A su vez, otros sistemas de neuronas (catecolaminérgicas y opioidérgicas) integran la información del medio externo (luz, temperatura, olores, interacciones sociales) e interno (concentración de esteroides), y convergen sobre la neurona hipotalámicas especializadas (decapeptidérgica) para regular su función (Kalra, 1984). La GnRH es secretada en forma de pulsos discretos (Clarke, 1988) que, vía sistema portahipofisario, alcanza la adenohipófisis. Los pulsos de GnRH determinan la secreción típica de pulsos LH/FSH.

Los esteroides ováricos afectan la secreción de LH/FSH a través de un mecanismo de retroalimentación negativo (Goodman, 1980). La progesterona (P4) inhibe la liberación de LH, que es secretada en pulsos característicos de baja frecuencia (1 c/6-8 h) y gran amplitud durante la fase luteal (Rahe, 1980). Cuando se produce la luteolisis, la concentración de P4 en sangre disminuye y aumenta la frecuencia de los pulsos de LH. Estos estimulan la producción de Andrógenos tecales, que son convertidos a E2 en las células de la granulosa. El E2 estimula la secreción de pulsos de LH de alta frecuencia, pero de baja amplitud (Karsch, 1987). En el control de la secreción de FSH interviene, además de E2; la inhibina que es un péptido de origen ovárico (Findlay, 1987).

Regulación endocrina de la función ovárica

El ciclo estral (CE) de la vaca tiene una extensión media de 21 días. El celo dura aproximadamente 18 h y la ovulación tiene lugar 15 h después de la finalización del

mismo. El CL se desarrolla y la secreción de P4 aumenta entre el 4 y 12 día del ciclo y permanece constante hasta la luteolisis. La regresión del CL es variable y ocurre entre el día 15 y el 20. El CE se puede dividir en tres fases o etapas: (Hansel, 1983):

- Fase folicular o de regresión luteal
- Fase pre y ovulatoria
- Fase luteal (Hansel, 1983).

Fase folicular o de regresión luteal:

Las concentraciones de progesterona (P4) en sangre caen abruptamente a niveles 1 ng/ml entre las 24-36 h de iniciada la luteolisis, ya sea en forma natural (Dieleman & Bevers, 1986) o inducida por PGF₂ α (Schams, 1987). La caída de bajas concentraciones de progesterona (P4) a un nivel "umbral" determinado, en presencia de concentraciones bajas de estradiol (E2), elimina la retroalimentación negativa sobre la secreción del factor liberador de gonadotropinas (GNRH), en el hipotálamo. Consecuentemente, aumenta la frecuencia de la descarga hormona luteinizante (LH) y, en menor grado, la hormona folículo estimulante (FSH) (Schams, 1987). En esta fase la hipófisis secreta aproximadamente 1 pulso de LH/FSH cada 60 min. El incremento en la frecuencia de LH/FSH estimula el desarrollo de un folículo grande, que secreta cantidades crecientes de estradiol (E2). El E2 se secreta en forma de pulsos, que son detectados en la vena cava (Schams, 1987), concomitantes o inmediatamente después de los pulsos de LH. Dieleman & Bevers (1986) Determinaron que un folículo con un

diámetro de <8 mm alcanza un tamaño preovulatorio (20 mm) durante los 2,5 días a la onda de LH.

Fase preovulatoria:

En este periodo hay importantes sucesos: inicio del celo, onda preovulatoria de gonadotropinas y ovulación. El intervalo entre la luteolisis y el comienzo del celo es de 58-60 h aproximadamente (Dieleman & Bevers, 1986). Los niveles de E2 aumentan desde la regresión luteal hasta alcanzar un declive el día previo al inicio del celo. Dicha elevación de E2 provoca comportamiento propio del celo (Hurnik, 1987) y desencadena la onda preovulatoria de LH. Esta tiene una duración de 6-10 h, se inicia junto con el celo y alcanza su valor máximo (pico) 4-5 h más tarde. Tanto la LH como FSH siguen un patrón pulsátil durante la onda preovulatoria (Rahe, 1980).

El estradiol (E2) actúa mediante los siguientes mecanismos para desencadenar la secreción preovulatoria de LH:

- Aumenta la sensibilidad hipofisaria al estímulo de la GnRH (Kesner, 1981). Los estrógenos modifican la secreción de las gonadotropinas hipofisarias mediante los dos mecanismos de retroalimentación. El mecanismo de retroalimentación negativa se origina por las bajas concentraciones de estrógenos, produciendo la inhibición en la amplitud de los pulsos secretores de gonadotropinas. Retroalimentación positiva se origina por el progresivo incremento en la concentración de estrógenos, durante las fases de crecimiento folicular, al actuar

estos sobre la región pre óptica anterior del hipotálamo. Este efecto positivo origina un aumento en la frecuencia pulsátil de la secreción de GnRH que se traduce en la oleada preovulatoria de LH (pico de LH), (García, 1995).

- Aumenta el número de receptores (Schoenemann, 1985) para GnRH en las células hipofisarias.
- Estimula la síntesis de gonadotropinas, dado el incremento que se observa en el contenido de ARNm para estas hormonas previo y durante la onda de LH (Landefeld, 1985).
- Aumenta el efecto preparador de la GnRH (Kesner, 1981), esto es, el proceso mediante el cual la GnRH incrementa la respuesta hipofisaria a exposiciones sucesivas de esta hormona.
- Establece un mecanismo a nivel hipotalámico que culmina en la liberación de una onda de GnRH, que a su vez induce la onda de gonadotropinas (Hansel, 1983). Las observaciones de (Walters, 1984) determinaron que las concentraciones de E2 disminuyen al menos durante los 60 minutos previos al comienzo de la onda de LH y aumenta con su iniciación.

Después de la onda preovulatoria, no se detectan pulsos de LH durante 6-12 h (Walters, 1984), lo que refleja el agotamiento del contenido pituitario de esa hormona. Sin embargo, la secreción de FSH continúa y se produce un segundo pico de la misma (Bridges, 2008), que parece deberse a la remoción del retroalimentación negativa de la inhibina al destruirse su fuente de producción (folículo) al momento de la ovulación.

Fase luteal:

El CL se desarrolla completamente durante la primera semana posovulación y la concentración de P4 en plasma aumenta hasta alcanzar un pico al día 10 del ciclo (Denis, 1997). A la ovulación sigue la hemorragia, el folículo lleno de sangre y ya desprovisto del huevo se convierte en cuerpo hemorrágico (*corpus hemorrhagicum*) y sirve como medio nutritivo para la proliferación de las células luteínicas; el coágulo sirve como almacén y como medio nutritivo hasta que surge el aporte vascular adecuado (Mc Donald, 1987).

