

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE ALTERNATIVAS PARA SUSTITUIR EL USO DE  
BENZOATO DE ESTRADIOL EN PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN A  
TIEMPO FIJO (IATF) EN VAQUILLONAS DE CARNE.**

**Por**

**Verónica PAIS HERNÁNDEZ**

TESIS DE GRADO presentada como  
uno de  
los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinaria  
Modalidad: Ensayo experimental  
Orientación: Producción animal

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2024**

PÁGINA DE APROBACIÓN

---

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

---

Rafael Aragunde

Segundo miembro (tutor):



---

Alejo Menchaca

Tercer miembro:



DANIELA CRESPI

Daniela Crespi

Cuarto miembro (co-tutor):



---

Federico Cuadro

Fecha:

---

13/12/2024

Autor:



---

Verónica Pais Hernández

## AGRADECIMIENTOS.

---

En primer lugar, agradecerle a Alejo Menchaca y Federico Cuadro por tenerme en cuenta y permitirme desarrollar este proyecto transmitiéndome todo su conocimiento, ha sido un privilegio formar parte del equipo. Por toda la dedicación, confianza, por su invaluable orientación y apoyo a lo largo de este proceso y sobre todo la paciencia durante estos años, que ha sido fundamental para el desarrollo de este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a Fernando Fabini y Richard Núñez que me acompañan desde hace varios años y me han alentado a finalizar esta etapa. También al personal de los establecimientos que fueron de gran ayuda para llevar adelante los experimentos y a Mikaela Moreira que colaboró en la parte práctica.

A mi pilar fundamental, mi madre, por su apoyo incondicional y esfuerzo para que pudiera superar cada obstáculo en mi camino. Ha sido una fuente constante de inspiración, motivándome a dar lo mejor de mí en cada etapa de mi vida. Su dedicación y lucha me inspiran a seguir adelante.

A mi hermana, por ser la mejor compañía durante la etapa de estudio, por cuidarme, guiarme, creer en mí y por sus palabras de aliento que han sido fundamentales en los momentos más difíciles de este proceso.

Quiero dedicar un espacio especial a la memoria de mi padre, que aunque no esté en la finalización de esta etapa ha influenciado en cada paso de este camino. Gracias por tu amor, valores, y conocimiento que han dejado una huella imborrable en mi vida. Gracias papá por creer en mí y ser un ejemplo a seguir al igual que mamá.

Y sin dudas, agradecer a mi compañero de vida, la persona que me acompaña día a día, que está a mi lado en cada momento ofreciéndome su aliento en los momentos difíciles y por celebrar conmigo cada pequeño logro. Tu paciencia y comprensión fueron indispensables para que pudiera concentrarme en este objetivo y culminar esta etapa, siempre motivándome a dar lo mejor de mí.

A los amigos, familia en general y a todas las personas que formaron parte de mi vida, acompañándome y apoyándome durante los años de estudio. Sin ellos nada de esto sería posible.

A la Facultad de Veterinaria, docentes, veterinarios, profesionales de IRAUy que me han brindado las herramientas necesarias para crecer tanto a nivel profesional como personal.

Y por último pero no menos importante, agradecer al personal de la Biblioteca de la Facultad de Veterinaria por su dedicación y ayuda en la búsqueda bibliográfica.

TABLA DE CONTENIDO	
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.	3
RESUMEN	5
SUMMARY	6
INTRODUCCIÓN	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
Fisiología de la reproducción de la vaca	9
FASE FOLICULAR.	11
FASE LUTEAL.	12
Principales hormonas involucradas en la regulación del ciclo estral.	13
Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).	13
Estrógenos.	13
Progesterona.	14
Prostaglandina F2 $\alpha$ .	14
Gonadotrofina coriónica equina.	15
Programas a base de estradiol para sincronización de la ovulación en IATF	16
Prohibición del uso de estradiol.	17
HIPOTESIS	19
OBJETIVOS	19
Objetivo general:	19
Objetivos específicos:	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
Animales y manejo.	20
Diseño experimental y tratamiento farmacológico.	20
Análisis estadístico	22
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30

## RESUMEN

---

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar diferentes alternativas hormonales para sustituir el uso de benzoato de estradiol (BE) para sincronizar la onda folicular en un protocolo de IATF a base de progesterona (P4). Se realizó un experimento en 1.947 vaquillonas *Bos taurus* de raza Aberdeen Angus de 14 meses con  $5,1 \pm 0,5$  y 2 años con  $4,9 \pm 0,3$  de CC (escala 1 a 8) en un total de 6 réplicas. Todas las vaquillonas fueron evaluadas al inicio del tratamiento por ecografía transrectal para determinar la actividad ovárica. Las vaquillonas fueron divididas en cuatro grupos experimentales que recibieron diferentes tratamientos para sincronizar la emergencia de la onda folicular al iniciar el protocolo para IATF: grupo J-Synch que recibió 2 mg de BE im al colocar un dispositivo intravaginal con P4 por 6 días; grupo Split-Synch que recibió 100 µg de GnRH al colocar un dispositivo con P4 por 5 días; grupo P4-Synch que recibió 100 µg de P4 inyectable al colocar un dispositivo con P4 por 6 días; y grupo Control que recibió solamente un dispositivo con P4 por 6 días. Los dispositivos se retiraron en la tarde del mismo día en todas las vaquillonas, junto a la administración im de 200 UI de gonadotropina coriónica equina y 500 µg de cloprostenol sódico como análogo de prostaglandina F2α, además de aplicar pintura en la base de la cola. Tres días más tarde se realizó la IATF: a las 62 horas de retirado el dispositivo (en la mañana) se evaluó el estado de la pintura para realizar la inseminación de aquellas vaquillonas que manifestaron celo, mientras que las que no estaban en celo recibieron una dosis de 100 µg de GnRH en ese momento y fueron inseminadas en la tarde a las 72 horas de retirado el dispositivo. La tasa de preñez se evaluó entre los 30 y 35 días de realizada la IATF. La tasa de preñez no fue diferente entre el grupo J-Synch (57%, 281/490) y Split-Synch (55%, 263/481; P= NS), y fue menor (P< 0,05) en el grupo con P4 inyectable (44%, 216/487) y Control (44%, 214/489). La tasa de preñez fue mayor en aquellas vaquillonas que tenían un cuerpo lúteo (CL) al inicio del protocolo (52%, 595/1140 vs. 47%, 379/807; con y sin CL, respectivamente; P< 0,05) y que manifestaron celo en la IATF (51%, 828/1617 vs. 44%, 146/330; con celo y sin celo, respectivamente; P < 0,05). No hubo interacción (P= NS) entre el tratamiento, la presencia de CL, y la manifestación de celo. En conclusión, el protocolo Split-Synch de 5 días con GnRH al colocar el dispositivo es una alternativa eficaz para sustituir al protocolo J-Synch que requiere la administración de estradiol. Independientemente del tratamiento, la presencia de CL al inicio del protocolo y la expresión de celo en la IATF mejoran las tasas de preñez en vaquillonas.

## SUMMARY

---

The present study aimed to evaluate hormone alternatives to replace estradiol benzoate for synchronizing follicular waves in a timed AI protocol. An experiment was conducted on 1,947 Bos Taurus Aberdeen Angus heifers aged 14 months ( $5.1 \pm 0.5$  BCS) and 2 years ( $4.9 \pm 0.3$  BCS). Ovarian activity was assessed via transrectal ultrasound at treatment initiation. Heifers were divided into four experimental groups: J-Synch received 2 mg BE im and a 6-day P4 device; Split-Synch received 100  $\mu$ g GnRH and a 5-day P4 device; P4 Synch received 100  $\mu$ g injectable P4 with a 6-day device; Control had a 6-day P4 device only. Devices were removed simultaneously, followed by 200 IU eCG im and 500  $\mu$ g PGF $2\alpha$ , with tail paint applied. AI was conducted 3 days later, starting at 62 hours post-paint for estrus cows or 72 hours post-GnRH for non-estrus. The pregnancy rate was evaluated 30-35 days post-AI. Results showed similar pregnancy rates between J-Synch (57%, 281/490) and Split-Synch (55%, 263/481;  $P=NS$ ), lower ( $P < 0.05$ ) with injectable P4 (44%, 216/487) and Control (44%, 214/489). Presence of CL at initiation (52%, 595/1140 vs. 47%, 379/807; with and without CL, respectively;  $P < 0.05$ ) and estrus expression at AI (51%, 828/1617 vs. 44%, 146/330; estrus and no estrus, respectively;  $P < 0.05$ ) increased pregnancy rate. No interactions were found. In conclusion, Split-Synch 5-day GnRH treatment is a viable alternative to J-Synch in heifers. Regardless of treatment, CL presence at initiation and estrus expression at AI enhance pregnancy rates.

## INTRODUCCIÓN

---

Uruguay cuenta con una superficie agropecuaria total de 15.179.000 hectáreas, siendo un país mayormente ganadero. Dichas hectáreas se dividen en establecimientos criadores, los cuales constituyen el 57% de toda el área ganadera nacional, por otra parte, el 19% corresponde a ciclo completo, los invernadores representan un 13% y el restante 11% se divide entre recriadores exclusivamente, ovinos exclusivamente y sin animales (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), 2021).

Según el taller de diagnóstico de gestación de INIA del 2024 la tasa de preñez del rodeo de cría fue del 84% y la tasa de procreo en Uruguay durante las últimas décadas se mantuvo estancada situándose en el 63,7%, moviéndose en un rango de 59,2% a 68,0% (DIEA, 2021), con variaciones en cada año dependiendo de factores ambientales. En estos datos no se discrimina el porcentaje de inseminados y los de monta natural. Estos bajos índices reproductivos evidencian una baja eficiencia de nuestro rodeo de cría, generando un impacto muy importante sobre la ecuación económica de un establecimiento de cría (Bó y Cutaia, 2005).

En un rodeo de cría la eficiencia reproductiva es reflejo de los resultados obtenidos en el porcentaje de preñez, su distribución y el porcentaje de procreo (Rovira, 1996).

Así mismo, existen diferentes tecnologías reproductivas que pueden ser utilizadas para maximizar estos índices. Entre ellas la Inseminación Artificial (IA), es quizás, la más utilizada junto con la sincronización del estro. Estas biotecnologías se identifican por no requerir un alto costo y ser de fácil aplicación. La implementación de IA en establecimientos de cría tiene como principal objetivo producir un progreso genético en el rodeo (Bó y Cutaia, 2005).

Sin embargo, en la actualidad se insemina el 15% del rodeo de cría del Uruguay con un constante crecimiento desde principios del 2000 (Menchaca et al., 2019), teniendo un fuerte impacto en el sector ganadero y en la economía del país.

Dentro de las causas más importantes que dificultan el uso masivo de esta tecnología podemos citar los relacionados con el manejo, la ineficiencia en la detección de celos de los animales (Bó y Cutaia, 2005), y el anestro postparto (Menchaca, Núñez-Olivera, de Castro, García Pintos, y Cuadro, 2013).

