



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

“Inseminación artificial a tiempo fijo vs.  
Monta directa en vacas de raza Charbray en  
trópico húmedo de México”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

Escobar García Moisés

ASESOR: Dr. Benito López Baños

COASESOR: Dr. Enrique Armando Esperón Sumano

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

“Inseminación artificial a tiempo fijo vs. monta directa en vacas de raza Charbray en trópico húmedo de México.”

Que presenta el pasante: MOISÉS ESCOBAR GARCÍA

Con número de cuenta: 40902569-1 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de enero de 2019.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Benito López Baños	
<b>VOCAL</b>	Dr. José Alfredo Medrano Hernández	
<b>SECRETARIO</b>	M.V.Z. Saúl Alejandro Rodríguez Zamora	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M.V.Z. Gustavo Díaz Manríquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M.V.Z. Javier Donnadiou Zavala	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/ntm\*

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mi mamá por siempre estar dando todo para que yo pueda superarme cada día más en las buenas y en las malas.

A mi familia que siempre está apoyándome en todo momento para poder superarme día con día.

A todas las personas que me quieren y estiman.

## **Agradecimientos**

Expreso mis agradecimientos al Dr. Benito López Baños por darme la oportunidad de participar en este proyecto y por su apoyo para poder realizar este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas.

Al Dr. Enrique Esperón por el apoyo durante el trabajo presente y por resolver mis dudas durante la realización de este trabajo.

A Dany, Lorenita, Miguel, Regina, Renato, Elsi y Omar por nunca dejarme solo y siempre estar conmigo en todo momento.

A mis amigos de la universidad Erick, Valeria, Carlos S., Carlos R., Diana, Luis, Julio, Nancy, Rosa y Diego A. por todos los momentos vividos durante la carrera.

A todas las personas que han compartido un poco de su vida conmigo.

## Contenido

### Página

1.- Resumen-----	3
2.- Introducción-----	4
3.- Revisión de literatura-----	8
3.1.- Inseminación artificial-----	8
3.2.- Fisiología de la reproducción-----	11
3.2.1.- Órganos de la reproducción-----	12
3.2.1.1.- Hipotálamo-----	12
3.2.1.2.- Hipófisis-----	13
3.2.1.3.- Gónadas-----	14
3.2.1.4.- Unidad útero-placentaria-----	14
3.2.2.- Hormonas de la reproducción-----	15
3.2.2.1.- Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)-----	15
3.2.2.2.- Estrógenos-----	15
3.2.2.3.- Progestágenos-----	16
3.2.2.4.- Gonadotropinas-----	18
3.2.2.5.- Gonadotropina coriónica equina (eCG)-----	19
3.2.2.6.- Prostaglandinas-----	19
3.2.2.7.- Melatonina-----	20
3.3.- Ciclo estral-----	20
3.3.1.- Proestro-----	22
3.3.2.- Estro-----	23
3.3.3.- Metaestro-----	24
3.3.4.- Diestro-----	26
3.4.- Dinámica folicular del ciclo estral bovino-----	26

3.5.- Mecanismo del control hormonal para inseminación artificial a tiempo fijo-----	30
4.- Justificación-----	33
5.- Objetivo general-----	33
6.- Material y métodos-----	34
6.1.- Localización-----	34
6.2.- Animales-----	34
6.3.- Protocolo de sincronización del estro-----	34
6.4.- Diagnóstico de gestación-----	35
7.- Resultados-----	35
8.- Discusión-----	36
9.- Conclusión-----	38
10.- Bibliografía-----	39

### **Lista de cuadros y esquemas**

	<b>Página</b>
Gráfica 1.- Inventario mundial de bovinos en pie-----	5
Gráfica 2.- Principales países productores de carne de bovino-----	6
Esquema 1.- Representación del ciclo estral bovino-----	21
Esquema 2.- Dinámica folicular-----	29
Cuadro 1.- Resultados-----	35

## 1.-Resumen

El objetivo del presente estudio, fue comparar la tasa de gestación entre la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) vs. monta directa en una explotación ganadera del trópico húmedo de México, localizada en el Municipio de Palenque, Chiapas. Se utilizaron dos lotes de vacas de raza Charbray. Lote de prueba: sincronización e IATF (25 vacas) Lote testigo: monta directa (65 vacas). Ambos lotes fueron seleccionados mediante palpación rectal, que estuvieran vacías, sin patologías detectables y que hayan tenido de 2 a 5 partos. Los dos lotes se mantuvieron en potreros de *Brachiaria brizantha* y suplementadas con sal mineralizada *ad libitum*. Protocolo de IATF: día 0, 25 vacas recibieron un dispositivo intravaginal con 1gr de progesterona y 1mg de benzoato de estradiol vía intramuscular (IM). Día 8, retiro del dispositivo intravaginal, + 0.15mg de cloprostenol y 300 UI de gonadotropina coriónica equina IM. Día 9 se aplicó 0.5mg de benzoato de estradiol IM. 52 horas después de retirado el dispositivo intravaginal las 25 vacas fueron inseminadas por un MVZ especialista en reproducción animal. Diagnóstico de gestación.- Se realizó por palpación rectal en ambos lotes 60 días después de la IATF del lote de prueba.

El análisis estadístico de los resultados entre los dos tratamientos se hizo mediante una prueba "t" para proporciones. No se observaron diferencias estadísticas entre la fertilidad obtenida con la IATF y la monta directa 52% vs 47.7% respectivamente ( $P > 0.05$ ).

Los resultados en ambos lotes se encuentran dentro de los porcentajes de gestación normales obtenidos en la región bajo monta directa. Con la ventaja del uso de la IATF de programar las visitas del MVZ, aprovechar al máximo su estancia en el o los ranchos, mejorar o sencillamente seguir las directrices genéticas marcadas o seleccionadas por los propietarios y MVZ. Se espera continuar con diversos programas de IATF que permitan mejorar los porcentajes de preñez en los trópicos.

## **2.-Introducción**

El objetivo de la explotación de bovinos dirigida hacia la producción de carne, consiste en obtener de ellos una cantidad óptima de carne de la mejor calidad. La carne de los bovinos es importante en la dieta humana por su gran contenido en proteína animal. Un aumento sustancial en la producción y en el consumo de carne traerá como consecuencia un mejoramiento importante en la salud de los seres humanos (Secretaría de Educación Pública, 1981).

Las actividades ganaderas constituyen un rubro importante dentro de la economía agrícola mexicana (Comisión Económica para América Latina, 1974), han sido importantes para el desarrollo de la industria y economía nacional, ya que proporciona alimentos y materias primas, exportaciones, empleo, estimulan el desarrollo del sector rural y aprovechan recursos naturales que no pueden ser utilizados con otros fines (SAGARPA, 2005).

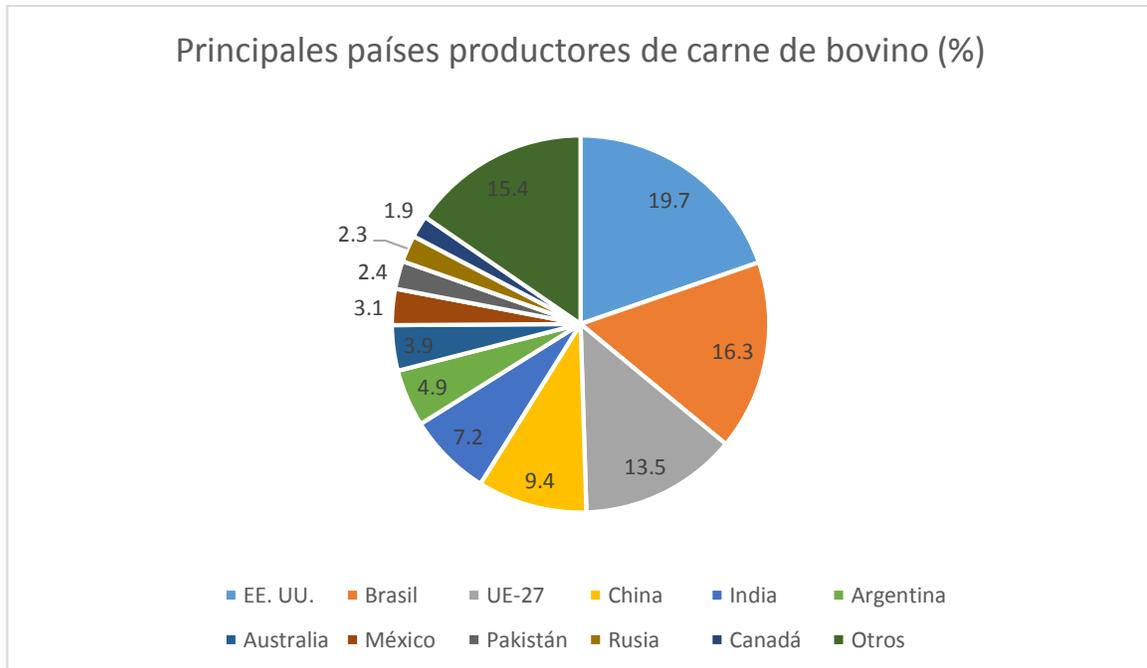
El desarrollo en México ha provocado un aumento acelerado de la población, además de que la mayor parte de esta población migre y se concentre en medianos y grandes centros urbanos. Lo anterior ha tenido una gran repercusión en la demanda y en los hábitos de consumo, estos últimos influenciados por las nuevas tendencias en el consumo de alimentos y en el poder adquisitivo (SAGARPA, 2005 y ASERCA, 2010).