Después de la ovulación las células de la granulosa permanecen intactas, comenzando a hipertrofiarse y se cargan de lípidos para convertirse en las células luteínicas primarias de los cuerpos amarillos maduros. El cuerpo amarillo es uno de los órganos más vascularizados del sistema (Mc Donald, 1987).

El cuerpo lúteo de un ciclo no gestante recibe el nombre de cuerpo amarillo falso (*corpus luteum spurium*), mientras que el correspondiente a la gestación se denomina amarillo o verdadero (*corpus luteum verum*), el cual puede aumentar ligeramente de tamaño hasta la mitad del periodo de gestación (Mc Donald, 1987).

El cuerpo avascular no funciona en degeneración recibe el nombre de cuerpo lúteo blanco o *corpus albicans* (Mc Donald, 1987).

En la vaca se hipertrofian las células de la granulosa y se llenan de material lipídico amarillento. En el decimosexto día alcanza su tamaño máximo el cuerpo amarillo y a partir de ahí se degenera rápidamente.

Desde el decimoquinto día hasta el ciclo siguiente, las células epiteliales superficiales son cuboideas bajas y después se tornan pseudoestratificadas. Es esta etapa del ciclo se destaca como característica de la disminución del efecto de la progesterona, la degeneración vacuolar intensa de las células epiteliales (Mc Donald, 1987).

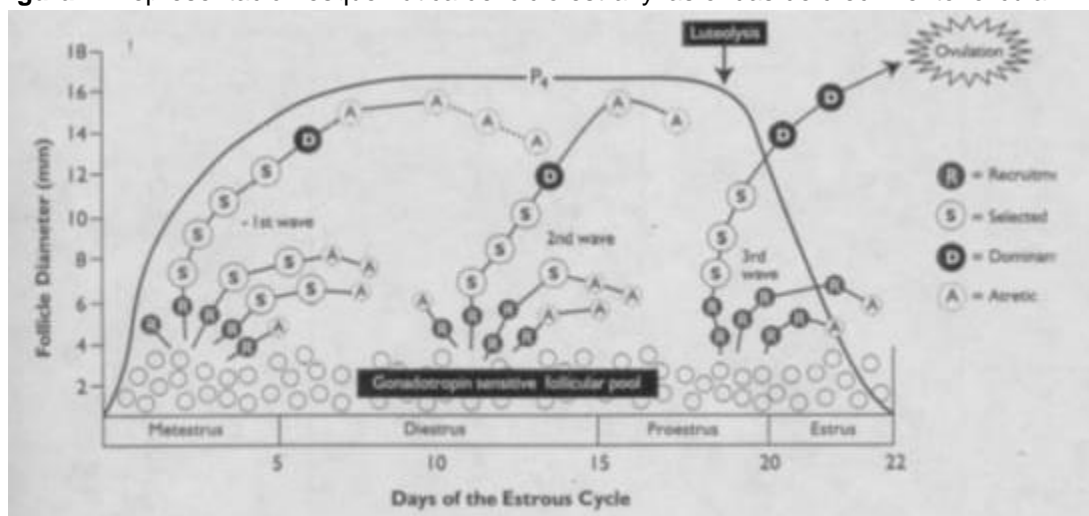
La luteolisis se produce por la secreción de $\text{PGF2}\alpha$ del endometrio no gestante, provocando baja en los niveles sanguíneos de progesterona al mismo tiempo que se inicia el ciclo (Mc Donald, 1987).

Con respecto a las ondas de crecimiento folicular bovino, se definió a la onda folicular como la activación y crecimiento simultáneo de un grupo de folículos terciarios que en un punto divergen continuando uno de ellos su crecimiento y diferenciación (folículo dominante) mientras que los otros (folículos subordinados) se atresian. El ciclo estral en bovinos consiste de dos o tres ondas foliculares.

El número de ondas presentes en cada ciclo varía de 1 a 4. La mayor parte de las hembras presentan 2 o 3 ondas, y el folículo preovulatorio deriva de la última onda (Ramírez, 2013).

En un ciclo estral con dos ondas de crecimiento folicular, la maduración del segundo folículo dominante coincide con la regresión del cuerpo lúteo y culmina con ovulación del mismo. En otros casos se presentan 3 ondas de crecimiento folicular y coinciden con un ciclo estral de mayor duración, debido a que se posterga el celo al no ovular el segundo folículo dominante y, en consecuencia, el tercer folículo requiere de un tiempo para madurar y poder ovular (Ramírez, 2013).

Figura 2. Representación esquemática del ciclo estral y las ondas de crecimiento folicular



Fuente: Senger, 1994.

Pasando al tema de las aplicaciones prácticas de la ultrasonografía en los programas de transferencia de embriones, cabe señalar que un segundo pico de estradiol (E2) se produce en este momento, cuyo origen es la presencia de folículos estrógeno activos en el ovario (Ireland, 1987).

La secreción de hormona luteinizante (LH) continúa en forma de pulsos, que son menos frecuentes a medida que avanza la fase luteal (Walters, 1984). Las concentraciones elevadas de progesterona (P4) determinan una pulsatilidad de LH de baja frecuencia y gran amplitud (Rahe, 1980). Durante la fase luteal media la frecuencia de secreción de pulsos de hormona folículo estimulante (FSH) es mayor que la LH (Walters, 1984) y aquellos son seguidos de pulsos de progesterona (P4). Esto indicaría que la FSH también es un importante estímulo para la secreción de P4 en la vaca y que los esteroides ováricos modulan la secreción de FSH en menor extensión que la de LH.

Función del cuerpo luteal

El cuerpo lúteo cumple una posición central en el proceso reproductivo de los mamíferos. Puesto que este secreta la progesterona (P4) siendo el producto de secreción endocrino primario, aunque el CL secreta también prostaglandina (PG), y una variedad de hormonas peptídicas y protéicas (relaxina, oxitocina, vasopresina). Y en algunas especies, estradiol (Niswender, 1988). La progesterona (P4) prepara al endometrio para la implantación y mantiene la gestación. Si no hay fecundación la función luteal declina y se reanuda el ciclo ovulatorio, lo que indica una segunda función del CL es bloquear la ovulación (Niswender, 1988).

El CL está formado por dos tipos de células esteroidogénicas; las células luteales grandes y las pequeñas. Las primeras derivan de las células de la granulosa y las segundas de las células tecales (Hamsel, 1986).

Si bien ambos tipos celulares producen P4 in vitro, las células pequeñas son más sensibles a la LH, poseen mayor cantidad de receptores para esta hormona. Las células luteales grandes poseen menos receptores para LH (la mayor parte de receptores son para PGF2 α y E2) y producen oxitocina (OT) (Hamsel, 1986) .

