



EFECTO DEL DIÁMETRO DEL FOLÍCULO PREOVULATORIO EN EL MOMENTO DE LA IATF Y DE LA EXPRESIÓN DE ESTRO SOBRE LA TASA DE PREÑEZ EN VACAS NELORE CON CRÍA AL PIE

Fausto Vinicio Guzmán Aguirre

Tesis

Para obtener el Grado Académico de
Magíster en Reproducción Bovina

Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba
(IRAC)

Córdoba, Agosto del 2018



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC)
Escuela para Graduados

**EFFECTO DEL DIÁMETRO DEL FOLÍCULO PREEVULATORIO EN EL
MOMENTO DE LA IATF Y DE LA EXPRESIÓN DE ESTRO SOBRE LA TASA DE
PREÑEZ EN VACAS NELORE CON CRÍA AL PIE**

Fausto Vinicio Guzmán Aguirre

Comisión Asesora de Tesis

Director: Med.Vet. (M.Sc.) Jorge Carcedo

Co-Director: Dr. (M.B.A) Humberto Tríbulo

Tribunal Examinador de Tesis

Med.Vet. (Dr.) Andrés Tríbulo

Med.Vet. (Dr.) Pablo Marini

Med.Vet. (MSc., Ph.D.) María Belén Rabaglino

Presentación Formal Académica

Córdoba, 13 de Agosto de 2018

Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi eterna gratitud a los Drs. Jorge Carcedo y Humberto Tríbulo por todo su apoyo y confianza durante la elaboración de la tesis de maestría.

Agradecer especialmente al Instituto de Reproducción Animal de Córdoba (IRAC) por el otorgamiento de la media beca ya que sin ese apoyo no hubiese sido posible realizar mis estudios.

Quiero también expresar un eterno gracias a los Drs. Humberto, Gabriel y Ricardo, miembros del directorio del IRAC quienes me abrieron las puertas de esa prestigiosa institución e inspiraron a seguir estudiando, son grandes personas dignas de mi profundo cariño, respeto y admiración.

Agradecer infinitamente a Fabián y Rafael, verdaderos amigos y colegas quienes me acompañaron y brindaron todo su apoyo en la elaboración del experimento, son dos grandes seres humanos a los que quiero y admiro.

Agradezco al Ing. Juan Pedro Rosero por el apoyo con el establecimiento y con los animales para el desarrollo del experimento.

Quiero agradecer de manera especial a José María Oviedo, amigo sincero quien estuvo presto siempre para brindarme ayuda.

Agradezco a toda mi familia, mis padres, hermanos, esposa e hijos por todo el apoyo moral.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, Emperatriz y Bruno por ser ejemplo de integridad, humildad y perseverancia, a mis queridos hermanos, Ezequiel, Luis, Jorge, Antonio, Fernando y hermanas, Cleotilde, Carmen, Martha, Olga y por supuesto a mi esposa Karla y a nuestros hijos, Alejandro, Joel y Adriel