México cuenta con aproximadamente 30, 508, 948 bovinos destinados para el abasto y produce cerca de 1, 827, 152 toneladas de carne al año (SAGARPA, 2014), lo que coloca al país como el décimo país productor de bovinos en pie y en el octavo productor de carne en canal de bovino a nivel

mundial. (Gráfica 1 y 2) (Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina, 2012 y Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial, 2017).



Gráfica 1. Países productores de bovinos en pie. Fuente: Instituto de Promoción de Carne Vacuna Argentina 2012.



Gráfica 2. Países productores de carne de bovino. Fuente: Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial 2017.

Desde el punto de vista climatológico, el país se puede dividir en tres grandes regiones: En la parte norte del país se ha desarrollado una ganadería de clima árido y semiárido donde se sitúa el 27% del hato nacional, su producción se enfoca principalmente a la ganadería de carne y la producción de becerros en pie, y es destinada en gran proporción para su exportación. La segunda el trópico húmedo y seco con 42% del hato nacional, es la región ganadera más importante del país ya que tiene el mayor porcentaje de la producción ganadera y es la fuente principal de abastecimiento de carne de bovino destinada a la demanda interna y la tercera zona templada-centro con el 31% del hato nacional, esta zona se ha dedicado a abastecer de becerros para engorda a la región del Golfo, esta zona es importante ya que en ella se encuentra la mayor

parte del ganado productor de leche que tiene el país (Comisión Económica para América Latina, 1974 y Galina y Guerrero, 1992). Grandes áreas de América Latina, casi todo África y extensas regiones de Asia y Australia se encuentran dentro de la zona tropical, y en ella se encuentran la mayor parte de las naciones subdesarrolladas (Alves, 1980). México tiene en su territorio aproximadamente un 25% de zona con clima tropical tanto seco como húmedo (INEGI, 1990), son las regiones de mayor crecimiento ganadero en los últimos años, mantiene mayor carga animal; el coeficiente de agostadero se estima cercano a una hectárea por animal, las tasas de reproducción van de 52 a 57 por ciento (Esperón, 1996).

El comportamiento reproductivo del ganado bovino depende de la raza del animal, el tipo de clima en el que se encuentra y en el sistema de explotación en el que esté sometido. El parámetro reproductivo más importante es el intervalo entre partos (IEP) (Vergara, 2012). El IEP ideal para ganado tanto de engorda como lechero es de 12 meses, pero este intervalo es difícil de lograr (Hafez, 1984).

En el trópico la baja eficiencia reproductiva es uno de los mayores limitantes para la producción de bovinos (Porrás *et al.*, 1993). En el trópico mexicano la eficiencia reproductiva de los bovinos se caracteriza por una edad avanzada al primer parto ( $34.7 \pm 4.4$  meses) y por los intervalos entre partos muy prolongados ( $447 \pm 57.8$  días), a lo cual cabe añadir un reducido número de partos en la vida productiva de cada hembra ( $3.4 \pm 1.1$ ) (Anta *et al.*, 1989).

### **3.-Revisión de literatura**

#### **3.1.-Inseminación Artificial.**

La inseminación artificial (IA) es una técnica que consiste en la introducción del semen en el aparato reproductor de la hembra sin intervención del toro y asistida por el hombre (Peters, 1991). Los primeros relatos sobre la IA datan de finales del siglo XVIII, cuando un fisiólogo italiano llamado Spallanzani, experimentó con el perro y consiguió preñar a una perra administrando semen fresco directamente en el útero. Los cachorros nacieron después de un periodo normal de gestación (Sorensen, 1982). Otros informes aparecieron en el siglo XIX, pero no fue sino hasta 1900 cuando comenzaron los estudios en forma con animales domésticos en Rusia y Japón (Johanson, 1972). En los años 40's la IA se empezó a utilizar comercialmente, en EEUU y el Reino Unido, para el ganado vacuno (Hafez, 2002). Durante los inicios de la IA se tenía el miedo de que una reducción drástica del número de sementales determinaría una consanguinidad estrecha y un empeoramiento del ganado. Diversas investigaciones han demostrado que, por el contrario, ha disminuido la tasa de consanguinidad en lugar de aumentar cuando se pasó de la monta natural a la IA (Hernández, 2009).

La IA es la técnica individual más importante que se ha creado para el mejoramiento genético de animales, ya que con unos cuantos machos bien seleccionados producen suficiente semen para inseminar miles de hembras (McDonald, 1978). La IA ha logrado un notable avance y gran difusión en la industria ganadera de EEUU, y constituye el esfuerzo más importante en beneficio del mejoramiento de la producción de ganado lechero de este país (Hafez, 2002).

El éxito de la IA se basa en la utilización de los conocimientos actuales de la fisiología de la reproducción para aumentar la eficacia de los eventos fisiológicos (MacDonald, 1978). La palpación rectal, previa a la IA, la efectúa el inseminador, mismo que determina, de acuerdo con los parámetros establecidos por el MVZ, si esa vaca reúne las condiciones necesarias para ser inseminada. Para que ocurra la concepción se debe practicar la inseminación en el momento indicado, dentro del ciclo estral (Fernández, 1993). Aun cuando no está muy claro el mecanismo de capacitación del espermatozoide bovino, se sabe que son precisas unas horas, en el aparato genital de la hembra, antes de que sea capaz de fertilizar y la viabilidad de este es de aproximadamente de unas 24 horas (Peters, 1991).

Anteriormente se tenía la idea de que la IA debería coincidir con la ovulación, de forma que el inseminador tenía como tarea el diagnóstico de la ovulación para decidir el momento de la IA (Pérez, 1996). En la vaca está perfectamente demostrado que la ovulación no coincide con el punto máximo del celo, sino que ocurre después del mismo. Hammond (1927), registra el promedio del estro en 18 horas. La mayoría de los trabajos que se han hecho coinciden que la ovulación ocurre entre las 10 a 12 horas después del final del celo (Gordon, 1996). El principal problema radica en la determinación del inicio y término del estro; lo cual se debe de referir a los métodos de detección de calores, ya que este problema es una de las mayores causas de infertilidad (Fernández, 1993).

Existen diferencias en la dinámica folicular de las hembras *Bos taurus* y *Bos indicus*, por lo que es importante conocer las particularidades del desarrollo folicular en las especies bovinas, con el objetivo de aplicar protocolos de manejo

reproductivo distintos para mejorar la eficiencia reproductiva (Correa, 2013). Las características fisiológicas y de comportamiento propias de las razas *Bos indicus* y la alta incidencia de celo nocturno y anestro postparto, dificultan las labores de detección de celo que incrementan los días abiertos y, en consecuencia, se afecta negativamente el desempeño reproductivo del hato (Villa, 2007).

Una alternativa para vencer las particularidades del ciclo estral y de comportamiento del ganado *Bos indicus* es el desarrollo de protocolos que permitan a los productores inseminar a las vacas, de manera que se elimine el tiempo y labor requeridos para detectar el celo, teniendo en cuenta, que un protocolo exitoso para ganado de carne requiere un control preciso del desarrollo folicular y regresión del cuerpo lúteo (Gordon, 1996). Aunque las ventajas resultantes de la sincronización efectiva del ciclo estral, en el ganado vacuno, han sido objeto de muchos estudios, no fue hasta la década de los 70's cuando surgieron protocolos comercialmente aceptables, de controlar el estro, que llegaron a ser utilizables por parte de los ganaderos (Villa, 2007).

La IATF es una herramienta biotecnológica reproductiva basada en la sincronización de la ovulación, que permite pasar de alto la detección del celo y facilita la implementación de programas de mejoramiento genético basados en inseminación artificial (Yanzaguano, 2013). El desarrollo de la IATF, ha permitido a los ganaderos incrementar la cantidad de animales dentro de sus programas de IA dentro de sus ranchos. Esto debido principalmente a la eliminación de la detección de celos y a la optimización en la programación y realización de las tareas de IA (Sanabria et al., 2008).

### **3.2.-Fisiología de la reproducción**

La infertilidad en el ganado representa la mayor fuente de ineficiencia en los sistemas de producción animal. El fracaso de los folículos ováricos para alcanzar el tamaño de maduración y ovular o el sobredesarrollo anormal de folículos en el ovario (quistes ováricos); representando fuentes significativas de ineficiencia reproductivas en el ganado que experimentan balances negativos de energía (Lucy *et al.*, 2014).

Antes de llevar a cabo un estudio de la reproducción es importante conocer los sistemas fisiológicos encargados de los procesos normales de la reproducción: el sistema endócrino y el sistema nervioso (Bearden y Fuquay, 1982). La función del sistema endócrino y el sistema nervioso dentro del proceso fisiológico de la reproducción es, iniciar, coordinar y/o regular las funciones del sistema reproductor. El sistema nervioso controla las funciones del cuerpo a través de impulsos nerviosos eléctricos rápidos, el sistema endócrino utiliza mensajeros químicos u hormonas para regular procesos corporales lentos, como el crecimiento y la reproducción, (Hafez E. , 2002) ambos sistemas de comunicación interactúan entre sí, dando origen al sistema neuroendócrino. (Galina y Valencia, 2014)

Las hormonas son proteínas que funcionan como reguladores biológicos y son producidos y secretados en cantidades muy pequeñas por células vivas, que actúan sobre células blanco, en donde ejercen una acción específica (Galina y Valencia, 2014). Algunas hormonas actúan en la misma célula que la secreta (actividad autócrina), otras lo hacen en las células vecinas (actividad parácrina) y otras son transportadas por la sangre y ejercen su función en células de otros órganos

(actividad endócrina) (Hernández, 1991). Las células que responden a una hormona específica lo hacen porque tienen receptores que se unen a esa hormona (Bearden y Fuquay, 1982). Los receptores son moléculas específicas en las células blanco, estas moléculas son proteínas membranales o citoplasmáticas que tienen una alta afinidad por su hormona (Galina y Valencia, 2014).