En los procesos de la función luteal intervienen factores tróficos y líticos que están presentes en forma concurrente durante todo el ciclo estral por lo tanto la estimulación o la inhibición de la síntesis y secreción de P4 dependen del balance entre estos factores. alimentación y reproducción en vacas lecheras (Martínez, 1999).

Factores luteotróficos

La administración de LH in vivo prolonga la vida del CL e in vitro estimula la secreción de P4, mientras que el suero anti- LH provoca luteolisis in vivo (Hoffman, 1974). En conjunto se demuestra que tanto la LH como FSH ejercen una importante acción luteotrófica en la vaca. A diferencia de los animales de laboratorio, la prolactina no tiene acción luteotrófica en la especie bovina (Hoffman, 1974).

Algunos compuestos derivados del metabolismo del ácido araquidónico (AA) también tienen acción trófica sobre el CL (Hamsel, 1986). La metabolización del AA (Milvae, 1985) produce vía ciclo oxigenada 3 compuesto principal: prostaciclina (PGI₂), PGF₂ y tromboxano A₂. A través de la vía lipoxigenasa se generan diversos metabolitos, siendo los más importantes los leucotrienos y las lipoxinas.

La prostaciclina (PGI₂) estimula la síntesis de P4 in vivo e in vitro. El contenido y la biosíntesis de PGI₂ en el tejido luteal son mayor en los estadios tempranos del ciclo estral (CE), (Milvae R. H., 1983). La relación prostaciclina (PGI₂)/ prostaglandina (PGF₂alfa) como producción de progesterona (P4) disminuye con el envejecimiento del cuerpo lúteo (Milvae, 1983). La prostaciclina es un importante regulador de la función luteal. En forma directa actúa sobre las células lateales en forma directa estimulando la producción de P4 a través de un aumento intracelular en los niveles de AMPc (Hamsel, 1986) indirectamente mediante su acción angiogénica y aumentando el flujo sanguíneo hacia el ovario.

Factores luteolíticos

La luteolisis en la vaca es consecuencia de una interacción entre la secreción de oxitocina (OT) luteal y la de prostaglandina (PGF2 α) endometrial (Auletta, 1988). La oxitocina (OT) luteal es producida por las células luteales grandes del bovino (Schams, 1987). La tasa de síntesis es mayor en la fase luteal temprana y luego se almacena, de tal forma que el contenido de oxitocina (OT) en el tejido luteal aumenta en la fase luteal tardía. Al iniciarse la luteolisis la secreción de OT se incrementa en forma paralela a los niveles de prostaglandina (PGF2 α), (Schams, 1987).

La PGF2 α estimula la secreción de oxitocina (OT) luteal (Schams, 1987) y está a su vez, induce a la secreción de PGF2 α endometrial (Milvae, 1983). Este mecanismo de retroalimentación positivo es responsable de la regresión del cuerpo lúteo (CL) (Auletta, 1988).

Los receptores para oxitocina (OT) alcanzan una concentración máxima durante el celo, disminuye a niveles casi indetectables durante la fase luteal media y aumenta en el proestro en los días 18-19 del ciclo estral (CE). (Schams, 1987). Durante la fase luteal la progesterona (P4), bloquea la acumulación nuclear de receptores de estrógenos (E2). Y en consecuencia, la capacidad de E2 para mantener la síntesis de receptores para oxitocina (OT). Cuando la acción de la progesterona (P4) sobre el útero comienza a disminuir (fase luteal tardía), el estradiol (E2) estimula la síntesis de receptores para oxitocina. Las concentraciones basales interactúan con sus receptores uterinos, lo que amplifica la liberación endometrial de PGF2 α y desencadena la luteolisis. La PGF2 α ejercerá sus efectos luteolíticos a través de los siguientes mecanismos (Auletta, 1988):

disminución rápida del flujo sanguíneo luteal; desacople del complejo receptor LH-adenilato ciclado, y acción citotóxicas sobre las células luteales. Numerosos estudios demuestran que el E2 es un potente factor luteolítico en la vaca. La secreción de PGF2 α aumenta la respuesta al suministro de estradiol (E2) en forma local o sistema, lo que demuestra una interacción entre hormonas durante la luteolisis en rumiantes (Schams, 1987).

Aspectos morfológicos

La función primaria del folículo ovárico en mamíferos es la liberación de un ovocito apto para ser fertilizado. La folículogénesis puede ser definida como la formación de folículos maduros preovulatorios de Graff. a partir de una reserva de folículos primordiales (Spicer, 1986). La folículogénesis comienza en la vida fetal con la formación de los folículos primordiales. Este proceso consiste en el crecimiento del ovocito, diferenciación de una capa de células granulosas (planas) y de una capa celular (teca interna) por fuera de la membrana basal (Greenwald, 1988). Se constituye así una reserva de folículos cuyo crecimiento se encuentra detenido.

Los folículos primordiales entran en reserva de folículos en crecimiento (preantrales y antrales), (Schams, 1987). En la reanudación del desarrollo folicular se forman los folículos primarios, estos poseen una capa de células granulosas cuboidales y un mayor desarrollo de la teca interna. Cuando el folículo presenta dos o más capas

de células granulosas cuboidales se denominan folículo secundario. Ambos son folículos preantrales (Greenwald, 1988).

El número de folículos antrales o terciarios dependen del nivel de gonadotropinas. Disminución de la secreción de Estradiol (E2), (Greenwald, 1988).

Dinámica folicular

Los procesos recurrentes de crecimiento folicular y ovulación, son regulados por complejas interacciones entre hormonas, factores de crecimiento y sistemas de comunicación intracelular. Uno de ellos es el estadio del ciclo o “status” ovárico al momento de iniciarse el tratamiento (Murphy, 1987).

Desarrollo folicular durante el ciclo estral

Etapas de la foliculogénesis:

- Reclutamiento: etapa en la que un grupo de folículos adquiere la capacidad de responder a las gonadotropinas y necesita de ellas para seguir creciendo.
- Selección: proceso por el cual solo unos pocos folículos reclutados escapan a la atresia y continúan su desarrollo.
- Dominancia: es el conjunto de mecanismos por los que un folículo alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás, es responsable de la mayor parte de la secreción de E2, puede detener el crecimiento de otros folículos y/o adquiere

la capacidad de continuar su desarrollo en un medio hormonal adverso para el resto de los folículos (Goodman, 1983).

Al examen histológico se ha observado un único folículo de tamaño ovulatorio (> 10 mm de diámetro) por par de ovarios. Rajakoski (1960) fue el primero en sugerir la existencia de dos ondas foliculares durante el ciclo estral del bovino. La primera entre los días 3 y 12 del ciclo estral, culmina con el desarrollo de un folículo de tamaño ovulatorio que posteriormente sufrirá atresia. La segunda, desde a mitad del ciclo estral en adelante, termina con el desarrollo del folículo ovulatorio (Mattom, 1981).