A partir del avance en la comprensión de la fisiología ovárica en rumiantes ocurrido en las últimas décadas ha sido posible el avance de nuevas estrategias farmacológicas para controlar la reproducción de las hembras. De este modo es posible superar las limitantes principales que históricamente habían representado un obstáculo para la adopción de la IA en vacas de cría. De esta manera hoy es posible sincronizar o inducir la ovulación de manera muy precisa, tanto en hembras que están ciclando como aquellas que se encuentran en anestro. Sumado a esto, el grado de sincronización que se logra con estos tratamientos es tal que permite realizar la inseminación a un tiempo predeterminado sin necesidad de detectar el estro. Esta tecnología es conocida como Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) (Menchaca et al., 2013). La IATF es probablemente la biotecnología de la reproducción que ha mostrado mayor crecimiento en los últimos años, lo que podría estar explicado por las grandes ventajas que proporciona aplicar la técnica el primer día de la estación reproductiva, favoreciendo una curva de partos concentrada, pesos superiores de terneros al destete, se evita la necesidad de detectar celos reduciendo de

esta manera la temporada de inseminación y se simplifica el trabajo con el rodeo. A su vez reduce el costo en la compra de toros y favorece el control de enfermedades venéreas, además de generar un notorio avance genético, lo que conduce a un mayor desempeño reproductivo global (Baruselli y Vieira, 2017., Bó y Cutaia, 2014., Cutaia, Veneranda, Tribulo, Baruselli y Bó., 2003; de Nava, 2015., Lamb, 2010; Menchaca et al., 2013).

En la actualidad en Brasil, Argentina, Paraguay y Uruguay aproximadamente el 20% de las vacas reciben IATF (Baruselli, 2021; Mapletoft, Bó, Baruselli, Menchaca y Sartori, 2018; Marcantonio y Etcheverry, 2020). Esta herramienta es utilizada en diferentes condiciones a través de un importante número de profesionales que la aplican sin mayores inconvenientes y con resultados aceptables (Menchaca, 2021).

### **Fisiología de la reproducción de la vaca**

La fisiología de la reproducción de la vaca está dada por una serie de cambios hormonales a través del eje hipotálamo, hipófisis y ovario, desencadenando distintos eventos fisiológicos y conductuales, que conforman lo que conocemos como ciclo estral con una duración promedio de 21 días. Este ciclo estral se manifiesta por la presencia de celo o estro, que es el comportamiento mediante el que la hembra acepta ser montada por el macho o por otra hembra. La hembra bovina es considerada poliéstrica anual, ya que puede presentar estos ciclos estrales durante todo el año. En el ovario de la vaca, el desarrollo de los folículos antrales mayores a 2 mm de diámetro se produce de manera continua y bajo un patrón muy particular en forma de ondas foliculares. Durante cada ciclo estral se puede observar la presencia de dos o tres ondas foliculares (Fortune, 1994., Ginther, Kastelic y Knopf, 1989., Martínez, Kastelic, Adams, Cook y Mapletoft., 1999), lo que influencia la duración de dicho ciclo. Aquellos ciclos más cortos de 18 a 20 días, normalmente presentan 2 ondas foliculares, mientras que los ciclos de 21 a 23 días en general tienen 3 ondas de desarrollo folicular, formando así un promedio de 21 días en la duración del ciclo estral. Las características de la primera onda folicular son similares entre el patrón de 2 ondas y el de 3 ondas. Sin embargo, la segunda onda comenzará el día 9 o 10 para los ciclos de 2 ondas y en el caso de ciclos con 3 ondas la segunda onda emerge uno a dos días más temprano (es decir, el día 8 o 9 del ciclo), y en el día 15 o 16 del ciclo estral emerge la tercera onda folicular (Bó et al., 1993; Ginther, Knopf y Kastelic, 1989c). La regresión del cuerpo lúteo (CL) comienza más temprano en los ciclos de 2 ondas (día 16) que en los ciclos de 3 (día 19) (Ginther et al., 1989a). Estos cambios explican la diferencia en días entre los ciclos estrales de 2 y 3 ondas foliculares.

Una onda folicular involucra el reclutamiento sincrónico de un grupo de folículos, simultáneamente en ambos ovarios (Ginther et al., 1989a), la cual se caracteriza por el desarrollo armónico de un pool de folículos antrales (Terciarios). Como se observa en la Figura 1 la onda folicular está dada por tres fases; reclutamiento, selección y dominancia folicular (Bó et al., 2006).

El reclutamiento folicular comienza con el aumento de la FSH que promueve el crecimiento sincrónico de un pool de folículos antrales. Esto ocurre 2 días antes del inicio de la onda y alcanza su pico máximo un día antes del mismo. Durante 2 o 3 días todos los folículos crecen, pero uno de ellos es seleccionado y se convierte en folículo dominante, mientras que el resto de los folículos (subordinados) se vuelven atrésicos y regresan (Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons y Kot, 1996). Esto se llama selección y ocurre cuando las concentraciones de FSH caen por debajo de los valores necesarios para el desarrollo de los folículos subordinados (Ginther, 2000). Eso está explicado por la producción de estradiol-17 $\beta$  por parte del folículo seleccionado, suprimiendo las concentraciones circulantes de FSH (Findlay et al, 1992., Gibbons, Wiltbank y Ginther, 1997., Ginther et al, 1996., Martin, Fogwell e Ireland, 1991). Además, el folículo seleccionado aumenta el número de receptores para la hormona luteinizante (LH) en las células de la granulosa. De esta manera continúa su crecimiento sin necesidad del soporte de FSH, a esta etapa se la denomina selección folicular. Todos los folículos poseen receptores de LH en las células

de la teca y de FSH en las células de la granulosa pero solo el folículo dominante adquiere receptores de LH en las células de la granulosa (Ginther et al., 1996). De esta manera los folículos pequeños pierden el soporte gonadotrófico, no pudiendo mantener su crecimiento ya que a diferencia del folículo seleccionado no tienen receptores suficientes para LH, entrando en atresia. Este proceso se denomina dominancia folicular. El folículo dominante continúa su crecimiento y en ausencia de progesterona (p. ej. en la fase folicular) la LH estimula una mayor producción de estradiol que le permitirá al folículo dominante seguir creciendo independientemente de las concentraciones de FSH circulante, pasando a ser LH dependiente (Ginther, Beg, Bergfelt, Donadeu y Kot, 2001). Además, comienzan a incrementar los pulsos de LH, pasan de 1 a 2 pulsos cada 6 horas a 1 a 2 pulsos por hora. Dicho incremento dura entre 12 a 14 horas produciéndose de esta manera el pico preovulatorio de LH desencadenando la ovulación y formación de un CL.

Sin embargo, en presencia de progesterona (P4) (p. ej. durante la fase luteal, en presencia de un dispositivo intravaginal de P4 o en la gestación) éste mecanismo no ocurre debido al *feedback* negativo que ejerce la progesterona sobre la pulsatilidad de LH. En esta situación, la baja frecuencia de los pulsos de LH afecta las funciones metabólicas disminuyendo la secreción de estradiol e inhibina, y frena su crecimiento, lo que lleva a la regresión (atresia) del folículo dominante (Stock y Fortune, 1993). La finalización de la secreción de estradiol e inhibina tiene como consecuencia el aumento de las concentraciones de FSH y un nuevo reclutamiento de los folículos de la siguiente onda folicular (Adams, 1998).

Independientemente del patrón de desarrollo folicular del ciclo, el día de la ovulación es conocido como el "Día 0" del ciclo ovulatorio, y es cuando inicia el desarrollo de la primera onda de desarrollo folicular (Ginther et al., 1989c). Cabe mencionar que existe una pequeña diferencia entre el ciclo estral y el ciclo ovulatorio, ya que el ciclo estral se inicia con el comienzo del celo y el ciclo ovulatorio se inicia con la ovulación.

Desde el punto de vista funcional el ciclo estral se puede dividir en dos fases: fase folicular, y fase luteal, de acuerdo al esteroide ovárico que predomina en cada periodo.

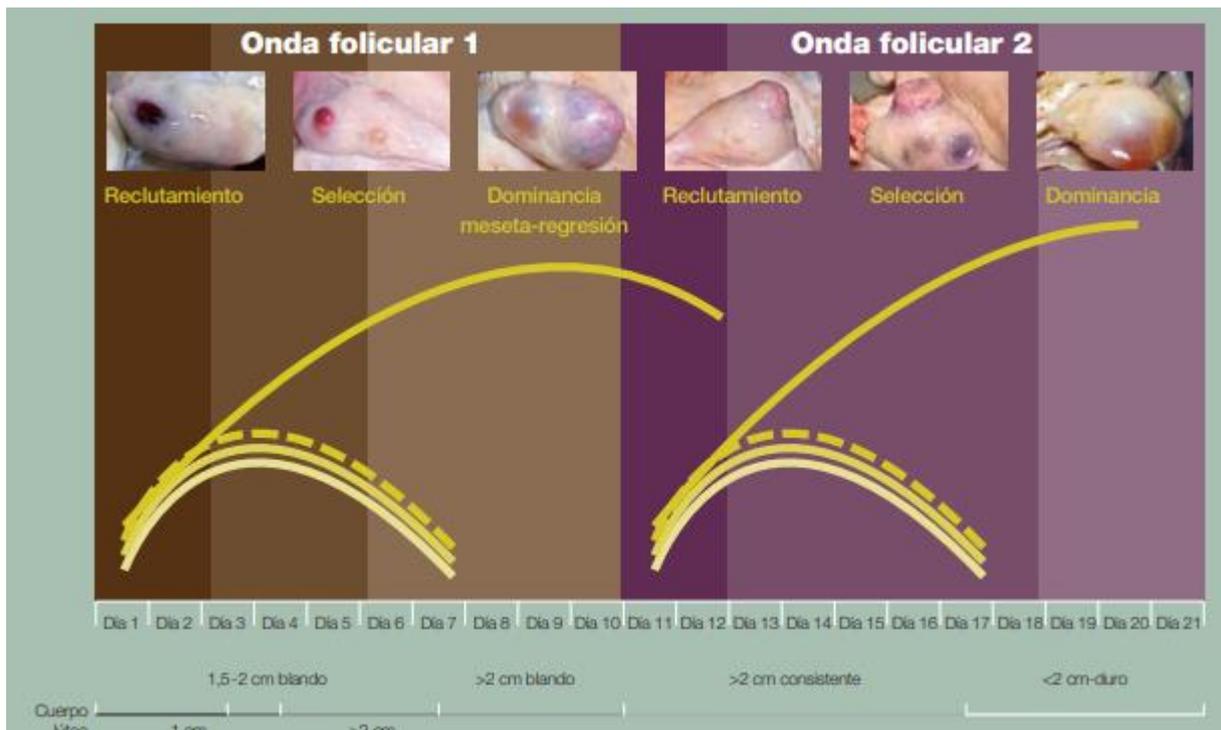


Figura 1: representación esquemática de la dinámica folicular en la vaca (Manuel Fernández Sánchez, 2008)

### **FASE FOLICULAR.**

Esta fase comienza con la luteólisis (regresión del CL), en donde decaen abruptamente las concentraciones de P4 en sangre para mantenerse en niveles no detectables o menores a 1 ng/ml. Al caer la P4 se elimina la retroalimentación negativa sobre la secreción de gonadotropinas, aumentando la frecuencia de los pulsos de LH, y en menor medida, la de FSH (Schams, 1987). Durante la fase folicular se produce el desarrollo folicular final, aumenta la concentración de estrógenos y se produce el pico de LH que induce la ovulación (Ungerfeld, 2020). En la fase folicular ocurre el proestro y el estro. El período que transcurre desde el comienzo de la luteólisis hasta la manifestación del estro se denomina proestro (Rippe, 2009), puede tener una duración de 2 a 3 días, se produce una alta concentración de estrógenos (E2) que está dada por el rápido crecimiento de un folículo dominante (Carvajal y Martínez, 2020). Desde que se produce la regresión luteal estos niveles de estradiol aumentan, alcanzando concentraciones máximas el día previo al celo (Hurnik, 1987). Dicha elevación provoca el comportamiento del celo o estro, e induce la descarga preovulatoria de LH (Bó et al., 2006). Los niveles de LH comienzan a aumentar en respuesta al pico de estrógeno (Carvajal y Martínez, 2020), avanzando hacia la etapa del estro.