### **3.2.1.-Órganos de la reproducción**

#### **3.2.1.1.-Hipotálamo**

El hipotálamo ocupa una pequeña parte del cerebro, está constituido por una región del sistema nervioso central estratégicamente localizada para recibir información de todos los órganos de los sentidos, ya que directa o indirectamente recibe proyecciones nerviosas provenientes de la retina, los lóbulos olfatorios primarios y secundarios, el oído, la piel y los órganos internos (Galina y Valencia, 2014). El Hipotálamo constituye el piso y la pared lateral del tercer ventrículo, se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares (Hafez E. , 2002) y está íntimamente ligado a la hipófisis (Bearden y Fuquay, 1982).

En su estructura se encuentra un grupo de cuerpos neuronales, los que reciben el nombre de núcleos hipotalámicos. El hipotálamo se divide en tres zonas:

- La zona anterior o supraóptica: ubicada dorsalmente al quiasma óptico, contiene dos núcleos importantes, el supraóptico y paraventricular.
- Zona media o tuberal: se encuentran tres núcleos importantes, ventromedial, dorsomedial y arcuato.

- Zona posterior o mamilar: formada por los núcleos de la amígdala (Brandan, 2011).

Existen conexiones neuronales entre el hipotálamo y la neurohipófisis a través del tracto hipotalámico-hipofisiario (Hafez E. , 2002) y el sistema porta hipotálamo-hipofisiario conecta al hipotálamo con la adenohipófisis, que consiste en una red capilar que permite el paso de sustancias desde la eminencia media hasta la adenohipófisis sin pasar por la circulación general. De esta manera se evita que las hormonas de la adenohipófisis sean diluidas antes de llegar a su destino (Galina, 2014). Además, este sistema porta permite flujo retrógrado de hormonas de la adenohipófisis estableciéndose así el mecanismo de retroalimentación negativo para regular las funciones del hipotálamo (Hafez E. , 2002). Las hormonas con actividad sexual pueden situarse en dos grandes grupos de acuerdo con su estructura química: por una parte, las hormonas proteicas y prótido-glucídicas, y por otras las hormonas esteroides (Derivans, 1982).

### **3.2.1.2.-Hipófisis**

La hipófisis se localiza en la silla turca, una depresión ósea en la base del cerebro (Hafez, 2002). La glándula se subdivide en 3 partes anatómicas: adenohipófisis (también llamada lóbulo anterior, pars distalis, pars glandularis), lóbulo intermedio (pars intermedia) y neurohipófisis (hipófisis posterior, lóbulo neural, pars infundibular) (Brandan et al., 2002).

La adenohipófisis posee células especializadas en la producción de gonadotropinas (FSH y LH) llamadas gonadotropos, prolactina sintetizada por lactotropos, hormona del crecimiento (GH por sus siglas en inglés), producida por los somatotropos, hormona estimulante de la tiroides (TSH) sintetizada por los tirotropos

y hormona adenocorticotropica (ACTH) producida en los corticotropos. La neurohipófisis es una estructura de tipo nervioso compuesta principalmente por prolongaciones de neuronas hipotalámicas cuyos axones se extienden hasta la neurohipófisis, donde vierten sus productos de secreción hacia la circulación general. Las principales hormonas secretadas en este sitio son la oxitocina y la vasopresina (Galina y Valencia, 2014).

### **3.2.1.3.-Gónadas .**

En ambos sexos las gónadas desempeñan dos funciones: la producción de gametos (espermatozoides y óvulos) y la secreción de hormonas sexuales (Hafez, 2002). Las principales hormonas producidas en la gónada son hormonas esteroides (estrógenos, progesterona y andrógenos) e inhibina (Galina y Valencia, 2014). Los ovarios producen dos hormonas esteroides, estradiol y progesterona, y una hormona proteica, la relaxina (Hafez, 2002).

### **3.2.1.4.-Unidad útero-placentaria**

La placenta no encaja en la definición clásica de glándula endócrina, pero sí asume una función endócrina durante la preñez. Se producen progesterona y relaxina, que actúan como suplemento a la producción de estas hormonas por los ovarios (Bearden y Fuquay, 1982). Además secreta varias hormonas, con una actividad biológica similar a la de hormonas de la reproducción en los mamíferos: gonadotropina coriónica equina (eCG), gonadotropina coriónica humana (hCG) y lactógeno placentario (PL) (Hafez, 2002).

### **3.2.2.-Hormonas de la reproducción**

#### **3.2.2.1.-Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)**

La GnRH es sintetizada en el hipotálamo (Knobil, 1998). La GnRH proporciona un enlace humoral entre el sistema neural y endócrino. En respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisiario para la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) de la adenohipófisis (Hafez, 2002 y Knobil, 1998). En la hembra, la GnRH es secretada en forma de pulsos, su frecuencia puede variar por varios factores como son: la época del año, etapa del ciclo estral, edad del animal y estado nutricional (Galina y Valencia, 2014). La habilidad de la GnRH para estimular funciones reproductivas o suprimirlas han sido aplicadas para varios propósitos, incluyendo la inducción de la ovulación (Knobil, 1998).

#### **3.2.2.2.-Estrógenos**

Los estrógenos representan un grupo de hormonas esteroides con actividad fisiológica similar, en la hembra no gestante son producidos en las células de la granulosa del folículo de Graaf a partir de andrógenos producidos previamente por las células de la teca interna. El estrógeno de mayor importancia, cuantitativa y fisiológicamente, es el estradiol, con estrona y estriol que representan otros estrógenos metabólicamente activos (Bearden y Fuquay, 1982; Galina y Valencia, 2014).

De todos los esteroides, los estrógenos tienen el rango más amplio de funciones fisiológicas (Hafez, 2002). Algunas de estas:

- Desarrollo de los caracteres sexuales secundarios de la hembra.

- Producción de ferohormonas.
- Promueven la conducta de receptividad sexual necesaria para permitir la cópula.
- Estimular el crecimiento de los conductos y causa el desarrollo de la glándula mamaria.
- Actuar en el útero para aumentar la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y la  $PGF2\alpha$ .
- Ejercer el control de retroalimentación tanto positiva como negativa en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo (Bearden y Fuquay, 1982; Galina y Valencia, 2014).

A los estrógenos se les ha llamado "hormona sexual femenina" (Bearden y Fuquay, 1982).

### **3.2.2.3.-Progéstágenos.**

La progesterona es el progéstágeno natural más prevalente, y es secretada por células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal (Swenson y Reace, 1999). La progesterona es transportada en la sangre por una globulina de enlace, al igual que los andrógenos y estrógenos. La secreción de progesterona es estimulada por la LH, principalmente (Hafez, 2002). Los progéstágenos constituyen un grupo de hormonas esteroides caracterizadas por ser liposolubles, termoestables y que no se inactivan por vía digestiva. Estas mismas propiedades permiten administrarlos por vía oral, a través de la mucosa vaginal o en implantes subcutáneos de liberación prolongada (Hernández, 2012).

La mayoría de las funciones de la progesterona están encaminadas a culminar exitosamente la gestación una vez lograda la concepción.

La progesterona realiza las siguientes funciones.

- Prepara el endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretoras en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio.
- Provoca el cierre del cérvix.
- Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el ciclo estral.
- Desarrolla el tejido secretor (alveolos) de las glándulas mamarias.
- En concentraciones altas, inhibe el estro y el pico preovulatorio de LH. Así, la progesterona es importante en la regulación hormonal del ciclo estral (Bearden y Fuquay, 1982; Galina y Valencia, 2014).

La progesterona disminuye la secreción de la GnRH, así como la respuesta de la hipófisis a la GnRH; de esta forma, inhibe la maduración folicular y la ovulación (Hernández, 2012). Por esta razón, la progesterona y los progestágenos sintéticos son ampliamente utilizados en el control artificial de la reproducción (Galina y Valencia, 2014).

### **3.2.2.4.-Gonadotropinas**

Como su nombre lo indica, estas hormonas tienen la función principal de estimular el funcionamiento de las gónadas, tanto masculinas como femeninas (Galina y Valencia, 2014). La adenohipófisis secreta tres hormonas gonadotrópicas: FSH, LH y prolactina. La LH y FSH son hormonas glucoproteínicas con un peso molecular de alrededor de 32,000 daltons. Los gonadotropos en la adenohipófisis secretan ambas hormonas (Hafez, 2002).

La FSH promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graaf. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por sí sola, sino que necesita de la presencia de la LH para estimular la producción de estrógeno (Hafez, 2002).

Durante la mayor parte del ciclo las gonadotropinas son secretadas en forma tónica, que consiste en la secreción de pequeños pulsos liberados a intervalos regulares. La LH actúa exclusivamente sobre las células de la teca interna del folículo ovárico, en las que estimula la producción de andrógenos, mientras que las FSH se requiere para estimular en las células de la granulosa la conversión de los andrógenos a estrógenos (Galina y Valencia, 2014).