Los folículos de 6 mm de diámetro son estrógeno-inactivos (atrésicos) ya que las concentraciones de progesterona (P4) + andrógenos (A) son mayores que las de E2 en su fluido folicular.

A lo largo del ciclo estral se producen 3 picos de E2, tanto en circulación periférica como en venas ovárica, que son coincidentes con los períodos de dominancia folicular (Ireland, 1987). Durante el ciclo estral (CE) hay periodos recurrentes de crecimiento y atresia folicular (*turnover*) independiente de la presencia o ausencia de P4. La FSH hace un papel fundamental en el proceso de reclutamiento folicular, en tanto que niveles basales de esta hormona son suficientes para permitir el crecimiento de una cohorte de folículos de 4-8 mm y luego el desarrollo de un folículo dominante. Este suprime el decrecimiento de los otros folículos medianos y grandes que lo acompañan (atresia). Los folículos dominantes que se desarrollan en presencia de un CL activo también sufrirán atresia, debido a la ausencia de un patrón pulsátil apropiado de LH.

El FD (no atrésico) presente en al momento de la luteolisis, recibirá una frecuencia de pulsos de LH adecuada (1 c/40-60 min) que estimulará su maduración final, la secreción de E2, la descarga preovulatoria de LH y la ovulación.

Las etapas de selección y dominancia constituyen un proceso que involucra tres componentes:

- Capacidad de repuesta del folículo preantral a las gonadotropinas: determinada por el número de células granulosas y/o tecales o bien por la cantidad de receptores para gonadotropinas (Sunderland, 1994).
- Síntesis y secreción de factores inhibitorios por el folículo dominante: se ha demostrado que el folículo produce factores hormonales y no hormonales que pueden controlar la selección modulando la repuesta a las gonadotropinas. Así, el folículo dominante inhibe el desarrollo de los otros folículos que lo acompañan, pero no su propio desarrollo. Uno de los factores implicados es el PRF (proteína regulatoria folicular), que bloquea la actividad de la aromatasa de las células granulosa in vitro. En la fase de dominancia, el folículo secreta cantidades elevadas de proteína regulatoria, que inhibiría la síntesis de E2 en los folículos no dominantes y provocaría su atresia.
- Establecimiento de un sistema retroalimentación entre el folículo dominante y la hipófisis: el FD posee en el fluido folicular concentraciones de inhibina y E2 superiores a las de otros folículos. Un sistema de retroalimentación negativo largo se establece entre el folículo dominante y la hipófisis a través del cual disminuyen los niveles periféricos de FSH, lo que bloquea el reclutamiento de nuevos folículos (Sunderland, 1994).

Mecanismos de acción de las gonadotropinas

Estas actúan sobre las células de la granulosa y tecales. Las células de la granulosa de los folículos preantrales poseen receptores para la hormona folículo estimulante (FSH), mientras los receptores para la hormona luteinizante (LH) solo aparecen cuando se forma el antro. En cambio las células tecales poseen receptores para la hormona luteinizante (LH). La FSH induce la síntesis de sus propios receptores y luego los de LH en las células de la granulosa.

La teoría denominada "dos células, dos gonadotropinas (Erickson, 1985), es la mejor que explica biosíntesis de esteroides en el ovario. La gonadotropinas se unen a sus sitios receptores y activan el sistema de respuesta adenilato ciclasa-AMPc. La adenilato ciclasa posee una subunidad catalítica regulatoria (proteína G) que se activa por nucleótidos de guanina. Metaboliza ATP a AMPc cuando está unida a la protección G. Como resultado de los incrementos de los niveles intracelulares de AMPc se produce la activación de la proteína-quinasa que estimulan la fosforilación de enzimas esteroideogénicas y como consecuencia, la síntesis de esteroides (Hansel, 1986).

Durante la foliculogénesis las células de la teca responden a LH, los andrógenos tecales atraviesan la membrana basal y son convertidos a estrógeno (sistema aromatasa) en las células de la granulosa. El desarrollo de un sistema aromatasa activo, regulado por la FSH, constituyen un paso clave para la iniciación de la dominancia folicular. El E2 es un potente amplificador de los efectos de la FSH. Y modulan la acción de la gonadotropina. La acción de la LH sobre las células luteales involucra además del

clásico sistema adenilato-ciclasa -AMPC, un mecanismo donde intervienen el metabolismo de los fosfolípidos tales como el fosfatidil inositol (Hansel, 1986).

Condición corporal y alimentación

La condición corporal de los bovinos es un parámetro importante que mide la deposición de grasa sobre el animal como garantía de reservas de energía. En una escala de 1 a 5 (1 flaco, 2.5 intermedio y 5 exceso de gordura) es necesario que los animales estén con una condición mínima de 3 a 3.5 (Garrido, 2011) . Es indispensable garantizarles una buena alimentación a los animales y que estén comiendo bien, de acuerdo a su estado funcional y época del año, recuperando condición corporal y ganando peso. El balance energético positivo favorece la actividad ovárica, la fertilidad y la viabilidad embrionaria (Garrido, 2011). Se deben tener presentes, además, los siguientes factores:

- Estado funcional de los animales: novillas que hayan alcanzado la edad reproductiva (mayores de 20 meses), con desarrollo corporal, genital y con síntomas de actividad ovárica, es decir, ciclando.
- Tiempos de trabajo: es indispensable cumplir con los horarios de los tratamientos y de las inseminaciones, a pesar de las inclemencias del clima y de condiciones adversas de los corrales y caminos.
- Los tiempos de colocación y retiro de dispositivos vaginales son breves. La colocación se realizará durante el tacto previo. La extracción o retiro del CIDR se

realizará en la manga sin necesidad de sujetar las novillas o vacas, salvo complicaciones. Los tratamientos hormonales se realizan durante la mañana, y las inseminaciones por la tarde. Es importante respetar los tiempos, la I.A.T.F., deberá efectuarse 48 a 56 horas después de retirar los dispositivo, se prosiguió a inseminarlas, suministrando a la vez otra dosis de 0,01 mg de hormona liberadora de gonadotropina GnRH sintética.

- Formación de grupos para IATF: se formarán tres grupos de 20 novillas cada uno, para un total de 60 animales.
- Semen: utilizar semen de toros probados de alta calidad con pruebas de fertilidad y facilidad de parto garantizada. Cuando alguno de estos factores es negativo, puede hacer fracasar el servicio y aumentar riesgo de distocia, trayendo como consecuencia altas pérdidas económicas.