El estro marca el comienzo del ciclo estral (Carvajal y Martínez, 2020), siendo el período más fácilmente reconocible por la conducta que muestra la hembra, donde acepta la monta por parte del macho. La hembra manifiesta inquietud, ansiedad, pérdida de apetito, descarga de mucus filante y edema de vulva. Su duración es muy variable, tiene un rango de 6 a 18 horas (Senger, 2003), lo cual indica que es relativamente corto, cerca del 25% tienen celos de menos de 8

horas de duración, y son muy pocas las que superan las 24 horas. (Carvajal y Martínez, 2020).

La transición de la fase folicular a la fase lútea está marcada por la ovulación (Carvajal y Martínez, 2020). La ovulación se produce por un aumento súbito preovulatorio de LH. Este pico de LH en la hembra bovina se produce de forma espontánea, es decir que se desencadena a partir de mecanismos endócrinos inducido por los estrógenos (Ungerfeld, 2020). La ovulación ocurre entre las 24 y 30 horas de iniciado el estro (Senger, 2003), formando parte del metaestro.

La prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) y otros mediadores de la inflamación también intervienen en la ovulación, estimulando las contracciones ováricas que produce la rotura del folículo y expulsión del ovocito. El folículo se convierte en cuerpo hemorrágico, ya que a la ovulación le sigue una hemorragia profunda. La secreción de FSH continúa, se incrementa la amplitud de los pulsos y la concentración basal, relacionándose con la primera onda de crecimiento folicular.

### **FASE LUTEAL.**

La fase luteal comienza con la ovulación, el folículo ovula y se forma el cuerpo hemorrágico que luego da lugar al CL. Esta fase se extiende hasta el día 16-19, y se divide en metaestro y diestro (Ungerfeld, 2020). Durante esta fase el útero se prepara para una posible gestación, manteniéndose alta la concentración de P4. El metaestro ocurre inmediatamente luego de la finalización del estro y el diestro se caracteriza por la presencia de un CL funcional, siendo la etapa más larga del ciclo.

Inmediatamente antes de la ovulación ocurren cambios en el folículo que determinan que las células pierdan su capacidad de secretar estrógenos y comiencen a producir y liberar P4 (Hansel y Fortune, 1978). Las células de la teca y de la granulosa se diferencian (luteinizan) en células luteales formando de esta manera el CL (Fitz, Mayan, Sawyer, Niswender, 1982), que es el encargado de producir la hormona P4 (Carvajal y Martínez, 2020). Las células de la teca se convierten en células conocidas como células luteales pequeñas, que son de menor diámetro (<15 μm), y las de la granulosa en células de mayor tamaño, también llamadas células luteales grandes (>15 μm). Mientras se desarrolla el CL, las concentraciones de P4 secretada por éste aumentan (Ungerfeld, 2011). Las concentraciones de P4 comienzan a elevarse en los días 3-4 después de la ovulación, dando inicio al diestro, entre los días 8 y 12 alcanzan un pico y luego descienden hasta concentraciones basales antes del próximo estro (Bó et al, 2012). La función de la P4 es preparar al útero y mantener una posible preñez si el ovocito es fecundado (Carvajal y Martínez, 2020). Si la gestación no se establece, el endometrio secreta PGF<sub>2α</sub> lo que induce a la luteólisis, reiniciándose así un nuevo ciclo estral. (Hernández, 2016). La luteólisis ocurre entre los días 16 a 20 del ciclo (Bó et al., 2012), disminuyendo los niveles de P4; como resultado aumenta la cantidad de FSH, y de esta manera comienza el siguiente ciclo (Carvajal y Martínez, 2020).

## **Principales hormonas involucradas en la regulación del ciclo estral.**

Se define a una hormona como una sustancia química que actúa como mensajero a nivel celular, uniéndose a proteínas específicas denominadas receptores, la respuesta de dicha hormona depende de su concentración y el patrón de secreción (Bó et al., 2012). Las hormonas se pueden clasificar teniendo en cuenta diferentes aspectos como puede ser su estructura química, donde podemos citar las peptídicas, esteroideas, compuestos derivados de aminoácidos y las derivadas de ácidos grasos. Otra forma de clasificarlas es por su origen, de esta manera tenemos hormonas hipotalámicas, hipofisarias, hormonas gonadales, etc., o dependiendo de su sitio de acción las podemos clasificar en intrácrina, autócrinas, parácrinas, endócrinas o neuroendocrinas. Las principales hormonas involucradas en la manipulación del ciclo estral son la hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH, P4, 17 $\beta$ -estradiol, PGF2 $\alpha$  y gonadotropina coriónica equina (eCG).

### **Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).**

La GnRH tiene un rol de importancia en la regulación de la ciclicidad de la hembra, es un decapeptido secretada por células hipotalámicas y se vuelca al sistema porta hipotálamo-hipofisario para estimular la secreción de gonadotropinas, hormona foliculoestimulante o FSH y hormona luteinizante o LH por parte de los gonadotropos de la adenohipófisis, (Ungerfeld, 2020). Durante el ciclo estral la GnRH se secreta en pulsos, este patrón de secreción pulsátil induce la producción pulsátil crítica de las gonadotropinas, de la FSH y de la LH (Ungerfeld, 2020). En general, el sistema generador de pulsos para la liberación de gonadotropinas aumenta en la fase folicular y disminuye en la fase luteal del ciclo estral (Ungerfeld, 2020). En medicina veterinaria la GnRH natural y sus diferentes análogos (Gonadorelina, Buserelina y Lecirelina) son usados en terapia de quistes foliculares o sincronización de la ovulación para protocolos de IATF. En un estudio utilizando vaquillonas Holando, se evaluó la eficiencia de la respuesta de vaquillonas al tratamiento con Gonadorelina, Buserelina y Lecirelina. La concentración máxima media de LH después del tratamiento con gonadorelina fue 2.5 veces menor que después del tratamiento con lecirelina o buserelina. Sin embargo, el porcentaje de ovulación y la emergencia de una nueva onda folicular no defirió entre el uso de las tres GnRH (Picard-Hagen, et al., 2015).

### **Estrógenos.**

El principal estrógeno que se secreta en el ovario es el 17- $\beta$ estradiol, siendo el más potente presente en animales y humanos y en menores concentraciones estrona y estriol. En el proceso de producción de estradiol por parte del folículo intervienen las células de la teca, las cuales poseen receptores de LH que mediante su estímulo producen andrógenos. Los andrógenos luego pasan a través de la membrana basal a las células de la granulosa, donde mediante la acción de la FSH se induce su aromatización para transformarse en estrógenos que son liberados al antro folicular y de allí a la circulación general (Ginther et

al., 2001). Los estrógenos presentan funciones fisiológicas muy variadas, entre ellas: inducen el comportamiento de estro actuando en el sistema nervioso central, actúan en el útero aumentando la masa del endometrio y del miometrio, además de aumentar la actividad y frecuencia de las contracciones mediante la potencialización de los efectos de oxitocina y de la prostaglandina (Bó et al., 2012). En ausencia de P4, los estrógenos estimulan en la hipófisis la síntesis para receptores de GnRH promoviendo la síntesis del pico de LH, y la ovulación del folículo dominante. El principal productor de estrógenos es el ovario, su metabolismo es hepático y su eliminación se da por la orina principalmente. Para el manejo farmacológico del ciclo estral, los principales esteres de estradiol son benzoato (BE) y el Cipionato (ECP) de estradiol. A medida que estos compuestos alcanzan la circulación son hidrolizados por una enzima esterasa transformándose en 17- $\beta$ estradiol y ejerciendo así su acción (Bosolasco, 2021).

### **Progesterona.**

La P4 es el progestágeno que se presenta en mayor cantidad en forma natural, es secretada por las células del CL durante la fase luteal y la gestación, la placenta y las glándulas adrenales (Bó et al., 2012) su función es preparar al útero para la implantación y mantener la gestación mediante el aumento de las glándulas secretoras del endometrio e inhibiendo su motilidad (Senger, 2003). Por esta razón es considerada como la hormona de la preñez.

La P4 es la hormona de mayor importancia en el control endocrino reproductivo ya que ejerce una importante retroalimentación negativa sobre el eje hipotálamo-hipofisario. La P4 elevada reduce la frecuencia de la secreción basal episódica de GnRH por parte del centro tónico de GnRH en el hipotálamo. Sin embargo, la amplitud de los pulsos de LH sigue siendo relativamente alta. Este patrón de secreción de LH, junto con la secreción tónica de FSH, permite el desarrollo de folículos durante la fase lútea. Estos folículos no alcanzan el estado preovulatorio hasta que disminuyen los niveles de P4 y aumenta la frecuencia de los pulsos de LH. Por lo tanto, la P4 alta impide el desarrollo de folículos preovulatorios, la producción de estrógeno, conducta de celo y el pico preovulatorio de GnRH y LH (Senger, 2003).

Menchaca et al., (2021) proponen que, si se administra una dosis de P4 inyectable al momento de colocar el dispositivo intravaginal se induce a una alta concentración de esta hormona en el inicio del protocolo (P4 del dispositivo + P4 del CL + P4 inyectable). Este aumento en concentración de P4 podría inhibir la pulsatilidad de LH, se le quitaría el soporte gonadotrópico al folículo dominante, y podría favorecer el recambio folicular y la emergencia de una nueva onda.

### **Prostaglandina F2 $\alpha$ .**

Las prostaglandinas son ácidos grasos no saturados, la gran mayoría actúan de forma parácrina, es decir que ejercen su función en el sitio donde son producidas, aunque también se las puede transportar en la sangre para actuar lejos del tejido de producción. La PGF2 $\alpha$  es la prostaglandina más relacionada con la reproducción, tiene propiedades luteolíticas en animales domésticos, además

estimula las contracciones uterinas, transporte de los espermatozoides (tanto en la hembra como en el macho), y provoca constricción de los vasos sanguíneos e interviene localmente en la ovulación (Bó et al, 2012).