El pico preovulatorio de LH provoca la ruptura de la pared folicular y la ovulación (Hafez, 2002), adicionalmente, el pico preovulatorio de la LH inicia el proceso de luteinización de las células foliculares. Después de la ovulación se mantiene una secreción tónica de pequeños pulsos de LH que son necesarios para completar la formación del cuerpo lúteo y estimular la secreción de progesterona (Galina y Valencia, 2014).

### **3.2.2.5.-Gonadotropina coriónica equina (eCG)**

La eCG, antes llamada gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG), es una glucoproteína involucrada en el mantenimiento de la gestación temprana en la yegua, cuenta con subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH, pero con mayor contenido de carbohidratos, especialmente ácido siálico. El contenido más alto de ácido siálico parece ser responsable de una vida media larga de varios días para la eCG (Hafez, 2002 y Galina y Valencia, 2014). La lenta tasa de desaparición de los componentes de la eCG permite tratamientos menos frecuentes pero puede contribuir a una respuesta ovárica excesiva. La acción de la eCG implica una reducción de la atresia folicular y una selección de un número aumentado de folículos dominantes (Ochoa, 2003).

La eCG tiene las acciones biológicas de la FSH y de la LH, siendo dominantes las acciones de la FSH, por lo que la eCG se utiliza farmacológicamente para estimular el desarrollo folicular, incrementar los índices de ovulación e inclusive para provocar superovulación en programa de transferencia de embriones (Hafez, 2002 y Galina y Valencia, 2014).

### **3.2.2.6.-Prostaglandinas**

Las prostaglandinas son un grupo de ácidos grasos biológicamente activos, que tienen como principal precursor a un ácido graso no saturado de 20 carbonos, el ácido araquidónico (Bearden Y Fuquay, 1982). La mayor parte de las prostaglandinas actúan localmente en el lugar de su producción mediante una interacción célula a célula y por lo tanto, no entran exactamente en la definición clásica de hormona (Hafez, 2002), se producen en células de todo el cuerpo, incluyendo

células del miometrio y en las glándulas vesicales del macho (Bearden y Fuquay, 1982).

Algunas formas nunca aparecen en la sangre, mientras que otras son degradadas después de que circulan a través del hígado y de los pulmones. La  $PGF2\alpha$  es el agente luteolítico natural que finaliza la fase lútea (de cuerpo luteo) del ciclo estral y permite el inicio de un nuevo ciclo estral en ausencia de fertilización (Hafez, 2002). Tiene un efecto estimulante sobre los músculos lisos (Bearden, 1982), de los aparatos gastrointestinal y reproductivo, la erección, la eyaculación, el transporte de espermatozoides, la ovulación, formación del cuerpo luteo, el parto y la eyección de leche (Hafez, 2002).

### **3.2.2.7.- Melatonina**

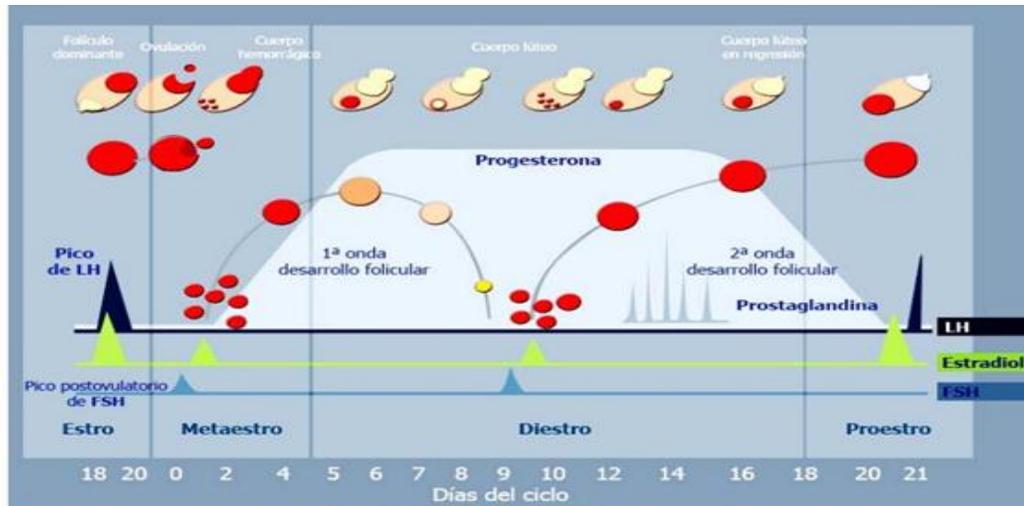
La melatonina es una hormona producida por la glándula pineal, cuya secreción está bajo la influencia del ciclo luz - oscuridad (González, 1996). La melatonina, determina el establecimiento del carácter reproductivo estacional. Los niveles de melatonina y su variación dinámica a lo largo del año hacen de la glándula pineal la responsable del control de los procesos fisiológicos necesarios para la adaptación de los animales a los cambios ambientales a que están sujetos y otros efectos relacionados a la reproducción (Sousa, 2012)

### **3.3.-Ciclo estral (Esquema 1)**

Durante su vida reproductiva, las hembras de las especies domésticas presentan ciclos estrales. Estos comprenden una serie de eventos ováricos, endócrinos y conductuales recurrentes que tienen la finalidad de que ocurra la ovulación, el apareamiento y la gestación (Galina y Valencia, 2014).

El ciclo estral inicia con el momento de receptibilidad sexual o estro y concluye con el siguiente estro. Si después de la cópula se logra la fertilización, los ciclos estrales se ven interrumpidos por un anestro fisiológico debido a la gestación (Aldana *et al.*, 2010). Adicionalmente, eventos patológicos como infecciones reproductivas, persistencia del cuerpo lúteo, desnutrición y estrés, pueden causar anestros patológicos (Galina y Valencia, 2014). El ganado bovino es poliéstrico y presenta conducta sexual aproximadamente cada 21 días, pudiendo fluctuar entre 17 y 24 días en promedio (Bearden y Fuquay, 1982; Forde *et al.*, 2011; Colazo y Mapletoft, 2014).

De acuerdo con las características endócrinas y conductuales que manifiestan los animales, el ciclo estral puede ser dividido en proestro, estro, metaestro y diestro (Aldana *et al.*, 2010), estos periodos ocurren de manera cíclica y secuencial, excepto por los periodos de anestro por gestación y del periodo de postparto (Bearden y Fuquay, 1982).



Esquema 1. Representación esquemática de un ciclo estral con dos ondas foliculares (Gasque, 2008)

Las primeras dos fases (proestro y estro) también son conocidas como fase folicular (Aldana et al., 2010), inicia con la regresión del cuerpo lúteo y finaliza con la ovulación. Durante esta fase ocurre la maduración folicular, por lo que el esteroide gonadal dominante es el estradiol (Galina y Valencia, 2014) teniendo una duración aproximada de 4 a 6 días (Forde et al., 2011). Las últimas dos etapas (metaestro y diestro) también son llamadas fase lútea, porque durante ellas se forma y tiene su mayor funcionalidad el cuerpo lúteo, por lo que la hormona dominante es la progesterona (Aldana et al., 2010), esta fase tiene una duración de 14 a 18 días (Forde et al., 2011).

### 3.3.1.-Proestro

Esta fase comienza cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y la caída de los niveles de progesterona y se prolonga hasta el inicio del estro (Bearden y Fuquay, 1982; Galina y Valencia, 2014). Paralelamente ocurre un aumento en la producción de estradiol e inhibina secretados por el o los folículos que comenzaron su desarrollo durante el diestro

(Aldana *et al.*, 2010). La principal característica que distingue al proestro es el rápido crecimiento folicular (Bearden y Fuquay, 1982).

La secreción de FSH es constante y no está regulada por GnRH, sino por el estradiol y la inhibina folicular. Por ello, durante el proestro las concentraciones de FSH son bajas (Galina y Valencia, 2014). Contrariamente la LH, cuya secreción hipofisiaria es pulsátil, comienza a disminuir la amplitud de sus pulsos y a incrementar su frecuencia de secreción por efecto del estradiol, lo que acentúa la producción de andrógenos por las células de la teca en el ovario y la capacidad aromática de las células de la granulosa con el consecuente incremento en la producción de estradiol (Aldama, 2010), los efectos de los estrógenos se pueden observar en la parte final de este periodo en el sistema de conductos y en el comportamiento de acercamiento al estro (Bearden y Fuquay, 1982).

El periodo de proestro es de preparación para el apareamiento, el útero se aprecia agrandado y edematosos, mientras que las glándulas endometriales entran en una fase proliferativa, por lo que se encuentran aumentadas de tamaño. En la vagina, el número de capas celulares del epitelio comienza a incrementarse y las capas superficiales se vuelven cornificadas (Aldana *et al.*, 2010).

### **3.3.2.-Estro**

Esta etapa es la que más fácilmente se reconoce del ciclo, ya que durante ella la hembra muestra la conducta de receptividad sexual o calor, buscando activamente al macho, aceptando la monta y el apareamiento (Aldana *et al.*, 2010). El estro es provocado por el incremento significativo de las

concentraciones de estradiol producido por el folículo preovulatorio y por la ausencia de un cuerpo lúteo. Durante el estro, el útero presenta una marcada turgencia y está edematoso. Al mismo tiempo, la mucosa vaginal está congestionada y las células de la vagina y cérvix tienen alta actividad secretoria (Pineda, 2003). La duración de esta etapa es de 8 a 18 horas (Hernández, 1991).