Medicamentos y materiales de trabajo

- Dispositivo intravaginal de liberación lenta con 0,5 g de progesterona (DIB®, Over, Santa Fe, Argentina), un dispositivo por vientre a inseminar.
- GnRH sintética (Gestar®, Over, Santa Fe, Argentina), 0,01 mg de hormona liberadora de gonadotropina; por medio de inyección intramuscular (IM).
- Prostaglandina, de acuerdo al grupo que se vaya a trabajar.
- Vitamina ADE, 5ml.
- Antiparasitarios, ivermectina al 3,15% 630 mg/kg de peso.
- Calfosvit, 1 ml /20 kg.

- Aplicador de D.I.B.
- Jeringas y agujas desechables.
- Materiales de IA.
- Planillas de inseminación, con identificación de vientres y asignación de servicio.
- Termo de NL con un nivel mínimo de 15 cm.
- El semen asignado, con control de calidad y antecedentes de fertilidad y facilidad de parto.
- Termo de descongelación.
- Agua caliente a 35 °C controlada con termómetro de mercurio.
- Reloj o *timer* para controlar 45 segundos.
- Pinza para extraer pajuelas o pastillas.
- Papel secante.
- Cortapajillas.
- Pistoletes universales (mínimo 2) y vainas.
- Camisas sanitarias.
- Alcohol.
- Carboximetilcelulosa
- Baldes con agua limpia (2).
- Rasqueta para vulva.
- Guantes descartables.
- Delantal y botas de goma.
- Recipientes y bolsas de residuos.

Normas elementales de higiene y procedimientos

- Confort de las vacas: manejar los animales despacio, sin perros, evitando los excesos de corridas, golpes, tábanos o gritos. El estrés de las vacas en celo afecta la ovulación y la normal fertilización de los ovocitos. Recordemos que el objetivo es que queden preñadas.
- Todas las inyecciones serán aplicadas por vía intramuscular, con agujas calibre (20G) especial para bovinos, descartables, cuidando la higiene de todas las operaciones.
- Respetar las dosis recomendadas de todos los medicamentos.
- Desinfectar la región perineal, ano y vulva antes de aplicar el D.I.B., evitando la contaminación del dispositivo y del aplicador. Limpiar con rasqueta, lavar con agua, luego secar. Esta operación controlará en gran medida las vaginitis catarrales o purulentas que normalmente ocurren por irritación mecánica del dispositivo (Garrido, 2011).
- Lubricar con carboximetilcelulosa el aplicador e insertar hasta el fondo de la vagina. Pellizcar el dorso de la vaca para que baje el lomo facilitando la inserción del aplicador. Controlar que el D.I.B. haya quedado por delante de la desembocadura de la uretra.
- Descongelar una pajuela por vez, controlando los tiempos y temperaturas con el instrumental específico, durante 10 segundos a temperatura ambiente y 30 segundos en baño de agua a 35 °C. Secar bien la pajuela y armar la pistola

previamente desinfectado con alcohol. Evitar el contacto de los catéteres y camisas sanitarias con cualquier superficie u objeto fuente de contaminación.

- Desinfectar la región perineal antes de la inseminación, evitando la contaminación del instrumental con orina, agua o materia fecal. Estos elementos afectan la viabilidad del semen y contaminan el tracto genital de la vaca, reduciendo el índice de preñez.
- Descargar el semen en el cuerpo del útero, accionando suavemente el émbolo de la pistola en tres o cuatro segundos.

Diagnóstico de preñez

A los 60 días de la última IA se realiza el diagnóstico de gestación por palpación rectal, de la IATF, consiste en:

- Inspección visual: conformación general, conformación de los genitales externos, descarga por la vulva, aspecto de la ubre.
- Examen vaginal: en casos excepcionales, utilizando vaginoscopios individuales o esterilizados, después de cada examen, es impracticable el uso rutinario. Cuando está indicado, puede practicarse el examen minucioso del orificio externo del cérvix, mucosa vaginal y vestibular, y divertículo suburetral con vaginoscopio o espejo vaginal. La mucosa normal es de color rosado y húmeda (Zemjanis, 1977). El examen rectal, o la palpación consisten en el único método práctico para el diagnóstico que permite el examen directo de órganos genitales de vacas y terneras en edad de reproducción; proporciona los suficientes datos al examen

clínico (Zemjanis, 1977). La ubicación del cérvix proporciona valiosa información la cual se accede por el ingreso de la mano por el recto hacia caudal; el brazo se extiende hacia la zona pélvica, con los dedos ligeramente encorvados se desliza la mano a lo largo de una de las paredes de la cavidad pélvica hasta el piso y se repite la maniobra del lado contrario. El cérvix se reconoce como una estructura firme, cilíndrica, un tanto nodular que se encuentra en la línea media del piso pélvico. Se evalúa forma, tamaño y posición (Zemjanis, 1977).

- Retracción del útero, los ovarios están suspendidos aproximadamente 5 cm a los lados del extremo ovárico del cuerno uterino.
- Examen de preñez: aumento de tamaño, fluctuación, posición del útero, membrana fetal deslizante, la vesícula amniótica es palpable percibiendo turgencia. El feto se palpa por peloteo durante el periodo de descenso y ascenso. Hipertrofia de las arterias uterinas, arterias uterinas medias (proviene de la arteria iliaca interna, arteria umbilical) especialmente la que irriga el cuerno grávido. A los 75–85 días se percibe el frémito o murmullo. Cuerpo amarillo, el cual se encuentra del mismo lado que el cuerno grávido (Zemjanis, 1977).

Metodología

El estudio se realiza en 60 novillas cebuinas comerciales (perlas, rojas, mestizas) bajo las mismas condiciones de alimento y suplementación, con edades entre los 24 a 35 meses de edad destinadas para la producción de carne, clasificadas según su condición corporal utilizando el esquema de condición corporal (BCS). El que se realizó en la finca La Carolina en el municipio de Acandí, Chocó fue el siguiente:

Parámetros de selección

La selección corporal se hizo teniendo en cuenta como criterio los grados condición corporal según escala 1 a 5 (Lowman 1976; Van Niekerk y Louw 1980). La tabla 1 muestra la correlación entre las escalas.