En los rumiantes esta hormona llega desde el endometrio del útero al ovario por un fenómeno denominado mecanismo de contracorriente; al ser liposoluble difunde de las paredes de la vena útero-ovárica a la arteria ovárica, y de ahí directamente al CL, lo cual está favorecido por la relación existente entre la vena y arteria (Bó et al, 2012).

Es necesario resaltar que la PGF2 $\alpha$  es incapaz de provocar la regresión, ni evita la formación del CL durante los primeros cinco días de formación, aumentando gradualmente la sensibilidad del CL hasta el día 10. Estas limitaciones tienen relevancia a la hora de implementar un tratamiento con dicha hormona. Por esta razón el efecto de la administración de PGF2 $\alpha$  dependerá del momento del ciclo en que es aplicada. Es así que, debido a que el CL está en desarrollo, del día 1 al 4 no se van a observar respuestas al tratamiento con dicha hormona. En los días 5 y 6 la respuesta será parcial ya que está finalizando el desarrollo del CL. Entre los días 7 y 17 los efectos luteolíticos de la PGF2 $\alpha$  son más notorios. Por otra parte, hacia el final del ciclo, no hay acción de dicha hormona ya que el CL no es funcional (días 18 a 21) (Callejas, 2004).

### **Gonadotrofina coriónica equina.**

La eCG es una hormona denominada originalmente como gonadotrofina sérica de yegua preñada (PMSG). Es una hormona que pertenece a la familia de hormonas glicoproteicas y es producida en las copas endometriales de las yeguas preñadas entre los días 40 y 120 de gestación aproximadamente (Murphy, 2012). En medicina veterinaria esta hormona ha sido ampliamente estudiada y se ha visto que la administración en otras especies distintas del equino tiene una actividad tipo LH y FSH, como consecuencia tiene una gran afinidad por ambos tipos de receptores en los ovarios (Murphy, 2012). Esta hormona es una molécula de gran utilidad en programas reproductivos, posee un efecto de larga duración (vida media de aproximadamente 40 horas) sobre los receptores de las células de granulosa y de la teca, estimulando la secreción de estradiol y P4 (Bó et al., 2011). Por este motivo es utilizada cada vez con más frecuencia en protocolos de reproducción bovina.

La eCG puede desempeñar una gran cantidad de funciones dentro de los programas de reproducción, dentro de las cuales cabe mencionar que su administración estimula el desarrollo de los folículos de tamaño medio y grande e induce la ovulación del folículo dominante que se encuentre presente en el momento del tratamiento, tiene mayor respuesta ovárica con dosis elevadas por lo que su efecto es dosis dependiente (Nuñez-Olivera et al., 2014). Se ha observado que al promover el aumento del tamaño del folículo preovulatorio, el CL que posteriormente se desarrolla es de mayor tamaño, produciéndose una mayor concentración de P4 (Nuñez-Olivera et al., 2014). Por tal motivo, usada como parte de los protocolos de sincronización para IATF mejora la tasa de concepción, mejora el desarrollo y la supervivencia embrionaria.

## **Programas a base de estradiol para sincronización de la ovulación en IATF.**

Para realizar un control efectivo del ciclo estral y poder realizar IATF sin detectar celo existen tratamientos hormonales que incluyen el uso de P4, GnRH y estradiol. Los protocolos farmacológicos en base a estradiol y P4 han sido utilizados por más de 20 años en diferentes condiciones en todos los países de Latinoamérica (Bó, 2020). En los primeros estudios que utilizaron estradiol para controlar la dinámica folicular en la vaca, se determinó que el 17- $\beta$ estradiol es eficaz en la sincronización de la emergencia de una onda folicular aplicado un día después de la colocación del dispositivo intravaginal con P4 (Bo et al., 1995). Posteriormente se comparó el BE frente al 17- $\beta$ estradiol para la sincronización de la emergencia de una onda folicular concluyendo que se necesita una dosis de 2 mg de BE para lograr la regresión del folículo dominante y el reinicio de una nueva onda folicular (Caccia et al. 1998). A partir de esta información, el uso de BE en esta dosis asociado a un dispositivo intravaginal con P4 se ha transformado en el tratamiento de rutina para iniciar un protocolo de IATF. Este tratamiento con ambos fármacos combinados inhibe la liberación de LH y FSH, induciendo la atresia del folículo dominante y sincronizando la emergencia de una nueva onda folicular 3 o 4 días más tarde (Bó et al., 1995), evitando de esta manera la formación de un folículo persistente que determinará una menor fertilidad (Adams., 1999). Los protocolos de IATF han sufrido múltiples modificaciones a lo largo de los años, estudiándose el uso de diferentes hormonas tanto al iniciar como al finalizar un protocolo, así como también el mejor momento para retirar el dispositivo intravaginal.

En un principio los protocolos con estradiol y P4 consistían en la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de P4 durante 7-8 días, junto con 2 mg de BE im, y al momento de retirar el dispositivo se administra una dosis de PGF2 $\alpha$ , asegurando de esta manera la luteolisis, asociándose a su vez con una dosis de eCG para favorecer la ovulación e incrementar la tasa de preñez (Núñez-Olivera et al., 2014). En este caso no solo se utilizaba BE al inicio del protocolo sino también 24 horas después de retirar el dispositivo, siendo administrado a la dosis de 1mg, cumpliendo la función de inductor de la ovulación (Bó et al., 2002; Martínez et al., 2002), asegurándose de esta manera que el folículo preovulatorio alcance la ovulación de manera muy sincronizada para realizar la IATF a todo el rodeo en un solo día. Posteriormente el uso de BE fue reemplazado por otro éster de estradiol, el ECP, el cual permite sincronizar la ovulación cuando es utilizado al momento del retiro del dispositivo, simplificando de esta manera el protocolo ya que el número de veces que los animales se traen a las instalaciones se redujo de 4 a 3 encierros, sin afectar la tasa de preñez (Colazo et al., 2003; Bó et al., 2013).

Como se ha mencionado anteriormente también se han publicado trabajos modificando estos protocolos mediante la prolongación del proestro. El periodo denominado proestro es el intervalo que ocurre desde el retiro del dispositivo intravaginal a la administración del inductor de la ovulación o la inseminación. Se demostró que se obtienen mejores resultados con los protocolos de IATF cuando este periodo se prolongaba por algunas horas más (Bridges et al., 2008; 2010, De la Mata et al., 2018).

Teniendo en cuenta el hallazgo reportado por Bridges et al., 2008 y 2010 el protocolo “Convencional” fue modificado, en primera instancia el tratamiento con P4 se cambió a 6 días, además, se sustituyó la administración de ECP al momento de retirar el dispositivo (con IATF a las 48-56 horas), por una dosis de GnRH administrada a las 60-72 horas luego del retiro del dispositivo (atrasando también la IATF a ese momento), este protocolo fue llamado J-Synch (de la Mata et al., 2018). El mismo consiste en la inserción de un dispositivo intravaginal de P4 durante 6 días, junto con la administración im de 2 mg de BE. El dispositivo es retirado el día 6 a última hora de la tarde y se administra una dosis im de eCG (200 UI) y PGF2alfa (500 ug), así como también se aplica pintura en la base de la cola para determinar en el día de la IATF que vaquillonas manifiestan celo. La IATF se realiza tres días más tarde, entre las 62 y 72 horas luego de retirar el dispositivo. El día de la IATF se evalúa a primera hora el estado de la pintura y aquellas vaquillonas que han manifestado celo reciben la IATF en ese momento (62 horas del retiro del dispositivo), mientras que las que aún no han manifestado celo se les administra una dosis de GnRH y la IATF se realiza en la tarde (72 horas del retiro del dispositivo). Con este nuevo protocolo la tasa de preñez en vaquillonas mejoró significativamente en unos 5 a 10 puntos porcentuales (de la Mata et al., 2018; Nuñez-Olivera et al., 2022). En los países de Latinoamérica donde las sales de estradiol están disponibles el protocolo J-Synch se ha transformado en unos de los protocolos de IATF más utilizado en vaquillonas de ganado de carne.

### **Prohibición del uso de estradiol.**

A partir de las nuevas exigencias comunicadas en el año 2020 al MGAP por parte de la Unión Europea de que toda carne que ingrese a dicha comunidad nunca debió de ser tratada con sales de estradiol (ej. Benzoato o Cipionato de Estradiol), Uruguay en el año 2021 consideró conveniente adecuar la normativa vigente a las exigencias de los mercados internacionales, estableciendo la suspensión transitoria del uso, tenencia, fabricación para uso interno, venta, comercialización e importación de productos veterinarios que contengan estradiol  $17\beta$  y sus derivados de tipo éster en su formulación durante el período comprendido entre el 1º de enero y 30 de setiembre inclusive (Resolución N° 269/020 DGSG).

Más adelante el 28 de setiembre de 2021, la DGSG resolvió mantener la suspensión del uso de la hormona Estradiol por un año más, hasta el 30 de setiembre de 2022 inclusive (Resolución N° 263/021 DGSG).

Actualmente Uruguay no ha culminado la implementación de los programas complementarios del sistema informático de trazabilidad para el monitoreo de la comercialización y uso de productos veterinarios, con el fin de garantizar el control efectivo del suministro de los mismos en la etapa de producción, a fin de cumplir con las exigencias de los mercados internacionales en materia higiénico-sanitaria; por tanto, dicha resolución se viene renovando año a año.

Frente a la prohibición del uso de estradiol, la bibliografía indica que los protocolos de sincronización para IATF a base de GnRH pueden ser usados como sustitutos, tanto al inicio del tratamiento de sincronización como para

inducir la ovulación. El primer protocolo reportado a base de GnRH se lo conoce con el nombre “Ovsynch”, desarrollado únicamente con el uso de GnRH y PGF2 $\alpha$  (Pursley et al., 1995), el cual consiste en la administración de una dosis de GnRH para inducir el pico de LH, lo cual genera la ovulación del folículo dominante y de esta manera emerge una nueva onda folicular 1 a 2 días más tarde. A los 7 días de iniciado el protocolo se administra una dosis de PGF2 $\alpha$  para la regresión luteal, 48 horas más tarde se administra nuevamente una dosis de GnRH y 12-16 horas después se realiza la inseminación (Pursley et al., 1995).

Luego este protocolo ha sido mejorado con el agregado de P4 exógena (Stevenson et al., 2003), permitiendo una mejor sincronización de la emergencia de la onda folicular y una mejor calidad del ovocito. Además, se fueron proponiendo otros ajustes como por ejemplo administrar la GnRH al mismo momento de la inseminación, simplificando el protocolo de 4 a 3 manejos de los animales, pasando a llamarse “Co-Synch de 7 días” (Geary y Whittier, 1998). Posteriormente se propuso prolongar el proestro, acortando el tratamiento con progesterona de 7 a 5 días, alargando el intervalo desde el retiro hasta la GnRH/IATF de 56 a 72 horas (Bridges et al., 2008; 2014; Whittier, Currin, Schramm, Holland y Kasimanickam, 2013; Day, 2015), protocolo conocido como “Co-Synch de 5 días”.