RESUMEN

El objetivo de la presente tesis fue evaluar los factores asociados a la tasa de preñez en vacas *Bos indicus* lactantes con cría al pie en el trópico ecuatoriano sometidas a un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) basado en progesterona (P_4) y estradiol (E_2). Un total de 164 vacas Nelore con cría al pie de un solo establecimiento ganadero fueron utilizadas para evaluar la relación entre el diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF, la expresión de celo antes de la IATF, la condición corporal (CC) al inicio del protocolo, la paridad y el toro utilizado en la IATF y la tasa de preñez. Todas las vacas (n= 39 primíparas; 122 multíparas) recibieron un dispositivo intravaginal con P_4 (DIB 0,5 g, Syntex SA, Argentina) y una inyección de benzoato de estradiol (EB, Gonadiol, Syntex SA, Argentina) el día 0 y la CC fue anotada el mismo día y clasificada para efectos de análisis en baja (CC: hasta 2,5), moderada (CC: 3,0) y alta (CC: 3,5) utilizando una escala de 1 a 5. El día 8 se retiró el dispositivo intravaginal y recibieron 300 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG, Folligón, MSD Animal Health), 500 μ g de Cloprostenol sódico ($PGF_{2\alpha}$, Estrumate, MSD Animal Health), 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP, Cipyosin, Syntex SA, Argentina) y se colocó parche (estrotec) o pintura (celocheck) detectores de monta en la base de la cola y todas las vacas fueron IATF entre las 52 a 56 h después del retiro del dispositivo utilizando sémenes de dos toros. El día de la inseminación las vacas fueron sometidas a ultrasonografía transrectal para determinar el diámetro del folículo preovulatorio, los folículos fueron clasificados en 4 categorías (< 7,5 mm; 7,5 a 11mm; 11,1 a 14,4 mm y >14,4 mm). La expresión de celo fue determinada por el grado de despintado del parche o pintura colocada en la base de la cola. Los días 7,14 y 21 después de la IATF se midió el diámetro del cuerpo lúteo (CL) para verificar su mantenimiento o regresión. A los 35 días después de la IATF se hizo diagnóstico de gestación. La tasa de preñez fue influenciada ($P < 0,0001$) por el diámetro del folículo preovulatorio (Cat 1= 15,4%; Cat 2= 51,6%; Cat 3= 72,0%; Cat 4= 67,0%), la expresión de celo (en celo= 62,3%; sin celo= 9,0%), la condición corporal y el toro utilizado en la IATF.

Palabras claves: Folículo preovulatorio, Expresión de celo, IATF, Cuerpo Lúteo, regresión

ABSTRACT

The objective of this thesis was to evaluate the factors associated with the pregnancy rate in cows (*Bos indicus*) lactating with breeding at the foot in the ecuadorian tropics subjected to a fixed time artificial insemination protocol [IATF] based on progesterone [P₄] and estradiol [E₂]. A total of 164 Nelore cows with calves at the foot of a single establishment were used to evaluate the relationship between the diameter of the preovulatory follicle on the day of the IATF, the expression of estrus before at the IATF, the body condition score [BCS] at the beginning of the protocol, the parity and the bull used in the IATF and the pregnancy rate. All cows [n = 39 primiparous; 122 multiparous patients] received an intravaginal device with P₄ (DIB 0,5 g, Syntex SA, Argentina) and an injection of estradiol benzoate (BE, Gonadiol, Syntex SA, Argentina) on day 0 and the BCS was annotated the same day and classified for analysis effects in low [BCS up to 2,5], moderate [BCS: 3,0] and high [BCS: 3,5] using a scale of 1 to 5. On day 8 the intravaginal device was removed and received 300 UI of equine chorionic gonadotropin [eCG, Folligón, MSD Animal Health,], 500ug of cloprostenol sodium (PGF₂ α , Estrumate, MSD Animal Health); 0.5 mg of cypionate estradiol (ECP, Cipyosin, Syntex SA, Argentina) and patch [estrotec] or paint [celocheck] mount detectors was placed at the base of the tail and all cows were IATF between 52 to 56 h after the device was removed using seeds from two bulls. On the day of the insemination the cows were submitted to transrectal ultrasound to determine the preovulatory follicle diameter, the follicles were classified into 4 categories [<7,5mm; 7,5 to 11mm; 11,1 to 14,4 mm and >14,4 mm]. The expression of zeal was determined by the degree of unpainted of the patch or paint placed at the base of the tail. On days 7, 14 and 21 after the IATF, the corpus luteum diameter [CL] was measured to verify its maintenance or regression. At 35 days after the IATF gestational diagnosis was made. The pregnancy rate was influenced [P <0.0001] by the diameter of the preovulatory follicle [Cat 1 = 15,4%; Cat 2 = 51,6%; Cat 3 = 72,0%; Cat 4 = 67,0%], the zeal expression [in zeal= 62.3%; without zeal = 9.0%] the corporal condition and the bull used in the IATF.