En el ovario, el o los folículos en desarrollo alcanzan su madurez y tamaño preovulatorio, induciéndose las máximas concentraciones de estradiol (Galina y Valencia, 2014). Esta hormona ejerce un mecanismo de retroalimentación positiva a la LH, de modo que se produce el pico preovulatorio de LH que será responsable de la ovulación (Aldana *et al.*, 2010). Los estrógenos inducen la secreción de GnRH y por lo tanto el pico preovulatorio de LH, activando neuronas que contienen receptores a estradiol fuera de los centros productores de GnRH. Estas células hacen sinapsis con las neuronas del área preóptica del hipotálamo y por medio de norepinefrina estimulan la liberación de GnRH (Galina y Valencia, 2014).

Los estrógenos son los responsables de inducir la conducta sexual (Aldana *et al.*, 2010), sus signos más característicos son:

- La vaca muestra inquietud.
- Aumento de vocalizaciones.
- Trata de montar a otras vacas y acepta la monta del toro o de otra vaca.
- La vulva se inflama ligeramente
- Útero turgente (duro y contraído) a la palpación rectal.
- Presencia de moco cristalino en la vagina (Hernández, 1991).

Durante esta etapa suceden contracciones del útero y oviducto con la finalidad de favorecer el transporte de los gametos para la fertilización. Esta acción es mediada por las concentraciones de estrógenos y ayudada en parte por las prostaglandinas del plasma seminal (PGF2 $\alpha$  y PGE) (Aldana *et al.*, 2010).

### **3.3.3.-Metaestro**

Esta etapa inicia cuando ha terminado la receptibilidad sexual y concluye en el momento que hay un cuerpo lúteo funcional bien establecido. Corresponde al periodo de transición entre la predominancia estrogénica y el incremento en las concentraciones de progesterona (Aldana *et al.*, 2010) y tiene una duración de cuatro a cinco días (Hernández, 1991).

Durante esta etapa ocurre la ovulación y se desarrolla el cuerpo lúteo. Después de la ovulación se observa una depresión en el lugar ocupado por el folículo ovulatorio (depresión ovulatoria) y posteriormente se desarrolla el llamado cuerpo hemorrágico (cuerpo lúteo en proceso de formación), principalmente bajo influencia de la LH (Hernández, 1991; Galina y Valencia, 2014).

Para el desarrollo del cuerpo lúteo, las células de la granulosa y de la teca del folículo que ovuló inician inmediatamente su luteinización. Los principales productos de secreción del cuerpo lúteo son oxitocina y progesterona, esta última en respuesta a la LH (Aldana *et al.*, 2010). Para el desarrollo del cuerpo lúteo es esencial la formación de una red vascular, ya que es la estructura que proporcionalmente recibe el mayor flujo sanguíneo del organismo (Galina y Valencia, 2014).

Por otro lado, el aumento en la concentración de progesterona provoca cambios físicos uterinos induciendo a las glándulas endometriales a que inicien su fase secretora y produzcan el histotrofo o leche uterina (Aldana *et al.*, 2010).

Algunas vacas pueden presentar un sangrado vulvar durante esta etapa, que aparece en 90% de todos los metaestros de novillonas y en 45% de las vacas maduras, este sangrado se asocia con el momento de la ovulación y la abrupta interrupción de la secreción de estrógenos (Bearden y Fuquay, 1982; Galina y Valencia, 2014).

### **3.3.4.-Diestro**

Es la etapa más larga del ciclo estral, de 12 a 14 días (Hernández, 1991). Se caracteriza como el periodo del ciclo donde el cuerpo lúteo es totalmente funcional y termina cuando el cuerpo lúteo pierde su funcionalidad, es decir, cuando las concentraciones de progesterona disminuyen por debajo de 1 ng/ml. (Bearden y Fuquay, 1982 y Hernández, 1991).

Cabe mencionar que durante esta etapa, la LH se secreta con una frecuencia muy baja y la FSH tiene incrementos responsables de las oleadas foliculares, es por esto que se pueden encontrar folículos de diferente tamaño (Hernández, 1991).

Al término del diestro, los estrógenos han sensibilizado al endometrio para que forme receptores a oxitocina. En ese momento se inicia un mecanismo de retroalimentación positiva para la secreción de PGF2 $\alpha$  (Galina y Valencia, 2014), que es la que destruye al cuerpo lúteo dando lugar a que inicie de nuevo el ciclo estral.

### **3.4.-Dinámica folicular del ciclo estral bovino (Esquema 2)**

La mayor parte de la especies domesticadas (ej. Vaca, búfalo, oveja, cabra, caballo) y en los humanos, el desarrollo folicular durante el ciclo estral/menstrual ocurre en patrones similares a ondas (Aerts y Bols, 2010)

El proceso de continuo crecimiento y regresión de los folículos ováricos que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio es conocido como "dinámica folicular" (Lucy et al, 2014). El sistema de desarrollo folicular ovárico en la hembra bovina se encuentra bajo control del sistema endócrino y el parácrino en el que intervienen las hormonas gonadotrópicas (FSH y LH), las citoquinas que actúan como mensajeros químicos, los factores de crecimiento, que favorecen varios procesos como la proliferación celular, las hormonas esteroides y otras moléculas reguladoras (Tovío y Ducia, 2012).

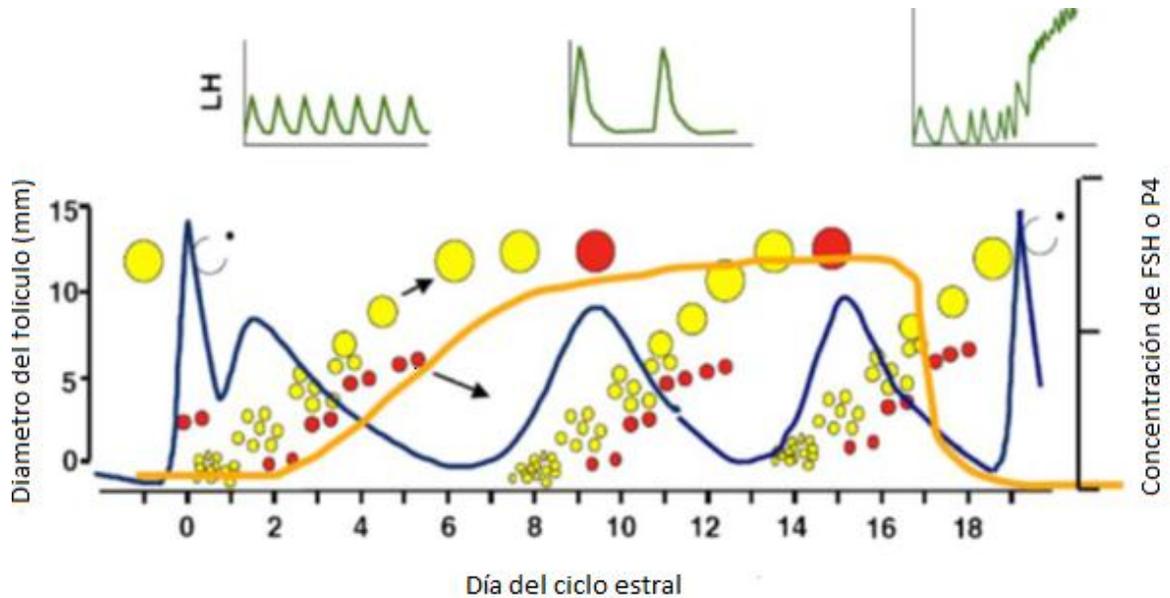
La naturaleza cíclica de la reproducción y las diferencias individuales existentes entre los animales hizo que transcurrieran muchos años de discusión y controversia hasta definir cómo se desarrollan y atresian los folículos durante el ciclo estral bovino (Bó, 2002). El primero en postular la teoría de las ondas foliculares fue Rajakoski en su publicación del año 1960, en la que propuso la existencia de dos ondas de crecimiento folicular que emergían en los ovarios durante el ciclo estral de las vacas, las cuales comenzaban a evidenciarse entre los días 3 a 12 y 13 a 0 del ciclo estral (Tovío y Ducia, 2012). Sin embargo, no fue sino hasta la década de los 80's, cuando la ultrasonografía de tiempo real se empezó a utilizar como un método de estudio de la función ovárica del ganado bovino, que se demostró que el crecimiento de los folículos en

el bovino se produce en distintos patrones similares a ondas, así los científicos fueron capaces de embarcarse en protocolos de sincronización de celos y ovulaciones (Tovío y Ducia, 2012; Colazo y Mapletoft, 2014 y Vergara, 2012). El crecimiento, desarrollo y maduración del folículo ovárico es un proceso fundamental para una alta eficiencia reproductiva en animales de granja. Un número fijo de folículos primordiales son establecidos durante el desarrollo fetal con crecimiento del folículo ovárico en un periodo de 3 a 4 meses (Forde *et al.*, 2011).

El crecimiento del folículo ovárico en el ganado ocurre en ondas, con 2 a 3 ondas por ciclo estral (Forde *et al.*, 2011). Una onda de desarrollo folicular podría definirse como el desarrollo armónico y simultáneo de varios folículos antrales pequeños, de los cuales, debido a mecanismos moleculares, se seleccionará el folículo ovulatorio (Tovío y Ducia, 2012). Cada onda de crecimiento implica la emergencia, selección y dominancia seguido de la ovulación o atresia del folículo dominante (Forde *et al.*, 2011).