Frente a la prohibición del uso de estradiol y teniendo en cuenta que actualmente los protocolos más utilizados en el país y la región son a bases de estradiol, utilizando BE para sincronizar la onda folicular y ECP como inductor de la ovulación (Bó et al., 2020) en IRAUy se han desarrollado una serie de estudios para generar nuevas alternativas para la sincronización de la ovulación en los protocolos de IATF que sean libres del uso de sales de estradiol, alcanzando tasas de preñez similares, manteniendo una técnica sencilla y de fácil aplicación, y que no requiera traer a los animales más de tres veces a las instalaciones.

## HIPOTESIS

---

El uso de GnRH o P4 inyectable al comenzar el protocolo de IATF son eficaces para utilizar como sustituto del BE en vaquillonas *Bos taurus*.

## OBJETIVOS

---

### **Objetivo general:**

Evaluar diferentes alternativas hormonales al uso de BE durante el inicio de un tratamiento de IATF para sincronizar la onda folicular en vaquillonas *Bos taurus*.

### **Objetivos específicos:**

Evaluar un tratamiento hormonal a base de GnRH como sustituto del protocolo a base de estradiol (protocolo J-Synch), sobre la expresión de celo a la IATF y tasa de preñez en vaquillonas *Bos taurus*.

Evaluar el uso de un tratamiento hormonal a base de P4 inyectable al inicio de un protocolo de IATF, como sustituto del BE, sobre la expresión de celo a la IATF y tasa de preñez en vaquillonas *Bos taurus*.

Determinar el efecto de la presencia de CL al inicio del tratamiento y la expresión de celo a la IATF sobre la tasa de preñez.

### **Animales y manejo.**

El experimento se realizó durante la temporada de servicio reproductivo en el mes de noviembre del año 2020. En el proyecto participaron dos establecimientos ganaderos ubicados en el departamento de Rocha. Para este trabajo se utilizaron 1.947 vaquillonas Angus, 1.463 eran de 14 meses con  $5,1 \pm 0,5$  de condición corporal (CC, escala 1 a 8) pertenecientes a un mismo predio, y 484 eran de 2 años con  $4,9 \pm 0,3$  de CC pertenecientes al otro predio. Las vaquillonas fueron sincronizadas en seis replicas y en cada una se aplicó el mismo diseño con los mismos grupos experimentales. Además, en todos los casos los animales fueron manejados bajo similares sistemas de pastoreo y acceso de agua *ad-libitum*.

Todos los procedimientos, incluyendo los inyectables, aplicación de dispositivos intravaginales, y ecografía útero-ovárica, fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA) de la Fundación IRAUy avalada por la Comisión Nacional de Experimentación Animal (Resolución 001-2020).

### **Diseño experimental y tratamiento farmacológico.**

Al inicio de cada tratamiento (día 0) en todas las hembras se evaluó la actividad ovárica por medio de ecografía modo B utilizando un traductor lineal (7,5 MHz, RAKU10, Kaixin, Jiangsu, China) y se clasificó en vaquillonas con o sin presencia de CL. Aquellos animales que presentaron CL se consideraron como vaquillonas con actividad cíclica, y los animales sin CL se clasificaron en a) anestro profundo, aquellas vaquillonas que presentaron folículos menores a 8 mm, y b) anestro superficial, las que presentaron folículos con un diámetro mayor o igual a 8 mm. En este momento, en cada replica las vaquillonas fueron asignadas al azar a cuatro grupos experimentales.

1. Grupo J-Synch (n=490), que se inició con una dosis de BE im (2 mg, Gonadiol, Zoetis, Argentina)
2. Grupo Split-Synch 5d (n= 481), que se inició con una dosis de GnRH im (100 µg acetato de gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis)
3. Grupo P4-Synch (n=487), que se inició con una dosis im de P4 inyectable en solución oleosa (100 mg, Syntex, Argentina)
4. Grupo Control (n=489), que se inició sin la administración de ningún fármaco para sincronizar la emergencia de la onda folicular

Todas las vaquillonas recibieron un dispositivo intravaginal conteniendo 0,5 g de P4 (DIB 0,5 Zoetis). En los grupos J-Synch, P4-Synch y Control el dispositivo se colocó el mismo día y se mantuvo durante 6 días, mientras que en el grupo Split-Synch 5d el dispositivo se colocó un día después que los tres grupos anteriores y se mantuvo durante 5 días. Los dispositivos se retiraron en todas las vaquillonas en un mismo día, a última hora de la tarde, y se administró en todos los grupos una dosis de eCG im (200 UI, Novormon, Zoetis) y PGF $2\alpha$  (500 µg cloprostenol, Ciclase DL, Zoetis). A su vez se aplicó pintura en la base de la cola para determinar en el día de la IATF, que vaquillonas habían manifestado celo.

Tres días más tarde entre las 62 y 72 horas luego de retirar el dispositivo se realizó la IATF. El día de la IATF a primera hora de la mañana se evaluó el estado de la pintura y aquellas vaquillonas que habían manifestado celo recibieron la IATF en ese momento (a partir de las 62 horas de retirado el dispositivo), mientras que las que aún no habían manifestado celo se les administró en ese momento una dosis de GnRH (100 µg gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis), realizándose la IATF en la tarde (a partir de 72 horas de retirado el dispositivo). En cada réplica se utilizó semen de dos toros y aplicado por dos inseminadores, asignando la misma cantidad de vaquillonas a cada toro y cada inseminador. A los 30-35 de la IATF se realizó el diagnóstico de gestación utilizando ecografía modo B utilizando un traductor lineal (7,5 MHz, RAKU10, Kaixin, Jiangsu, China). En cada réplica las vaquillonas permanecieron juntas y bajo el mismo manejo todo el tiempo, sin separarse los grupos experimentales en potreros diferentes, momento de IATF, inseminador, ni toro utilizado. De esta manera, los grupos experimentales en cada réplica estuvieron balanceados considerando presencia/ausencia de CL, inseminador, semen utilizado, hora de inseminación. El diseño experimental se puede observar en la Figura 2.

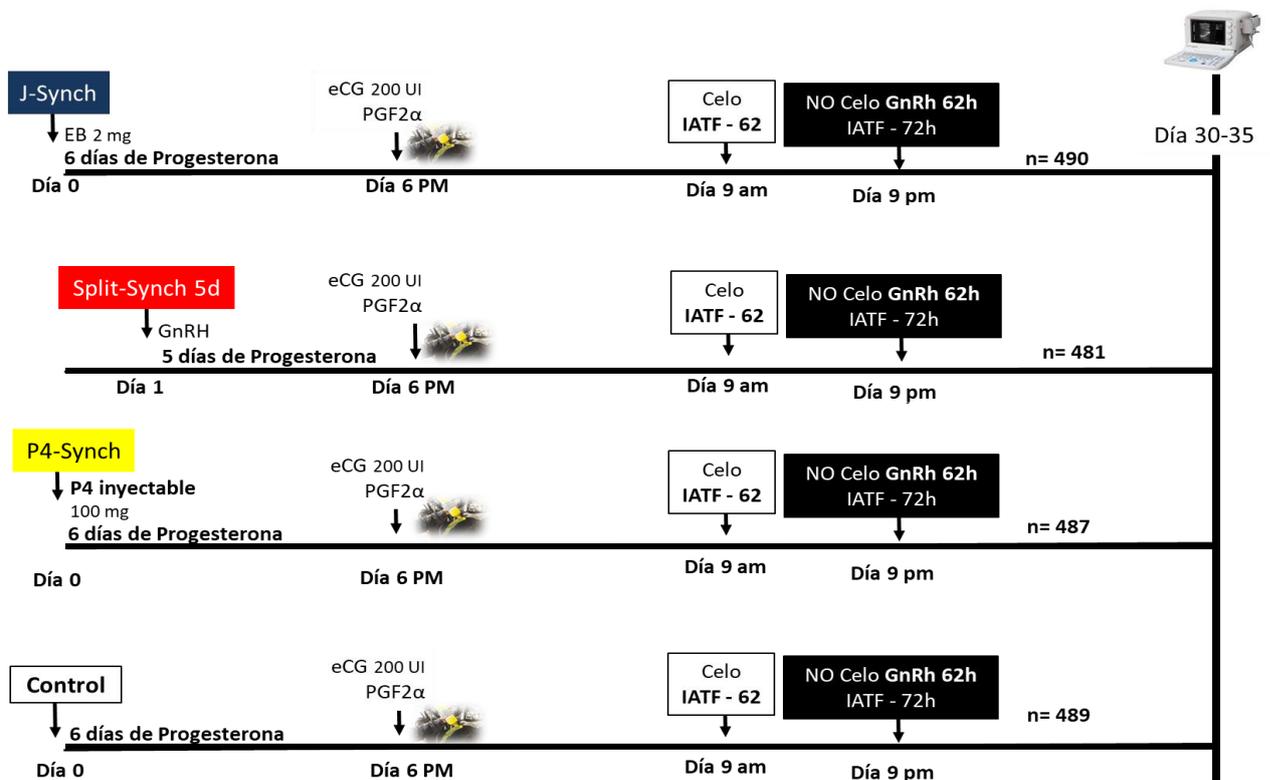


Figura 2. Representación esquemática del diseño experimental. BE: Benzoato de Estradiol, P4: progesterona, eCG: Gonadotropina coriónica equina, PGF2α: prostaglandina F2α, IATF: inseminación artificial a tiempo fijo.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico fue realizado mediante Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM), utilizando el software estadístico InfoStat (versión 2020). Incluyendo como variables fijas el tratamiento, presencia/ausencia de CL, y expresión de celo, que se presentan en resultados como efectos principales; y se analizaron también las interacciones tratamiento x celo, tratamiento x presencia/ausencia de CL, celo x presencia/ausencia de CL, y celo x tratamiento x presencia/ausencia de CL. El animal, número de réplica, inseminador, toro y partida de semen fueron incluidas como variable aleatoria. Se consideró un valor  $P < 0,05$  para definir diferencias significativas, y  $P < 0,1$  para tendencias. Las medias se presentan con el error estándar y las tasas de CL, celo y preñez se presentan como porcentajes.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los efectos principales sobre la tasa de preñez. En primer lugar, se evaluó la presencia o no de CL al inicio del experimento, las vaquillonas que tenían CL tuvieron mayor tasa de preñez que las vaquillonas sin CL ( $P < 0,01$ ). Por otro lado, independientemente del grupo experimental las vaquillonas que manifestaron celo al momento de la IATF tuvieron mayor tasa de preñez que las que no manifestaron celo ( $P < 0,01$ ). Al tener en cuenta el tratamiento, se observa mayor tasa de preñez en los grupos J-Synch y Split-Synch con respecto a los grupos P4-Synch y grupo control ( $P < 0,01$ ). Al evaluar las diferentes interacciones (tratamiento x celo, tratamiento x presencia/ausencia de CL, celo x presencia/ausencia de CL, y celo x tratamiento x presencia/ausencia de CL) no se observaron diferencias estadísticas, por lo cual en la siguiente tabla sólo se mostrarán los resultados de los efectos principales.