Tabla 1. Correlación entre las escalas 1 a 5 y 1 a 9 para CC

Correlación entre las escalas 1 a 5 y 1 a 9 para CC Escala	Grados								
	1 a 5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5
1 a 9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Protocolo sincronización 5D-SYNCH + CIDR

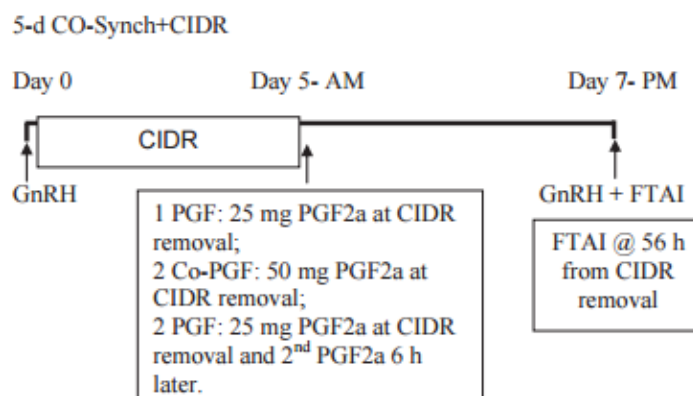
Se toman tres grupos de 20 animales el tamaño de muestra acogido será por conveniencia. Cada novilla recibirá el día cero un dispositivo intravaginal de liberación lenta con 0,5 g de progesterona (DIP®, Syntex, Buenos Aires, Argentina) al mismo tiempo que se le aplicará una inyección intramuscular de 0,01mg de hormona liberadora de gonadotropina GnRH sintética (Gestar®, Over, Santa Fe, Argentina). A cada novilla se le administró GnRH (100 mg, IM) y se inseminó artificialmente a las 56 horas después de la eliminación del CIDR. Las novillas fueron examinadas para el estado de preñez entre 60 y 80 días después de la IA para determinar el momento de la concepción.

Se utilizó procedimiento de palpación rectal, evaluando el efecto de los tratamientos (1PGF, 2CO-PGF y 2PGF) en las tasas de preñez de la IA. El dispositivo de progesterona se mantuvo por un periodo de 5 días y se retiró; aplicando según el grupo una dosis de prostaglandina PGF₂α (Gestar®, Over, Santa Fe, Argentina). Las novillas fueron asignadas aleatoriamente a uno de los tres grupos de protocolo:

- **Grupo 1:** 1PGF (n =20), recibieron 25 mg IM de dinoprost.
- **Grupo 2:** 2CO-PGF (n=20), recibió 50 mg IM de dinoprost en la eliminación de CIDR.
- **Grupo 3:** 2PGF (n = 20), recibió 25 mg IM de dinoprost en la eliminación de CIDR, y un adicional de 25 mg IM de dinoprost 6 horas más tarde. Y serán inseminadas con semen de alta calidad entre las 48 a 56 horas posterior al retiro del dispositivo intravaginal.

Las novillas serán agrupadas en tres grupos de 20 animales cada uno:

Figura 3. Presentación esquemática del protocolo 5-d CO – Synch + CIDR



Grupo 1: recibirá la dosis de 25 mg de prostaglandina PGF2 α recomendada por el laboratorio al retiro del dispositivo intravaginal.

Grupo 2: recibirá el doble de la dosis 50 mg de prostaglandina PGF2 α recomendada por el laboratorio al retiro del dispositivo intravaginal.

Grupo 3: recibirán 25 mg de prostaglandina PGF2 α recomendada por el laboratorio al retiro del dispositivo intravaginal y una nueva dosis igual a las 6 horas después.

Siguiendo las indicaciones del fabricante que incluye protocolo de antisepsia; para la aplicación de las inyecciones intramusculares se realizara con aguja calibre (16) especial para bovinos. Este proceso de aplicación de dispositivos y protocolos hormonales es una práctica común en el que hacer del médico veterinario dedicado al mejoramiento

Tabla 2. Valores y estado de preñez según número de cada animal, edad, peso y raza

# de I.D	Raza	Peso (kg)	Edad	Grupo	Estado reproductivo
003-1-14	cebú perla	341	24	1	P
025-1-14	cebú perla	341	24	1	V
063-2-14	cebú perla	371	24	1	V
064-3-14	cebú comercial	371	24	1	V
084-3-14	cebú comercial	341	24	1	V
101-4-14	cebú perla	301	24	1	V
115-4-14	cebú perla	281	24	1	P
119-5-14	cebú mestizo	351	24	1	V
128-5-14	cebú comercial	369	24	1	V
1585-3-14	cebú perla	351	24	1	V
159-6-14	cebú mestizo	311	24	1	V
1600-4-14	cebú mestizo	321	24	1	V
1602-4-14	cebú perla	301	24	1	V
1613-4-14	cebú perla	351	24	1	P
13/10/2077	cebú perla	361	35	1	V
13/10/2085	cebú comercial	311	35	1	P
232-9-13	cebú perla	329	35	1	V
286-11-13	cebú comercial	381	35	1	P
14/02/3704	cebú perla	301	24	1	V
14/03/3706	cebú mestizo	301	24	1	V
035-1-14	cebú perla	331	24	2	V
054-2-14	cebú perla	301	24	2	V
103-4-14	cebú perla	351	24	2	V
108-4-14	cebú mestizo	361	24	2	V
109-4-14	cebú perla	371	24	2	V

134-5-14	cebú comercial	361	24	2	V
1536-2-14	cebú perla	321	24	2	V
1561-3-14	cebú perla	271	24	2	V
1562-3-14	cebú comercial	341	24	2	V
1596-4-14	cebú perla	301	24	2	V
1606-4-14	cebú mestizo	331	24	2	V
1635-5-14	cebú perla	331	24	2	V
167-6-14	cebú perla	301	24	2	V
13/06/1977	cebú perla	301	36	2	V
13/06/1980	cebú perla	339	36	2	V
13/11/2115	cebú perla	317	35	2	P
254-10-13	cebú perla	331	35	2	V
260-10-13	cebú perla	271	35	2	V
14/01/3703	cebú mestizo	301	24	2	V
14/04/3708	cebú perla	341	24	2	V
075-3-14	cebú comercial	341	24	3	V
085-3-14	cebú perla	371	24	3	P
088-3-14	cebú perla	381	24	3	V
096-4-14	cebú perla	341	24	3	V
102-4-14	cebú perla	291	24	3	V
111-4-14	cebú perla	391	24	3	V
121-5-14	cebú perla	401	24	3	V
131-5-14	cebú perla	351	24	3	P
1504-1-14	cebú perla	351	24	3	V
1525-1-14	cebú perla	341	24	3	V
1568-3-14	cebú perla	390	24	3	V
1576-3-14	cebú perla	381	24	3	V

1619-5-14	cebú mestizo	411	24	3	V
1634-5-14	cebú perla	391	24	3	V
13-09-2037	cebú perla	381	35	3	V
259-10-13	cebú perla	360	35	3	V
268-10-13	cebú mestizo	321	35	3	V
32130-12-13	cebú mestizo	341	35	3	V
32148-12-13	cebú mestizo	361	35	3	P
14-03-3707	cebú perla	331	24	3	V

Resultados

Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la distribución de las variables continuas.