El reclutamiento de los folículos ováricos es caracterizado por la emergencia de un grupo que consta de 5 a 20 folículos de alrededor de 5mm de diámetro y es correlacionado con un incremento transitorio en la concentración de la FSH, y esto se caracteriza por la expresión de mRNA que codifica para la elaboración de las aromatasas P450arom y P450scc, en las células de la granulosa del folículo ovárico, las cuales convierten el andrógeno a estrógeno (Aerts y Bols, 2010; Forde *et al.*, 2011 y Tovío y Ducia, 2012). El crecimiento folicular continúa de 1 a 2mm por día en ambos ovarios, durante 2 a 3 días gracias a los receptores de FSH que se encuentran en las células de la granulosa (Burke, 2003 y Forde *et al.*, 2011).

Durante cada onda de crecimiento, los folículos reclutados son sujetos a un proceso de selección, todos los folículos crecen, normalmente en las vacas un solo folículo se desarrolla y continúa creciendo hasta convertirse en folículo dominante. Este crecimiento produce un incremento en la concentración de estradiol e inhibina en el fluido folicular.



*Esquema 2. Descripción esquemática del patrón de secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), y progesterona (P4); y el patrón de desarrollo de los folículos ováricos durante el ciclo estral en el ganado bovino. Cada oleada de desarrollo folicular es precedido por un incremento transitorio de las concentraciones de FSH. Los folículos ováricos desarrollados están sombreados en amarillo, los folículos atresicos están sombreados en rojo. Una oleada en las concentraciones de LH y FSH ocurre en el comienzo del estro e induce la ovulación. El patrón de secreción de los pulsos de LH durante la fase lútea temprana (mayor frecuencia, menor amplitud), la fase lútea media (menor frecuencia, menor amplitud) y la fase folicular (alta frecuencia, aumentando hasta la oleada) están esquematizados en la parte superior (Forde et al, 2011)*

El aumento en la concentración del estradiol junto con la inhibina suprimen la producción de FSH de la adenohipófisis via retroalimentación negativa, reduciendo las concentraciones de FSH a nivel basal ocasionando la regresión y atresia de los folículos subordinados (Bó, 2002; Barros 2002; Forde et al., 2011; y Aerts y Bols, 2010). De una a cuatro ondas de desarrollo y crecimiento folicular ocurren durante un ciclo

estral, la mayoría de las hembras bovinas *Bos taurus* y *Bos indicus* tienen dos o tres ondas foliculares y raramente una o cuatro y el folículo preovulatorio es derivado de la última onda (Lucy *et al.*, 2014; Barros, 2002 y Vergara, 2012). Rhodes *et al.* (1995) evaluó 117 intervalos inter-ovulatorios de 17 novillas Brahman y reportó que el 26%, 68%, y 7% de los ciclos estrales estaban compuestos de 2, 3 y 4 ondas foliculares, respectivamente. La primera onda de desarrollo folicular se detecta el día de la ovulación (Día 0) en los ciclos de 2 o 3 ondas. La segunda onda comenzará el día 9 o 10 para los ciclos de 2 ondas y 1 o 2 días más temprano (Día 8 o 9) en los ciclos de 3 ondas. En los ciclos de 3 ondas la tercera onda emerge en el día 15 o 16 (Bó, 2002; Colazo y Mapletoft, 2014). Algunos animales *Bos indicus* pueden tener ciclos de 4 ondas, la cuarta onda comienza el día 20 o 21 y el ciclo estral dura 24 o 25 días (Vergara, 2012), la duración del ciclo estral en vacas con dos ondas de crecimiento folicular es en promedio de 21 días, y de 23 días en vacas con tres ondas de crecimiento (Aerts y Bols, 2010)

### **3.5.-Mecanismo del control hormonal para inseminación artificial a tiempo fijo.**

La dinámica folicular en el ganado puede ser manipulado acortando la fase lútea, induciendo una luteólisis, utilizando sustancias luteolíticas como la PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , simulando la función del cuerpo luteo, alargando el periodo de dominancia folicular con progesterona o alguno de sus derivados durante algunos días o acortando el desarrollo folicular con GnRH o con benzoato o cipionato de estradiol. Estas hormonas pueden ser usadas para sincronizar la ovulación permitiendo inseminaciones sin la

necesidad de detectar el estro (Macmillan *et al.*, 2003 y Peters, 1991).

Los protocolos de sincronización de estro para novillas *Bos indicus* típicamente consisten en el uso de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona y usualmente dos aplicaciones de benzoato de estradiol, una aplicación al momento de la inserción del dispositivo intravaginal para sincronizar la emergencia de una onda folicular y la segunda aplicación después de remover el dispositivo intravaginal para inducir la ovulación sincronizada del folículo dominante. Usualmente la segunda aplicación de benzoato de estradiol es administrado 24hrs después de haber retirado el dispositivo intravaginal y de la aplicación de PGF2 $\alpha$  (Edwards *et al*, 2014).

La administración de progesterona suprime la frecuencia pulsátil de la LH dando soporte al cuerpo lúteo, el cual causa la supresión del crecimiento del folículo dominante (Adams *et al*, 1992 y Wiltbank *et al*, 2002). Administrar progesterona mediante un dispositivo intravaginal dentro de los 3 días siguientes al estro pueden producir un acortamiento en el ciclo, ya sea con una o dos ondas de desarrollo folicular y reduce el porcentaje de concepción en las vacas inseminadas (Macmillan *et al.*, 2003); en novillas Brahman la combinación del dispositivo intravaginal liberador de progesterona y el tratamiento con el benzoato de estradiol al momento de la inserción del dispositivo intravaginal disminuye marcadamente la secreción de la hormona folículo estimulante (Edwards *et al*, 2014 y Bó *et al*, 1994). Se recomienda el uso de la gonadotropina coriónica equina al momento del retiro del dispositivo intravaginal de progesterona en un programa de IATF, ya que incrementa el desarrollo folicular, los folículos dominantes tienen un mayor diámetro al momento de la

inseminación, mayores tasas de ovulación y de preñez (Correa *et al.*, 2013 y Pitaluga *et al.*, 2013). El tiempo medio de la eCG es relativamente largo (Carruthers, 1986), y tiene la capacidad de unirse tanto a receptores de la LH como a receptores de la FSH (Murphy *et al.*, 1991), los cuales pueden estimular las células de la teca y de la granulosa del folículo dominante (Kuran *et al.*, 1996). Así, el tratamiento con eCG mejora el desarrollo folicular y proporciona un mejor ambiente endócrino durante el proestro (mayor concentración de estradiol circulante) y diestro (mayor concentración de progesterona circulante), los cuales son favorables para la fertilidad (Sá Filho *et al.*, 2009). Sin embargo, la eficacia de la eCG puede depender de la cantidad de progesterona que tenga el dispositivo intravaginal (Butler *et al.*, 2011).

Los protocolos de sincronización de estro basados en estradiol y progesterona han sido utilizados exitosamente para el control de la dinámica folicular y lutea en el ganado y para sincronizar la ovulación cuando se insemina sin detección de estro (Pitaluga *et al.*, 2013). Estudios realizados en la década de los 90's demostraron que la inyección de estradiol junto con progestágenos son capaces de sincronizar el desarrollo folicular y así permitir que las vacas sean inseminadas a tiempo fijo con una tasa aceptable de fertilidad (50% de vacas gestantes; Bo *et al.*, 1994, 1995).

La PGF2 $\alpha$  es una potente sustancia biológica que tiene múltiples aplicaciones en el control de la reproducción. En el ganado los usos más comunes que se les da están basados en sus propiedades luteolíticas, sincronización del estro, regresión de cuerpo lúteo persistente, provocar aborto e inducción al parto (Gabriel *et al.*, 2011). La mayor parte de los protocolos de sincronización emplean una inyección de PGF2 $\alpha$  que regresa

el cuerpo lúteo. La regresión del cuerpo lúteo es seguido por el desarrollo de un folículo preovulatorio, comportamiento de estro y ovulación (Roche, 1974). Un método para mejorar la sincronización del estro después de una inyección de PGF2 $\alpha$  es tratar al ganado con una progesterona 7 días antes de la inyección (Macmillan y Peterson, 1993). La administración de progesterona 7 días antes de la inyección de PGF2 $\alpha$  asegura que el cuerpo lúteo regresará en respuesta a la PGF2 $\alpha$  ya que el ganado tendrá un cuerpo lúteo que se ha desarrollado por lo menos durante 7 días (Roche *et al.*, 1999).

#### **4.-JUSTIFICACIÓN**

El presente estudio tiene como finalidad aportar información a los MVZ'S y a los ganaderos sobre las ventajas que tiene implementar un programa de inseminación artificial a tiempo fijo dentro de una explotación de bovinos productores de carne.

La baja eficiencia reproductiva en el trópico mexicano y el rápido crecimiento de la población a nivel nacional obliga a los MVZ'S y a los ganaderos implementar protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo para aumentar la eficiencia reproductiva y por ende, la producción de animales en pie así como de carne.

#### **5.-OBJETIVO GENERAL**

Comparar un protocolo de sincronización de estro e IATF vs monta directa, tomando como referencia el porcentaje de preñez, usando hembras de la raza Charbray en el trópico húmedo de México.

## **6.-MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **6.1.-Localización.**

El experimento se realizó entre el mes de junio y el mes de septiembre de 2015 en el Rancho Agua Fría, ubicado en el municipio de Palenque, estado de Chiapas, México (91° 54' 43.34" W, 17° 48' 33.48" N, 60 msnm) (INEGI, 2015).