Tabla 1. Tasa de preñez según cada una de las variables analizadas en vaquillonas *Bos taurus* de 14 meses y 2 años.

	Ovario		Celo IATF		Tratamiento			
	Con CL	Sin CL	Celo	No Celo	J-Synch	Split-Synch	P4-Synch	Control
<b>Tasa de Preñez</b>	<b>52%<sup>a</sup></b>	<b>47%<sup>b</sup></b>	<b>51%<sup>a</sup></b>	<b>44%<sup>b</sup></b>	<b>57%<sup>a</sup></b>	<b>55%<sup>a</sup></b>	<b>44%<sup>b</sup></b>	<b>44%<sup>b</sup></b>
	595/1140	379/807	828/1617	146/330	281/490	263/481	216/487	214/489
<b>Valor P</b>	0.01		0.01		0.0001			

Cuando se evaluó la tasa de celo (vaquillonas en celo/vaquillonas sincronizadas) al momento de realizar la IATF no se observan diferencias estadísticas entre los grupos experimentales (P= NS). Sin embargo, al evaluar la tasa de preñez en las vaquillonas que habían manifestado a la IATF los grupos J-Synch y Split-Synch (59%, 235/401 y 58%, 228/394, respectivamente) tuvieron mayor tasa de preñez con respecto a los grupos P4-Synch y grupo Control 44%, 180/406 y 45%, 185/416, respectivamente; P < 0,05). No se encontró diferencia estadística en las hembras que no manifestaron celo. Al evaluar la tasa de preñez total independientemente de la expresión de celo, la preñez fue similar entre el protocolo J-Synch y el protocolo Split-Synch 5 días (57%, 281/490 y 55%, 263/481, respectivamente; P= NS), y significativamente menor (P< 0,05) en las vaquillonas que recibieron el protocolo con P4 inyectable y en las que no recibieron ningún tratamiento al colocar el dispositivo (44%, 216/487; y 44%, 214/489, respectivamente). Los resultados se pueden observar en la Tabla 2.

Tabla 2. Tasa de celo (vaquillonas en celo/sincronizadas) al momento de la IATF y tasa de preñez (vaquillonas preñadas/sincronizadas) de acuerdo a la manifestación de celo a la IATF para cada uno de los grupos experimentales en vaquillonas *Bos taurus*.

	Tasa de celo		Tasa de preñez	
	Celo a IATF	Celo a IATF	No Celo a IATF	Preñez total
<b>J-Synch</b>	82% 401/490	59% <sup>a</sup> 235/401	52% 46/89	57% <sup>a</sup> 281/490
<b>Split-Synch</b>	82% 394/481	58% <sup>a</sup> 228/394	40% 35/87	55% <sup>a</sup> 263/481
<b>P4-Synch</b>	83% 406/487	44% <sup>b</sup> 180/406	44% 36/81	44% <sup>b</sup> 216/487
<b>Control</b>	85% 416/489	45% <sup>b</sup> 185/416	40% 29/73	44% <sup>b</sup> 214/489

Para una misma columna, a vs. b, P< 0,05

Los resultados confirmaron la hipótesis que con el protocolo a base de GnRH (Split-Synch 5 días) se obtuvo una tasa de preñez similar al protocolo J-Synch, siendo eficaz como sustituto a un protocolo a base de BE para sincronizar vaquillonas *Bos Taurus* en protocolos de IATF. Sin embargo, con el tratamiento a base de P4 inyectable no se cumplió la hipótesis ya que se obtuvo una tasa de preñez más baja que con el protocolo J-Synch, no siendo una alternativa eficaz para utilizar en protocolos de IATF.

El protocolo Split-Synch de 5 días utilizado en esta tesis fue propuesto en una serie de varios estudios por el grupo de IRAUy (Menchaca 2021), y utiliza como referencia el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días desarrollado en EEUU (Day, 2015). Las diferencias entre ambos protocolos radican en que en el Co-Synch todas las hembras reciben GnRH al momento de la IATF, y se inseminan todas juntas sin separar en AM/PM entre las que manifiestan o no manifiestan celo. En cambio, en el protocolo Split-Synch no todas reciben GnRH, y se inseminan separadas las que manifiestan celo y las que no manifiestan celo. Asimismo, en el protocolo Split-Synch el horario de remoción del dispositivo al Día 5 se realiza en la tarde y no en la mañana. Por estos motivos y estas diferencias, no sería correcto denominar ambos protocolos de la misma forma, y debido a la división del lote de animales al momento de la inseminación es que el grupo de IRAUy le ha denominado Split-Synch.

Como muestran los resultados con el protocolo Split-Synch 5 días se obtuvieron iguales tasas de preñez que con J-Synch (que es uno de los protocolos de IATF más usado en vaquillonas en países donde se permite el uso de estradiol). No se encontraron reportes donde se comparen el uso de estos dos protocolos en vaquillonas. Sin embargo, en la bibliografía internacional existen algunos trabajos que comparan J-Synch vs. Co-Synch 5 días Bó et al., (2016), utilizando vaquillonas de carne *Bos taurus*. En dicho estudio realizaron un experimento de dinámica folicular donde evaluaron la eficiencia de la sincronización de celos y consecuente ovulación de los protocolos J-Synch (n=12) y Co-Synch 5 días (n=14). Las variables evaluadas fueron; tasa ovulatoria, hora media de ovulación, diámetro del folículo preovulatorio además de tasa de preñez. En los resultados obtenidos no se observó diferencia estadística para las cuatro variables evaluadas. Sin embargo, debido al bajo número de animales tal vez el resultado de tasa de preñez habría que mirarlo de forma crítica y repetirlo con un número mayor de animales para obtener una conclusión más sólida. En otro estudio, si bien no se utilizó el protocolo Split-Synch pues aún no se había desarrollado por el grupo de IRAUy, Ré (2018) realizó dos experimentos en vaquillonas Holando evaluando el uso de Co-Synch 5 días, comparando los protocolos J-Synch, Co-Synch 5 días y Protocolo Convencional (utilizando BE al inicio y 1 día después de la remoción del dispositivo como inductor de la ovulación). El primer

experimento de dinámica folicular utilizó 20 vaquillonas Holando por grupo experimental, no encontró diferencias estadísticas para la tasa ovulatoria y hora media de ovulación en las vaquillonas sincronizadas con J-Synch vs. Co-Synch 5 días, pero en estos dos grupos la hora media de ovulación fue mayor que en el protocolo Convencional. El diámetro del folículo ovulatorio fue mayor en las vaquillonas del grupo Co-Synch 5 días que las de J-Synch y Convencional ( $14,9 \pm 0,6$  mm vs.  $13,1 \pm 0,6$  mm vs.  $12,8 \pm 0,5$ ; respectivamente:  $P < 0,05$ ). En un segundo experimento se evaluó la tasa de preñez de estos tres protocolos, sus resultados al igual que los nuestros indican que no hay diferencia en la tasa de preñez si las vaquillonas se sincronizan con el protocolo J-Synch o Co-Synch 5 días. Además, cabe destacar que estos dos tratamientos tuvieron igual tasa de preñez que el protocolo Convencional. Todos estos antecedentes no utilizan el protocolo Split-Synch dado que fueron realizados hace unos años, pero los resultados son de interés ya que el protocolo Co-Synch inicia el tratamiento con GnRH y sirvió de referencia para el desarrollo del Split-Synch evaluado en esta tesis. En un trabajo realizado en Uruguay más recientemente, con vacas *Bos taurus* con destete precoz, se evaluó la tasa de preñez entre vacas sincronizadas con los protocolos Split-Synch vs. J-Synch. Los autores indican que para tasa de preñez no se encontraron diferencias estadísticas con el uso de estos dos tratamientos (Cuadro et al., 2022). Estos datos en vacas coinciden con los resultados obtenidos en esta tesis.

Si bien cuando se evaluó la tasa de celo al momento de realizar la IATF no se observan diferencias estadísticas entre los grupos experimentales ( $P > 0,05$ ), al evaluar la tasa de preñez en las vaquillonas que habían manifestado celo a la IATF los grupos J-Synch y Split-Synch (59%, 235/401 y 58%, 228/394, respectivamente) tuvieron mayor tasa de preñez con respecto a los grupos P4-Synch y grupo control 44%, 180/406 y 45%, 185/416, respectivamente:  $P < 0,05$ ). Esta baja fertilidad del grupo control puede estar explicada por la no sincronización de la onda folicular y formación de un folículo dominante o persistente. La formación de folículos persistentes probablemente está explicado por aplicar solamente un dispositivo de P4 y no sincronizar la onda folicular con el uso de otra hormona. Mihm et al (1994); Smith y Stevenson (1995); Sánchez et al (1995) reportan que la P4 exógena no alcanza los niveles luteales de P4 secretada por el CL y sostenida en el tiempo, y por lo tanto no inhibe de la misma forma la secreción pulsátil de LH, por lo tanto, el folículo dominante sigue creciendo, y no permite que emerja una nueva onda folicular. Así al retirar la fuente de P4, el folículo ovulatorio resulta de baja fertilidad al contener un ovocito envejecido (Smith y Stevenson., 1995; Revah y Buttler., 1996). Por tal motivo, para evitar la formación de este tipo de folículos persistentes es necesario sincronizar la onda folicular, administrando fármacos como la P4 y estrógenos para inhibir las gonadotropinas circulantes (LH y FSH) o GnRH para inducir la ovulación del folículo dominante presente en el ovario. Con el uso de BE se induce la atresia folicular y con la GnRH se logra la ovulación del folículo

dominante (siempre que sea mayor a 8 o 10 mm), en cualquiera de las dos situaciones se pierde la dominancia folicular y de esta manera comienza el desarrollo de una nueva onda folicular. En el caso del grupo P4-Synch, la baja fertilidad de este tratamiento probablemente se debe a que el uso de P4 inyectable no logró sincronizar de forma adecuada la onda folicular y al igual que en el grupo control se generó un folículo persistente con la ovulación de un ovocito envejecido y de menor fertilidad.

En el presente trabajo, como se observan en la Tabla N° 1, las vaquillonas que manifestaron celo (independientemente al grupo experimental que pertenecen) al momento de la IATF tuvieron mayor tasa de preñez que las que no manifestaron celo (51% vs. 44% respectivamente:  $P < 0,05$ ). Si bien al aplicar un protocolo de IATF no se requiere la detección de celo, se ha demostrado un aumento de la tasa de preñez en vaquillonas de carne y leche que manifiestan celo antes de la inseminación (Colazo y Mapletoft., 2017; Thomas et al., 2017. Otros autores como Macmillan et al., (2017) reportaron también resultados similares en un estudio realizado en vaquillonas lecheras inseminadas con semen sexado.