Para corroborar la similitud de los grupos según la edad y peso se realizaron pruebas de ANOVA y se determinó que no habían diferencias significativas entre los grupos por edad, lo que quiere decir que son homogéneos pero si se encontraron diferencias significativas para el peso $p < 0,01$.

Para saber cuál de los grupos era diferente en peso, se realizó una prueba post hoc. Con la prueba de Bonferroni se determinó que el grupo 3 tenía un peso significativamente superior comparado con el grupo 1 $p = 0,014$ y con el grupo 2 $p < 0,001$.

Para determinar si existía relación entre las variables independientes (raza, peso, edad y tratamiento) con la variable dependiente (estado gestacional), se utilizó una regresión logística múltiple, en la cual no se encontraron variables asociadas significativamente.

Tabla 3. Significancia según raza, peso, edad y tratamientos

Variables:	Significancia
Raza	0,726
Peso	0,648
Edad	0,105
Tratamiento	0,308

Todos los análisis fueron realizados en el software IBM SPSS 22. Se consideraron significativos los resultados con un valor $p < 0,05$.

El grupo 1PGF presentó una mayor tasa de preñez por IA de 25% (5/20), comparado con el grupo 2CO-PGF del 15% (3/20) y el grupo 1PGF al 5% (1/20); se observó una tasa de preñez de IA de 15% (9/60) para novillas. El dispositivo de progesterona se mantuvo por un periodo de 5 días y se retiró; aplicando según el grupo una dosis de prostaglandina PGF 2α (Gestar®, Over, Santa Fe, Argentina).

Conclusiones y recomendaciones

Investigaciones realizadas en los últimos 10 años en torno a la utilización de dispositivos intravaginales con progesterona, llevaron al diseño de protocolos que permiten realizar IA sin detección de celos, llamados comúnmente de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF). Datos informan que controlando determinados factores como la condición corporal, buenas prácticas de manejo y calidad seminal controlada es posible obtener tasas efectivas de preñez en programas de IATF de por lo menos el 50%.

Se ha demostrado que en el trópico usar protocolos con estrógenos es mucho más efectivo, demostrando una mejor tasa de concepción. La diferencia en dichos resultados si se compara el uso entre la GnRH y la eCG no muestra una diferencia significativa.

Se deben desarrollar un mayor número de trabajos con un grupo de novillas más homogéneas en pesos y edades ya que esto pudo ser uno de los factores limitantes para obtener buenos resultados.

La estandarización de la técnica de inseminación es sumamente importante, por eso se debe capacitar a las personas que van a depositar el semen en el útero de los animales y llevar un control de la inseminación para poder determinar el porcentaje de preñez que obtuvo cada una de las personas que participaron en la investigación.

Nutricionalmente se debe tener en cuenta en la inclusión de la dieta sales mineralizadas con certificación de sus componentes porque los micro y macrominerales desempeñan un papel importante en la reproducción.

Un estudio con animales más uniformes en cuanto a edad y peso es ideal, se recomienda iniciar la sincronización con animales que tengan 367 kg de peso vivo.

Tener en cuenta el estado de las pasturas en los potreros un mes antes y un mes después antes de iniciar los protocolos de sincronización, el balance nutricional en ambos momentos debe ser ideal para que haya una excelente actividad ovárica, una buena ovulación y la implantación necesaria, llevando a término la gestación.

Los bajos resultados de la presente investigación no reflejan en términos generales la efectividad de la IATF se han reportado excelentes resultados en el uso del presente protocolo en ganado de carne, tener en cuenta el ajuste de los componentes y compuestos a usar en la sincronización para la región en la cual se está trabajando.

Se recomienda tener un mayor número de inseminadores en el momento del procedimiento ya que pudo afectar los resultados, así como un análisis cuidadoso de la calidad seminal OO de las pajillas al momento de la inseminación.

Por último, se recomienda en un próximo protocolo utilizar eCG con el fin de garantizar un crecimiento mayor del folículo dominante y complementado con un inductor de la ovulación.

Referencias

- Auletta, F. y Flint, A. (1988). Mechanisms controlling corpus luteum function in sheep, cows, nonhuman primates, and women especially in relation to the time of luteolysis. *Endocrine Reviews*, 9(1), pp. 88-105.
- Ball, P. J. y Peters, A. (2004). *Reproduction in Cattle* (3rd Ed.). Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Bridges, G. A., Helser, L. A., Grum, D., Mussard, M. L., Gasser, C. L. y Day, M. L. (2008). Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*, 69(7), pp. 843-851.
- Callejas, S. (2004). Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados. *Taurus, Bs. As.*, 6(24), pp. 22-34. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/65-control_farmacologico_ciclo.pdf
- Clarke, J. (1988). GnRH secretion. In *11th International Congress on Animal Reproduction and A. I.*, Dublin, Ireland.
- Clement - Sengewald, A., Palma, G. y Brem, G. (1993). Biotecnología en producción animal. En G. Palma (Ed.), *Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción de la especie bovina* (pp. 13-24). Buenos Aires, Argentina: Editorial Hemisferio Sur.
- Cruppe, L. y Day, M. (Septiembre de 2011). Maximización de las tasas de preñez con inseminación artificial a tiempo fijo con el programa CO-Synch+CIDR 5 días. En H. Tríbulo (Coordinador General), *IX Simposio Internacional de Reproducción Animal*, Córdoba, Argentina.

Denis, G. y Gil, A. (1997). *Aplicaciones prácticas de la ultrasonografía en los programas de transferencia de embriones*. La Habana, Cuba: Centro de Investigación para la Mejora Animal.

Dieleman, S., Bevers, M. y Van Tol, H. (1986). Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrous period. *Animal Reproduction Science*, 10(4), pp. 275-29. Erickson, G. F., Magoffin, D. A., Dyer, C. A. y Hofeditz, C. (1985). The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocrine Reviews*, 6(3), pp. 371-399.

Erickson, B. H. (1966). Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *Journal of Animal Science*, 25(3), pp. 800-805.

Findlay, J. y Clarke, I. (1987). Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34, pp. 27-37.

García Sacristán, A, Castejón Montijano, F., de la Cruz Palomino, L, González Gallego, J, Murillo López, M. y Salido, G. (1995). *Fisiología Veterinaria*. Madrid, España: McGRAW-HILL- Interamericana de España.

Garrido, A. (2011, mayo). Importancia de la I.A.T.F. *PROSEGAN*. Recuperado de: <http://jairoserano.com/2011/05/importancia-de-la-i-a-t-f/>

Geary, T. W. (1998). Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist*, 14(4), pp. 217-220.

González-Padilla, E., Wiltbank, J. y Niswender, G. (1975). Puberty in beef heifers. The interrelationship between pituitary, hypothalamic and ovarian hormones. *Journal of Animal Science*, 40(6), pp. 1091-1104.