### **6.2.-Animales.**

Para el protocolo de IATF se utilizaron 25 vacas de raza Charbray, multíparas de 2 a 5 partos, previamente examinadas vía rectal para descartar anomalías anatómicas en cervix, útero y ovarios así como vacas gestantes. Las vacas seleccionadas se mantuvieron en pastoreo de *Brachiaria brizantha* con libre acceso al agua y sal mineralizada.

Como grupo testigo se utilizaron 65 vacas de raza Charbray, multíparas de 2 a 5 partos, previamente examinadas vía rectal para descartar anomalías anatómicas en cervix, útero y ovarios así como vacas gestantes, con presencia de 2 toros de forma permanente. Fueron mantenidas en potreros de *Brachiaria brizantha* durante todo el experimento.

### **6.3.-Protocolo de sincronización del estro.**

Independientemente del día del ciclo estral (Inicio de tratamiento= día 0), las vacas recibieron un dispositivo intravaginal que contiene 1gr de progesterona y una inyección IM de 1mg de benzoato de estradiol. El día 8 se retiró el dispositivo intravaginal y las hembras se trataron con 0.15mg de cloprostenol IM y 300 UI de gonadotropina coriónica equina IM. El día 9 se aplicó 0.5mg de benzoato de estradiol IM. 52

horas después de retirado el dispositivo intravaginal, las 25 vacas se inseminaron con semen congelado de fertilidad probada por un MVZ especialista en reproducción animal.

#### **6.4.- Diagnóstico de gestación.**

Se realizó por palpación rectal en ambos lotes 60 días después de la IATF del grupo experimental.

El análisis estadístico de los resultados entre los dos tratamientos se hizo mediante una prueba "t" para proporciones (Wayne, 2012).

### **7.-Resultados**

En el siguiente cuadro se comparó la tasa de preñez entre el grupo que se trató con un programa de IATF y un grupo testigo que se sometió a monta directa. Los resultados de preñez obtenidos fueron del 52% de vacas gestantes en el grupo tratado con IATF y en el grupo testigo (monta directa) se obtuvo un 48% de vacas gestante. Estos resultados no muestran diferencias estadísticas significativas.

	Grupo tratado	Grupo testigo
Número de vacas	25	65
Gestantes	13	31
Porcentaje de vacas gestantes	52 <sup>a</sup> %	48 <sup>a</sup> %
Vacas vacías	12	34

Cuadro 1. Letras iguales en los porcentajes denota que no hay diferencias estadísticas significativas (P>0.05).

## 8.-Discusión

En el cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos en este trabajo, como se puede notar, el porcentaje de preñez obtenido con el protocolo usado para este estudio fue de 52% mientras que el testigo (monta natural) llegó a 47.7%. Estos dos resultados no difieren significativamente ( $p > 0.05$ ) entre sí. Sin embargo el uso de un programa de IATF si bien no mejora el porcentaje de preñez que se obtiene con la monta natural, sí permite que un mayor número de hembras entren en calor en el mismo día, lo que permite planear las fechas o épocas para inseminar en un mismo día a las hembras tratadas con un protocolo eficiente.

Por otro lado estos resultados obtenidos en este trabajo son mejores que los reportados por Ochoa (2003) quien empleando dos protocolos con pequeñas variantes reportó en el primero donde utilizó un implante intravaginal y 10mg de BE en el día 0 y retirando el dispositivo el día 9 e inseminar 48hrs después, obtuvo un porcentaje de preñez del 28%. En otro protocolo utilizando un implante auricular con norgestomet, una inyección IM de 3mg de norgestomet, 5mg de VE y retirando el implante a los 9 días e inseminar 48hrs después, reportó un 24% de vacas gestantes.

Malik et al., (2012) reportó bajo monta natural un 28.6% de preñez contra un 18% usando un protocolo a base de un implante intravaginal más 2mg de BE y en el día 8 se retiró el dispositivo intravaginal y se aplicó 125mcg de  $PGF2\alpha$ , un día después aplicó 1mg de BE e inseminó al día 10.

Correa et al., (2013) reportó un 13.2% de preñez en un hato de 38 hembras Brahman en las que usó un protocolo con implante intravaginal más 2.5mg de BE en el día 0 para posteriormente en el día 9 retirar el implante y aplicó 25mg de PGF2 $\alpha$  más 400UI de eCG y 72hrs después (día 12), inseminó.

Prada et al., (2013) reporta que usó dos protocolos distintos en novillonas cebú Brahman, dichos protocolos variaban en que en uno de ellos en el día 6 aplicó 150mg de PGF2 $\alpha$  retirando el dispositivo intravaginal al día 8 y aplicando 5mg de CE y 200UI de eCG para después inseminar al día 10. El porcentaje de novillas preñadas fue de 32.14%. En otro protocolo estos mismos autores no utilizan en el día 6 la PGF2 $\alpha$  pero la aplican junto con CE y eCG en el día 8 al retirar el dispositivo intravaginal e inseminan 48 horas después y obtuvieron un 41.7% de preñez.

Remigio (2015) usó en el día 0, 100mg de GnRH y 150mg de PGF2 $\alpha$  en el día 7, para el día 9 aplicar 100mg de GnRH y en el día 10 inseminar, obteniendo un 18% de vacas gestantes. Este mismo autor en otra variante del mismo protocolo obtuvo 22% de hembras gestantes.

Edwards et al., (2015) usando novillonas *Bos indicus* empleó dos protocolos con ligeras variantes pero basados principalmente en el dispositivo intravaginal, reportando 34.5 y 34.8% de hembras preñadas.

Sin embargo Villa et al., (2007) reportó para uno de sus protocolos usados 55.7% de preñez en vacas *Bos indicus*, siendo estos resultados muy semejantes a los obtenidos en este trabajo. Sin embargo Saldarriaga (2009) reportó un protocolo de sincronización de estro e inseminación artificial a tiempo fijo solo cuando el celo es detectado mejorando

significativamente el porcentaje de preñez a un 75%, resultado que es superior encontrado en esta tesis.

Desde luego que el porcentaje de preñez puede ser influenciado por varios factores desde: la raza de las vacas, la condición corporal y la época del año en el que se aplica o usa el protocolo de IATF. Se puede afirmar que los resultados aquí obtenidos son satisfactorios ya que pueden ser comparables con los resultados obtenidos en el mismo hato pero con monta natral.

## **9. -CONCLUSIÓN**

Los resultados en ambos lotes se encuentran dentro de los porcentajes de gestación normales obtenidos en la región bajo monta directa. Con la ventaja del uso de la IATF de programar las visitas del MVZ, aprovechar al máximo su estancia en el o los ranchos, mejorar o sencillamente seguir las directrices genéticas marcadas o seleccionadas por los propietarios y MVZ. Se espera continuar con diversos programas de IATF que permitan mejorar los porcentajes de preñez en los trópicos.

Deberá considerarse desde luego la importancia de continuar con diferentes protocolos de tratamiento hasta detectar el idóneo para cada rancho.

## 10.-Bibliografía

1. **Adams GP**, Matteri RL, Ginther OJ. **1992**. The effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. J Reprod Fertil. 95: 627-640.
2. **Aerts JMJ** and Bols PEJ. **2010**. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. Reprod Dom Anim.. 45: 180-187
3. **Aldana SA**, Alquicira NJC, Antuna BS, et. al. **2010**. Fisiología veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos. 1ª ed. México: UNAM.
4. **Alves SA**. **1980**. El cebú. Ganado bovino para los países tropicales. México: Hispano - Americana.
5. **Anta E**, Rivera JA, Galina C, Porras A. y Zarco L. **1989**. Análisis de la información publicada sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. Veterinaria México. 20: 11-18.
6. **ASERCA**. **2010**. La producción de carnes en México 2010. Claridades agropecuarias 207: 19-33
7. **Baruselli PS**, Reis EL, Marque MO, Nasser LF, Bó GA. **2004**. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. Ani Reprod Sci. 82/83: 479-486.7
8. **Bearden HJ**, Fuquay JW. **1982**. Reproducción animal aplicada. México: El manual moderno.

9. **Bó GA**, Adams GP, Pierson RA, Tribulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. **1994**. Follicular wave dynamics after estradiol 17- $\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41: 1555-1569.
10. **Bó GA**. **2002**. Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. Universidad Católica de Córdoba. Argentina.
11. **Bo, GA**, Adams, GP, Pierson, RA, Mapletoft, RJ. **1994**. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43. 31-40.
12. **Brandan N.**, Llanos C., Miño C., Gerometta P., Sandrigo S. **2002**. Hormonas hipotálamo - hipofisiarias. Universidad Nacional del Nordeste. México.
13. **Brandan NC**, Llanos IC, Reyes JM, Rodríguez AN. **2011**. Hormonas hipotalámicas e hipofisiarias. Disponible en: <http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/hhh.pdf>
14. **Burke CR**. **2003**. Regulation of ovarian follicular development with estradiol in cattle. (Tesis de licenciatura). U.S.A.: The Ohio State University.
15. **Butler SAA**, Atkinson PC, Boe-Hansen GB, Burns BM, Dawson K, Bo GA, McGowan MR. **2011**. Pregnancy rates after fixed-time artificial insemination of Brahman heifers treated to synchronize ovulation with low-dose intravaginal progesterone releasing devices, with or without eCG. *Theriogenology*. 76: 1416-1423.
16. **Carruthers TD**. **1986**. Principles of hormone therapy in theriogenology. Current therapy in Theriogenology 2. Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Small and Large Animals. WB Saunders.
17. **Colazo MG.**, Mapletoft RJ. **2014**. Fisiología del ciclo estral bovino. *Revista Ciencias Veterinarias*. 16: 31-46.