Colazo et al (2018) en un estudio posterior utilizando el protocolo Co-Synch de 5 días en vaquillonas de carne determinaron que la expresión del estro antes de la IATF mejora la tasa de preñez. En dicho estudio la tasa de preñez fue de 60,6% en vaquillonas detectadas en celo y 32,3% para las que no manifestaron celo ( $P < 0,01$ )

El efecto favorable del celo ha sido reportado también por de la Mata *et al* (2013) inseminando con semen convencional, y por Bó et al (2018) utilizando semen sexado, utilizando el protocolo J-Synch y pintura para la detección de celos en vaquillonas de carne. En el experimento de de la Mata (2013) el 59,3% de las vaquillonas manifestaron celo previo a la IATF a las 72 h y la tasa de preñez resultó mayor ( $P < 0,05$ ) en las que expresaron celo (76,3%) en comparación a las que no lo hicieron (42.3%). Además, Richardson et al., (2016) también han demostrado que la manifestación de celos en los programas de IATF se asocia positivamente con la tasa de preñez en ganado *Bos taurus*, en este metaanálisis se analizaron datos de 10.116 hembras de carne en 22 estudios, utilizándose variaciones de 5 protocolos de IATF (Co-Synch, Co-Synch+CIDR de 7 días, CIDR de 5 días, PG CIDR de 6 días y los protocolos CIDR de 14 días). El experimento indicó un efecto positivo del estro en las tasas de concepción, las vacas detectadas en estro antes de la IATF tuvieron una tasa de concepción un 27 % mayor ( $P < 0,05$ ) en comparación con aquellas que no se detectaron en estro. Cedeño et al., (2021) también realizaron experimentos para evaluar el efecto de la expresión de celos sobre la tasa de preñez, en donde se obtuvo una mayor ( $P < 0,01$ ) tasa de preñez a la IATF en los animales que estaban despintados (es decir, en celo) a las 48 h de la remoción de los dispositivos con P4 y el tratamiento con ECP (56,4%; 585/1038) en comparación con los que no

mostraron celo ese momento (46,5%; 148/318). En este mismo experimento se encontró que el tratamiento con GnRH administrado a las 48 h a las vacas que estaban pintadas (no celo) aumentó ( $P < 0,01$ ) la tasa de preñez (53,8%; 93/173) con respecto a las que no recibieron GnRH (37,9%; 55/145). Anteriormente, otros autores habían encontrado que el uso de GnRH mejora las tasas de preñez en vacas de carne que no muestran celo al momento de la IATF (Madureira et al., 2020; Butler et al., 2020).

A su vez, en el presente trabajo se utilizó ultrasonografía para determinar la presencia de un CL al iniciar los tratamientos, lo cual arrojó como resultado diferencias significativas en lo que respecta a la tasa de preñez según la presencia de CL al momento de iniciar el protocolo (52% con CL, vs. 47% sin CL). La mayor tasa de preñez obtenida en vaquillonas que presentan CL ha sido reportada en diversos trabajos. Por ejemplo, resultados muy similares obtuvieron Colazo et al (2018) donde reportaron un porcentaje de 83.9% de animales ciclando, con una tasa de preñez mayor ( $P < 0,01$ ) en vaquillonas que tenían un CL en el día 0 (cíclicas) en comparación con las no cíclicas (53,3 vs. 36,0%). Al igual que en un experimento realizado por Menchaca et al. en el año 2013 en vaquillonas sincronizadas con un protocolo convencional, donde se determinó por ultrasonografía la actividad ovárica al iniciar el tratamiento y se obtuvo como resultado que las vaquillonas que tenían un CL al inicio del tratamiento se preñaron 7 puntos porcentuales por encima de las vaquillonas que no tenían un CL ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

---

El protocolo Split-Synch de 5 días a base de GnRH es una alternativa eficaz que no requiere el uso de BE para sincronizar vaquillonas *Bos taurus* para recibir inseminación a tiempo fijo. Este protocolo permite resultados similares en expresión de celo y tasa de preñez a los obtenidos en vaquillonas sincronizadas con el protocolo J-Synch. Además, la presencia de un CL al inicio del tratamiento y la expresión de celo al momento de realizar la IATF mejoran significativamente los resultados en cuanto a la tasa de preñez.

## BIBLIOGRAFIA

---

- Adams, G.P. (1998). Control of ovarian follicular wave dynamics in mature and prepubertal cattle for synchronization and superstimulation. En *Proceedings of the XX Congress of the World Association of Buiatrics* (Vol. 2, pp. 595-605), Sydney: Australian Association of Cattle Veterinarians.
- Adams, G.P. (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 17-32.
- Baruselli, P.S. (2021). Mercado da IATF cresce 30% em 2020 e supera 21 milhões de procedimentos. *Boletim Eletronico do Departamento de Reproducao Animal/FMVZ/USP*, 5. Recuperado de <https://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/>
- Baruselli, P. S., y Vieira, L. M. (2017). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo seriadas sin el uso de toro. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornada Uruguaya de Buiatría* (Vol. 45, pp. 104-109) Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.
- Bó, G. (2020). Pursuit of a means of manipulating ovarian function in the cow: An adventure of serendipity, collaboration and friendship. *Theriogenology*, 150, 480-489.
- Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., y Mapletoft, R.J. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43, 31-40.
- Bó, G.A, Alonso, A., Caccia, M., Carcedo, J., Cutaia, L., Moreno, D., Martínez, M., y Baruselli, P. (2006). *Fisiología de la Reproducción de la Vaca*. Córdoba: IRAC.
- Bó, G.A., Alonso, A., Caccia, M., Carcedo, J., Cutaia, L., y Moreno, D. (2012). *Fisiología de la Reproducción de la Vaca*. Córdoba: IRAC.
- Bó, G.A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R., Tríbulo, H., y Mapletoft., R. J. (2002) The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. *Theriogenology*, 57, 53-72.
- Bó, G.A., Baruselli, P.S., y Mapletoft, R.J. (2013). Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 10, 137-142.

- Bó, G.A., Cutaia, L.E., Bartolomé, J. (2011). Uso de la eCG asociada a programas reproductivos en vacas lecheras. En IX *Simposio Internacional de Reproducción Animal* (pp. 127-148). Córdoba, Argentina.
- Bó, G.A., de la Mata, J.J., Baruselli, P.S., y Menchaca, A. (2016). Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, 86(1), 388-96.
- Bó, G.A., Huguenine, E., de la Mata, J.J., Núñez-Olivera, R., Baruselli, P.S., y Menchaca, A. (2018). Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Animal Reproduction Science*, 15, 952-962.
- Bó, G.A., King, B.D., Guenther, C.L., Kirkwood, R.N., Cohen, R.D.H., y Mapletoft, R.J., (1993). The effect of zeranol on luteinizing hormone concentrations in prepubertal heifers. En *Proceedings del 15<sup>th</sup> Annual Winter Workshop of the Canadian West Society for Reproductive Biology*, Saskatoon, Canada.
- Bó, G.A., y Cutaia, L. (2005) Implementación de programas de inseminación artificial en los rodeos de cría. En VI *Simposio Internacional de Reproducción Animal* (pp. 326-332). Córdoba, Argentina.
- Bó, G.A., y Cutaia, L. (2014). *Estado del arte en IATF: Factores que afectan sus resultados*. Recuperado de [https://www.abspecplan.com.br/upload/library/Estado\\_del\\_arte\\_IATF.pdf](https://www.abspecplan.com.br/upload/library/Estado_del_arte_IATF.pdf)
- Bosolasco, D., Nuñez-Olivera, R., de Brun, V., Meikle, A., y Menchaca, A. (2021). Estradiol cypionate administered at the end of a progesterone-based protocol for FTAI induces ovulation and improves postovulatory luteal function and uterine environment in anestrous beef cows. *Theriogenology*, 162, 74-83.
- Bridges, G.A., Helser, L.A., Grum, D.E., Mussard, M.L., Gasser, C.L., y Day, M.L. (2008). Decreasing the interval between GnRH and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*, 69, 843-851.
- Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., y Day, M.L. (2010). Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Animal Reproduction Science*, 117, 208215
- Bridges, G.A., Mussard, M.L., Helser, L.A., y Day, M.L. (2014). Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7-day and 5-day Co-Synch + CIDR program in primiparous beef cows. *Theriogenology*, 81, 632-638.
- Butler, A., Butler, H., Cesaroni, G., Alberio, R., Perez Wallace, S., y Garcia-Guerra, A. (2020). Treatment with gonadotrophin-releasing hormone at

the time of AI in beef heifers that fail to express oestrus after an estradiol-based synchronisation protocol improves pregnancies per AI. *Reproduction, Fertility and Development*, 32, 208.

- Caccia, M., Cutaia, L., Moreno, D., y Bó, G. (1998, agosto 27, 28 y 29). Sincronización del momento de la ovulación en vacas tratadas con CIDR-B, Benzoato de estradiol, progesterona y GnRH. En *Cuartas Jornadas Nacionales CABIA y Primeras del MERCOSUR* (p. 263). Buenos Aires, Argentina.
- Caccia, M., y Bó, G.A. (1998). Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*, 49, 341.
- Callejas, S. (2004). *Control farmacológico del ciclo estral bovino: bases fisiológicas, protocolos y resultados*. Recuperado de [http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/65-control\\_farmacologico\\_ciclo.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/65-control_farmacologico_ciclo.pdf)
- Carvajal, A. M., y Martínez, A. E. (2020). El ciclo estral en la hembra bovina y su importancia productiva. *INIA Informativo*, (246). Recuperado de [https://www.researchgate.net/profile/Andres-Carvajal-4/publication/344452990\\_El\\_ciclo\\_estrал\\_en\\_la\\_hembra\\_bovina\\_y\\_su\\_importancia\\_productiva/links/63401aef2752e45ef69de546/El-ciclo-estrал-en-la-hembra-bovina-y-su-importancia-productiva.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Andres-Carvajal-4/publication/344452990_El_ciclo_estrал_en_la_hembra_bovina_y_su_importancia_productiva/links/63401aef2752e45ef69de546/El-ciclo-estrал-en-la-hembra-bovina-y-su-importancia-productiva.pdf)
- Cedeño, A.V., Cuervo, R., Tríbulo, A., Tríbulo, R., Andrada, S., Mapletoft, R.J., ... Bó, G.A. (2021). Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. *Theriogenology*, 161, 294-300.
- Colazo, M.G., Martínez, M.F., Kastelic, J.P., y Mapletoft, R.J. (2003). Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, 60, 855-865.
- Colazo, M.G., Whittaker, P., Macmillan, K., Bignell, D., Boender, G., de Carvalho ... Mapletoft, R.J. (2018). Evaluation of a modified GnRH-based timed-AI protocol associated with estrus detection in beef heifers inseminated with sex-selected conventional semen. *Theriogenology*, 118, 90-95.
- Colazo, M.G., y Mapletoft, R.J. (2017). Pregnancy per AI in Holstein heifers inseminated with sex-selected or conventional semen after estrus detection or timed-AI. *Canadian Veterinary Journal*, 58, 365-370.
- Cuadro, F., García Pintos, C., Núñez-Olivera, R., Brochado, C., Fabini, F., Abelenda, C., ... Menchaca, A. (2022). Alternativas al uso de estradiol en programas de IATF en bovinos de carne. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornada Uruguaya Buiatría* (Vol. XLIX, pp. 109-121). Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.