Goodman, A. y Hodgen, G. (1983). The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Progress in Hormone Research*, 39, pp. 1-73.

- Goodman, R. y Karsch, F. (1980). Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology*, 107(5), pp. 1286-1290.
- Greenwald, G. y Terranova, P. (1988). Follicular selection and its control. In E. Knobil (Ed.), *The Physiology of Reproduction* (pp. 387-445). New York, United States of America: Raven Press.
- Hansel, W. y Dowd, J. (1986). Hammond memorial lecture. New concepts of the control of corpus luteum function. *Journal of Reproduction and Fertility*, 78(2), pp. 755-768.
- Hansel, W. y Convey, E. (1983). Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, 57(2), pp. 404-424.
- Hoffmann, B., Schams, D., Bopp, R., Ender, M., Giménez, T, y Karg, H. (1974). Lutetrophic factors in the cow: evidence for LH rather than prolactin. *Journal of Reproduction and Fertility*, 40(1), pp. 77-85.
- Hunzicker-Dunn, M. (2006). Gonadotropin signaling in the ovary. In J. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (pp. 547-592). Massachusetts, United States of America: Academic Press.
- Hurnik, J. (1987). Sexual behavior of female domestic mammals. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 3(2), pp. 423-461.
- Ireland, J. J. (1987). Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In J. Roche (Ed.), *Follicular growth and ovulation rate in farm animals* (pp. 1-18). Callaghan, Australia: Martinus Nijhoff.
- Kalra, S. (1984). Opioid-Adrenergic-Steroid connection in regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in the rat. *Neuroendocrinology*, 38, pp. 418-426.

- Karsch, F. (1987). Central actions of ovarian steroids in the feedback regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. *Annual Review of Physiology*, 49, pp. 365-382.
- Kesner, J., Convey, E. y Anderson, C. (1981). Evidence that estradiol induces the preovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. *Endocrinology*, 108(4), pp. 1386-1391.
- Kohram, H., Twagiramungu, H., Bousquet, D., Durocher, J. y Guilbault, L. (1998). Ovarian superstimulation after follicular wave synchronization with GnRH at two different stages of the estrous cycle in cattle. *Theriogenology*, 49(6), pp. 1175-1186.
- Landefeld, T., Kaynard, A. y Kepa, J. (1985). Pituitary alpha-subunit messenger ribonucleic acid remains elevated during the latter stages of the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology*, 117(3), pp. 934-938.
- Larson, J. E., Lamb, G. C., Stevenson, J. S., Johnson, S. K., Day, M. L., Geary, T. W.,... Kesler, D. J. (2006). Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and time artificial insemination using Gonadotropin-releasing hormone (GnRH), prostaglandin F2-alpha, and progesterone. *Journal of Animal Science*, 84, pp. 332-342.
- Laster, D. B., Smith, G. M., Cundiff, L. V. y Gregory, K. E. (1979). Characterization of biological types of cattle (Cycle II). II. Postweaning growth and puberty of heifers. *Journal of Animal Science*, 48(3), pp. 500-508.
- Long, C. R., Stewart, T. S., Cartwright, T. C. y Jenkins, T. G. (1979). Characterization of cattle of a five breed diallel: I. Measures of size, condition and growth in bulls. *Journal of Animal Science*, 49(2), pp. 418-431.
- Martínez, A. (1999). Alimentación y reproducción en vacas lecheras. *Mundo ganadero*, (111), pp. 48-54.

- Matton, P., Adlakoun, V., Couture, Y. y Dufour, J. (1981). Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, 52(4), pp. 813-820.
- McDonald, L. (1987). *Endocrinología veterinaria y reproducción*. Ciudad de México, México: Interamericana McGraw-Hill.
- McCracken, R. (1971). Initiating Sustained Silent Reading. *Journal of Reading*, 14(8), pp. 521-524.
- Milvae, R. A. y Hansel, W. (1983). Prostacyclin, prostaglandin F2-alpha and progesterone production by bovine luteal cells during the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 29, pp. 1063-1068.
- Milvae, R. A. y Hansel, W. (1985). Inhibition of bovine luteal function by indomethacin. *Journal of Animal Science*, 60(2), pp. 528-531.
- Niswender, G. D. y Nett, T. M. (1988). The corpus luteum and its control. In E. Knobil (Ed.), *The Physiology of Reproduction* (pp. 489-525). New York, United States of America: Raven Press.
- Prada Torres, J. A., Castro Cruz, J.A., Ardila Silva, A. y Chacón Jaramillo, L. (2013). Evaluación de un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo con variaciones en los días de aplicada la dosis de prostaglandina en novillas Brahman puras y cruzadas. *Revista Ciencia Animal*, (6), 161-175. Recuperado de: <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/ca/article/viewFile/2651/2298>
- Rahe, C. H., Owens, R. E., Fleeger, J. L., Newton, H. J. y Harms, P. G. (1980). Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, 107(2), pp. 498-503.
- Rajakoski, E. (1960). The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*, 34(52), pp. 1-68.

Reynolds, W. L., de Rouen, T. M. y High, J. W. (1963). The age and weight at puberty of Angus, Brahman and Zebu cross heifers. *Journal of Animal Science*, 22, p. 243 (Abstr.).

Santos Ramírez, O. (2013, mayo). Dinámica folicular bovina. *Engormix*. Recuperado de: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/dinamica-folicular-bovina-t30124.htm>

Sá Filho, M. F., Baldrighi, J. M., Sales, J. N., Crepaldi, G. A., Carvalho, J. B., Bó, G. A. y Baruselli, P.S. (2011). Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 129(3-4), pp. 132-139.

Schams, D. (1987). Luteal peptides and intercellular communication. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 34, pp. 87-99.

Schoenemann, H. M., Humphrey, W. D., Crowder, M. E., Nett, T. M. y Reeves, J. J. (1985). Pituitary luteinizing hormone-releasing hormone receptors in ovariectomized cows after challenge with ovarian steroids. *Biology of Reproduction*, 32(3), pp. 574-583.

Senger, P. (1994). The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77(9), pp. 2745-2753.

Spencer T. E., Johnson, J. A., Bazer, F. W. y Burghardt, R. C. (2004). Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*, 128(6), pp. 657-668.

Spicer, L. J. y Echtenkamp, S. E. (1986). Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 62(2), pp. 428-451.

Walters, D. L., Schams, D. y Schallenberger, E. (1984). Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and oxytocin during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*, 71(2), pp. 479-491.

Weems, C. W., Weems, Y. S. y Randel, R. D. (2006). Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal*, 171(2), pp. 206-228.

Zemjanis, R. (1977). *Reproducción animal: diagnóstico y técnicas terapéuticas*. Ciudad de México, Mexico: Limusa.