18. **Comisión Económica para América Latina. 1974.** La industria de la carne de ganado bovino en México. México (DF): Fondo de Cultura Económica.
19. **Correa OA,** Uribe UL, Pulgarin VE. **2013.** Factores que afectan la preñez en vacas Brahman sometidas a inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista MVZ Córdoba* 18 (1):3317-3326.
20. **Derivans J. 1982.** Fisiopatología de la reproducción e inseminación artificial de los animales domésticos. España: Acribia.
21. **Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. 2017.** Panorama agroalimentario. Carne de bovino 2017. México: Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura.
22. **Echeverría J. 2006.** Endocrinología reproductiva: Prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  en vacas. Revisión bibliográfica. *Revista Veterinaria.* 1: 1-12.
23. **Edwards SAA,** Atkinson PC, Satake N, Boe-Hansen G, McGowan MR. **2014.** Ovarian dynamics in response to two modified intravaginal progesterone releasing device and oestradiol benzoate based ovulation synchronisation protocols designed for use in Brahman heifers. *Ani Reprod Sci.* 148: 18-25.
24. **Edwards SAA,** Bo GA, Chandra KA, Atkinson PC, McGowan MR. **2015.** Comparison of the pregnancy rates and costs per calf born after fixed-time artificial insemination or artificial insemination after estrus detection in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 83: 114-120.
25. **Esperón SAE. 1996.** Efecto estacional en la fertilidad de hembras cebuinas inseminadas después de aplicar un implante hormonal. (Tesis de maestría). México: Universidad de Colima.

26. **Fernández CBL. 1993.** Reproducción aplicada en el ganado bovino lechero. México, Trillas. P 137.
27. **Forde N.,** Beltman ME., Lonergan P., Diskin M., Roche JF., et. al. **2011.** Oestrous cycles in Bos Taurus cattle. Animal Reproduction Science. 124: 163-169.
28. **Gabriel HG,** Wallenhorst S, Dietrich E, Holtz W. **2011.** The effect of prostaglandina F2 $\alpha$  administration at the time of insemination on the pregnancy rate of dairy cows. Animal Reproduction Science; 123: 1-4.
29. **Galina C.,** Valencia J. **2014.** Reproducción de animales domésticos. 3<sup>ra</sup> ed. México: Limusa
30. **Galina SC.** y Guerrero M. **1992.** Recursos y necesidades pecuarias de México. México. (Edo. De México): Editorial UNAM.
31. **Gasque GR. 2008.** Enciclopedia bovina. 1<sup>o</sup> ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
32. **González AR. 1996.** La melatonina. Una revisión de su farmacología. Fármacos 9(2):102-111.
33. **González SC. 2008.** Desarrollo sostenible de ganadería doble propósito. Venezuela: Ediciones Astro Data.
34. **Gordon I. 1996.** Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos. España: Acribia.
35. **Hafez ESE. 1980.** Reproduction in farm animals. 4<sup>a</sup>. Edición. México. Lea & Febiger P 627.
36. **Hafez ESE. 1984.** Reproducción e inseminación artificial en animales. 4<sup>a</sup>. Edición. México: McGraw Hill.
37. **Hafez ESE.,** Hafez B. **2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales. 7<sup>a</sup> ed. México: McGraw Hill.
38. **Hernández CJ. 2012.** Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. 1<sup>a</sup> ed. México: Ciudad Universitaria.

39. **INEGI. 1990.** Agenda estadística 1989. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Aguascalientes, Ags, México.
40. **Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina. 2012.** Informe de mercados internacionales de carne bovina. Disponible en: [http://www.ipcva.com.ar/documentos/1124\\_informedemercados\\_mundiales2012.pdf](http://www.ipcva.com.ar/documentos/1124_informedemercados_mundiales2012.pdf)
41. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2015.** Atlas Nacional Interactivo. Disponible en: <http://www.atlasdemexico.gob.mx/mapas3.html>
42. **Johansson I. 1972.** Genética y mejoramiento animal. España: Acribia.
43. **Knobil E. 1998.** Encyclopedia of reproduction Vol. 2. USA: Academic press.
44. **Kuran M, Hutchinson JSM, Broadbent PJ.** The response of bovine granulosa cells to different gonadotrophins in culture. Anim Reprod Sci. 45: 1-12.
45. **Lucy MC, Savio JD, Badinga RL, De La Sota RI y Thatcher WW. 2014.** Factors That Affect Ovarian Follicular Dynamics in Cattle. USA: University of Florida.
46. **MALik A, Haron AW, Yusoff R, Kasim A, Yusoff SM. 2012.** Pregnancy rate following artificial insemination or natural service in postpartum estrus synchronized beef cattle. Turk J. Vet. Anim. Sci. 36(4): 451-455.
47. **McDonald LE. 1978.** Reproducción y endocrinología veterinaria. 2ª ed. México: Nueva Editorial Interamericana.
48. **Murphy BD, Martinuk SD. 1991.** Equine chorionic gonadotropin. Endocr Rev. 12: 1305-1319.
49. **Ochoa ME. 2003.** Empleo de dos tratamientos progestacionales más estrógenos e inseminación artificial

- a tiempo fijo en vacas lactantes *Bos Taurus* / *Bos indicus* en condiciones de trópico húmedo de México. (Tesis de licenciatura). Veracruz. México: Universidad Veracruzana.
50. **Pérez F. 1966.** Reproducción e inseminación artificial ganadera. España: Científico-Médica.
51. **Peters AR. 1991.** Reproducción del ganado vacuno. España: Acribia.
52. **Pineda MH. 2003.** Veterinary endocrinology and reproduction. USA: Blackwell Publishing Company.
53. **Pitaluga PCSF, Sá Filho MF, Sales JNS, Baruselli PS, Vicenti L. 2013.** Manipulation of the proestrous by exogenous gonadotropin and estradiol during a timed artificial insemination protocol in suckled *Bos indicus* beef cows. *Livestock Science*; 154: 229-234.
54. **Porras AA, Galina HC y Zarco QL. 1993\_.** Control del estro en ganado *Bos indicus* en condiciones tropicales: efecto de la utilización del Norgestomet combinado con estrógenos. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 1(2): 175-185
55. **Prada TJA, Castro CJA, Ardila SA, Chacón JL. 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.
56. **Remigio AN. 2015.** Efecto de la eCG en el protocolo Ovsynch en 1er servicio de vacas Holstein sobre algunos parámetros reproductivos y tasa desecho. (trabajo de tesis). Coahuila. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
57. **Rhodes JM, De'ath G, Entwistle KW. 1995.** Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science.* 35: 81-90.

58. **Roche JF**, Austin EJ, Ryan M, O'Rourke M, Mihm M, Diskin MG. **1999**. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:61-71.
59. **Sá Filho OG**, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. **2009**. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology.* 72: 210-218.
60. **SAGARPA**. **2014**. Consultado. La producción de carnes en México y sus perspectivas. 1990-2000. 2005. Centro de Estadística Agropecuaria. Disponible en [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)
61. **Saldarriaga GEF**. **2009**. Análisis comparativo entre inseminación artificial a tiempo fijo e inseminación artificial a celo detectado con sus variables económicas y reproductivas. (Informe de práctica profesional). Antioquía. Colombia: Corporación Universitaria Lasallista.
62. **Sanabria VAM**, Porras VJL. **2008**. Protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas (*Bos indicus*) en el trópico bajo. *Ciencia y agricultura*; 6: 55-61.
63. **Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación**. **2014**. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/resumen-nacional-pecuario/> y <http://www.siap.gob.mx/opt/poblagand/bovcarn.pdf>
64. **Secretaría de Educación Pública**. **1981**. Bovinos de carne. México (DF): Trillas,
65. **Sorensen AM**. **1982**. Reproducción animal principios y prácticas. México: McGraw Hill.
66. **Sousa AO**, Baruselli PS, Carvalho NA, Konrad JL, Crudeli GA. **2012**. Eficiencia reproductiva de búfalas multíparas sometidas a implantes de melatonina fuera de la estación reproductiva. *Revista Veterinaria.* 23: 1, 38-42.

67. **Swenson, MJ.** y Reace, WO. **1999.** Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes. 5ª Edición, Tomo II. Editorial NORIEGA UTHEA. México, D.F.
68. **Tovío LNI** y Ducia AA. **2012.** Factores relacionados con la dinámica folicular en la hembra bovina. Revista Spei Domus. 8: 38-47
69. **Vergara RU.** **2012.** Estudio de un caso de un programa de transferencia embrionaria en un hato de vacas cebuínas en el trópico húmedo de México. (Tesis de Maestría). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
70. **Villa NA,** Morales CA, Granada JF, Mesa H, Gómez G, Molina JJ. **2007.** Evaluación de cuatro protocolos de sincronización para inseminación a tiempo fijo en vacas *Bos indicus* lactantes. Revista científica; 17: 501-507.
71. **Wayne WD.** **2012.** | Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. México: Limusa.
72. **Yanzaguano RCA.** **2013.** Evaluación de la tasa de preñez utilizando la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a 0 - 10 - 20 horas post aplicar el protocolo de sincronización ovsynch. (Tesis de Licenciatura Médico Veterinario Zootecnista). Cuenca. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.