- Cunningham, J.G., y Klein, B.G. (2009). Control del desarrollo de las gónadas y los gametos. En J.G. Cunningham, y B.G. Klein (Ed.), *Fisiología Veterinaria* (4ª ed., pp. 466-474). Madrid: Elsevier.
- Cutaia, L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruselli, P., y Bó, G.A. (2003). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría: Factores que lo afectan y resultados productivos. En *V Simposio Internacional de Reproducción Animal*, Córdoba, Argentina.
- Day, M.L. (2015). State of the art of GnRH-based timed AI in beef cattle. *Animal Reproduction Science*, 12, 473-478.
- de la Mata, J.J., de la Mata, C.A., y Bó, G.A. (2013). Evaluación del grado de despintado en la base de la cola sobre la tasa de preñez en vaquillonas Angus sincronizadas con un protocolo de IATF. En *X Simposio Internacional de Reproducción Animal* (p. 308). Córdoba, Argentina.
- de La Mata, J.J., Núñez-Olivera, R., Cuadro, F., Bosolasco, D., de Brun, V., Meikle, A., ... Menchaca, A. (2018). Effects of extending the length of pro-oestrus in an oestradiol and progesterone-based oestrus Synchronization program on ovarian function, uterine environment, and pregnancy establishment in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 30, 1541-1552.
- de Nava, G. T. (2015). La IATF como tecnología reproductiva en el manejo de los rodeos de cría. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornada Uruguaya de Buiatría* (Vol. 43, pp. 115-126). Paysandú: Centro Médico Veterinario de Paysandú.
- Dieleman, S.J, Bevers, M., Van Tol, H., y Willemse, A. (1986). Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrus cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrus period. *Animal Reproduction Science*, 10, 275-292.
- Fernández, M.A. (2008). *El ciclo estral de la vaca*. Zaragoza: Servet.
- Findlay, J.K., Robertson, D.M., Clarke, I.J., Klein, R., Doughton, B.W., Xiao, S., ... Shukovski L. (1992). Hormonal regulation of reproduction: general concepts. *Animal Reproduction Science*, 28, 319-328.
- Fitz, T. A., Mayan, M.H., Sawyer, H. R., y Niswender, G. D. (1982). Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biology of Reproduction*, 27, 703-711.
- Fortune, J.E. (1994). Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction*, 50, 225.

- Geary, T.W., y Whittier, J.C. (1998). Effects of a timed insemination following synchronization of ovulation using the ovsynch or co-synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist*, 4, 217-220.
- Gibbons, J.R., Wiltbank M.C., y Ginther O.J. (1997). Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the FSH surge in heifers. *Biology of Reproduction*, 57, 1066-1073.
- Ginther, O.J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 60, 61-79.
- Ginther, O.J., Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Donadeu, F.X., y Kot, K. (2001). Follicle selection in monovular Species. *Biology of Reproduction*, 65, 638-647.
- Ginther, O.J., Kastelic, J.P., y Knopf, L. (1989). Composition and characteristic of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reproduction Science*, 20, 187-200.
- Ginther, O.J., Knopf, L., y Kastelic, J.P. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility*, 87, 223-230.
- Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., y Kot, K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 55, 1187-1194.
- Hansel, W., y Fortune, J. (1978). The application of ovulation control. En D.B. Crichton, N.B. Haynes, G.R. Foxcroft, y G.E. Lamming (Eds.), *Control of Ovulation* (pp.237- 263). Londres: Butterwood.
- Hernández, J. (2016). *Fisiología clínica de la reproducción ds lecheros*. México: FMVZ-UNAM. Recuperado de [https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia\\_Clinica.pdf](https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/publicaciones/archivos/Fisiologia_Clinica.pdf)
- Hurnik, J. F. (1987). Sexual behaviour of female domestic mammals. *Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice*, 3, 423-461.
- Ireland, J.J. (1987). Control of follicular growth and development. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34, 39- 54.
- Ireland, J. J., y Roche, J. F. (1987). Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. En J.F. Roche, y D. O'Callaghan (Eds.), *Follicular growth and ovulation rate in farm animals* (pp. 1-18). Dordrecht: Springer.
- Lamb, G.C. (2010) Management of heifers to achieve sound reproductive performance. *Agrociencia*, 14, 60-61.

- Madureira, G., Consentini, C., Motta, J., Drum, J., Prata, A., Monteiro, P., ...Sartori, R. (2020). Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. *Theriogenology*, 145, 86-93.
- Mapletoft, R. J., Bó, G. A., Baruselli, P. S., Menchaca, A., y Sartori, R. (2018) Evolution of knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Animal Reproduction*, 15, 1003-1014.
- Marcantonio, S., y Etcheverry, M. (2020). Evolución del mercado de la inseminación artificial en bovinos para carne de la Argentina. *Taurus*, 22(85), 23-30.
- Martin, T.L., Fogwell, R.L., y Ireland, J.J. (1991). Concentrations of inhibins and steroids in follicular fluid during development of dominant follicles in heifers. *Biology of Reproduction*, 44, 693- 700.
- Matínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Cook, R.B., Olson, W.O., y Mapletoft, R.J. (2002). The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 57, 1049-1059.
- Martinez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Cook, R.B., y Mapletoft, R.J. (1999). Synchronization of ovulation for fixed-time insemination in heifers. *Theriogenology*, 51, 412.
- Menchaca, A. (2021). ¿El adiós al estradiol? Crónica de una muerte anunciada. En *X Jornadas Taurus de Reproducción Bovina*. Recuperado de [https://www.revistataurus.com.ar/sistema/uploads/1129/entradas/estradiol\\_congreso-taurus.pdf](https://www.revistataurus.com.ar/sistema/uploads/1129/entradas/estradiol_congreso-taurus.pdf)
- Menchaca, A., Núñez, R., de Castro, T., García Pintos, C., y Cuadro, F. (2013). Implementación de programas de IATF en rodeos de cría. En *Seminario de actualización técnica: Cría Vacuna* (pp. 229- 246). Montevideo: INIA. Recuperado de [http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/st%20208\\_2013.pdf](http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/st%20208_2013.pdf)
- Menchaca, A., Nuñez-Olivera, R., García Pintos, C., Fabini, F., de la Mata, J., Huguenini, E., y Bó, G. (2019). ¿Es posible mejorar la fertilidad de los protocolos de pro-estro prolongado? Bases fisiológicas, resultados y nuevas perspectivas. En *XIII Simposio IRAC*, Córdoba.
- Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M.P., y Roche, J.F. (1994). Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 102, 123-130.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2020). Resolución N° 269/020. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura->

[pesca/institucional/normativa/resolucion-n-269020-dgsga-ampliacion-plazo-para-presentar-solicitudes](https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-269020-dgsga-ampliacion-plazo-para-presentar-solicitudes)

- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2021). Resolución N° 263/021. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/institucional/normativa/resolucion-n-263021-dgsg-se-mantiene-suspension-productos-veterinarios>
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2022). *Anuario estadístico agropecuario*. Montevideo: DIEA.
- Murphy, B.D. (2012). Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction*, 9(3), 223-230.
- Núñez-Olivera, R., Bó, G.A., Menchaca, A. (2022). Association between length of proestrus, follicular size, estrus behavior, and pregnancy rate in beef heifers subjected to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, 181, 1-7.
- Núñez-Olivera, R., de Castro, T., García-Pintos, C., Bó, G., Piaggio, J., y Menchaca, A. (2014). Ovulatory response and luteal function after Ecg administration at the end of a progesterone and estradiol based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Animal Reproduction Science*, 146, 111-116.
- Picard-Hagen, N., Lhermie, G., Florentin, S., Merle, D., Frein, P., y Gayrard, V. (2015). Effect of gonadorelin, lecirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. *Theriogenology*, 84(2), 177-183.
- Pursley, J. R., Mee, M. O., y Wiltbank, M. C. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, 44, 915-923.
- Ré, M.G. (2018). *Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas de leche* (Tesis de maestría). Escuela para Graduados Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba Facultad de Ciencias Agropecuarias, Córdoba.
- Revah, I., y Butler, W.R. (1996). Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 106, 39-47.
- Richardson, B.N., Hill, S.L., Stevenson, J.S., Djira, G.D., y Perry, G.A. (2016). Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. *Animal Reproduction Science*, 166, 133-140.
- Rippe, C.A (2009). El ciclo estral. En *Dairy Cattle Reproduction Conference*, Minneapolis. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/58403293/16-Rippe-El-CicloEstral-Final>

- Rodríguez Blanquet, J.B. (2008). Tratamientos hormonales en vacas para carne (Bos Taurus) en anestro con cría al pie para mejorar su comportamiento productivo y reproductivo. En *Seminario de actualización técnica: Cría vacuna* (pp. 189-199). Treinta y Tres: INIA. Recuperado de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/18429240309132410.pdf>
- Rovira, J. (1996). *Manejo nutritivo de los rodeos de cría en pastoreo*. Montevideo: Hemisferio Sur.
- Sanchez, T., Weherman, M., Kojima, N., Cupp, A., Bergfeld, E., Peters, K.E., ...Kinder, J. (1995). Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 $\beta$ - estradiol in heifers. *Biology Reproduction*, 52, 464-469.
- Schams, D. (1987). Luteal peptides and intercelular communication. *Journal of Reproduction and Fertility Supplements*, 34, 87-99.
- Senger P. L. (2003). Regulation of Reproduction. En *Pathways to Pregnancy and Parturition* (2ª ed., pp 111-121). Washington: Current Conceptions.
- Smith, M.W., y Stevenson, J.S. (1995). Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *Journal of Animal Science*, 73, 3743-3751.
- Stevenson, J. S., Lamb, G. C., Johnson, S. K., Medina-Britos, M. A., Grieger, D. M., Harmony, K. R., ... Marple, T. J. (2003). Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. *Journal of Animal Science*, 81, 571-586.
- Stock, A.E., y Fortune, J.E. (1993). Ovarian Follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, 132, 1108-1114.
- Thomas, J.M., Locke, J.W.C., Vishwanath, R., Hall, J.B., Ellersieck, M.R., y Smith, M.F. (2017). Effective use of SexedULTRA™ sex-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. *Theriogenology*, 98, 88-93.
- Ungerfeld, R. (2011). *Reproducción en los animales domésticos* (Vol. I) Montevideo: Melibea.
- Ungerfeld, R. (2020). Principales hormonas vinculadas a la reproducción. En *Reproducción de los animales domésticos* (pp. 3-7). Zaragoza: Edra.
- Whittier, W.D., Currin, J.F., Schramm, H., Holland, S., y Kasimanickam, R.K. (2013). Fertility in Angus cross beef cows following 5-day Co-Synch + CIDR or 7-day Co-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology*, 80, 963-969.