Keywords: Pre-ovulatory follicle, Expression of zeal, IATF, Corpus Luteum, regression.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo 1 INTRODUCCIÓN	1
Protocolos De Inseminación Artificial A Tiempo Fijo	2
Sincronización de la ovulación con progesterona y estradiol.....	3
Efecto de la maduración del folículo preovulatorio sobre el establecimiento de la preñez en el bovino.	5
Determinantes foliculares y ovocitarios para el establecimiento de la preñez en vacas	6
Papel del estradiol preovulatorio y de la progesterona pos-ovulatoria en el establecimiento de la preñez.....	7
Factores que afectan la tasa de preñez en protocolos de IATF	10
Diámetro folicular	10
Expresión de estro	12
Condición corporal y nutrición.....	12
Raza y Número de partos	13
Calidad seminal	13
Diferencias en la fisiología reproductiva de hembras <i>bos taurus</i> y <i>bos indicus</i>	14
Comportamiento estral.....	15
Desarrollo Folicular	16
HIPÓTESIS GENERAL	19
OBJETIVO GENERAL	19
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
Capítulo 2 MATERIALES Y MÉTODOS	20
Lugar del experimento	20
Animales y Manejo	21
Tratamiento reproductivo	21
Ultrasonografía	22
Evaluación de la expresión de estro	23
Inseminación Artificial a Tiempo Fijo	23
Semen utilizado	23
Diagnóstico de gestación.....	23

Modelo estadístico planteado.....	23
Capítulo 3 RESULTADOS	25
Efecto del diámetro folicular sobre la tasa de preñez	25
Efecto de la expresión de celo sobre la tasa de preñez.....	26
Relación entre el diámetro folicular y expresión de celo	26
Efecto de la condición corporal de las vacas al inicio del protocolo sobre la tasa de preñez.	27
Tasa de preñez en función del número de partos.	28
Tasa de preñez en función del tipo de toro utilizado en la IATF.	29
Diámetro de Cuerpo Lúteo.....	30
Tasa de preñez total.....	31
Capítulo 4 DISCUSIÓN	32
Capítulo 5 CONCLUSIONES	43
Capítulo 6 BIBLIOGRAFÍA	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Parámetros meteorológicos de ganadería El Encanto.....	20
Tabla 3.1. Relación entre la categoría de diámetro folicular a la IATF y la tasa de preñez.	25
Tabla 3.2. Relación entre la expresión de celo y la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes con cría al pie.	26
Tabla 3.3 Relación entre la expresión de estro y la categoría de diámetro folicular a la IATF.	27
Tabla 3.4. Relación entre la tasa de preñez y la Condición Corporal de las vacas al inicio del protocolo de IATF.	27
Tabla 3.5. Relación entre la Tasa de Preñez y el Número de partos.	28
Tabla 3.6. Relación entre la Tasa de Preñez y la raza de Toro utilizado en la IATF.	29
Tabla 3.7. Relación entre la Tasa de Preñez y Calidad de Cuerpo Lúteo.....	31
Tabla 3.8. Relación entre la Tasa de Preñez y Calidad de Cuerpo Lúteo al día.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Tratamiento convencional:	22
Figura 3.1 Tasa de preñez según la condición corporal de vacas Nelore lactantes	28
Figura 3.2. Tasa de preñez en función del diámetro folicular según la raza de toro utilizado.	30

LISTA DE ABREVIATURAS

ARNm.....	Ácido Ribonucleico mensajero
BE.....	Benzoato de estradiol
CC.....	Condición Corporal
cm.....	Centímetros
CL.....	Cuerpo Lúteo
d.....	Día
DIV.....	Dispositivo intravaginal
DIB.....	Dispositivo intravaginal bovino
DL.....	Desarrollo Luteál
E ₂	Estradiol
E-17 β.....	Estradiol 17 Beta
ECP.....	Cipionato de estradiol
eCG.....	Gonadotrofina coriónica equina
FD.....	Folículo Dominante
FSH.....	Hormona folículo estimulante
g.....	Gramos
GnRH.....	Hormona liberadora de gonadotrofinas
h.....	Horas
IA.....	Inseminación Artificial
IATF.....	Inseminación Artificial a Tiempo Fijo
IFN τ.....	Interferón tau
IGF.....	Factor de crecimiento similar a insulina
IGFBPs.....	Proteínas fijadoras de factores de crecimiento
i.m.....	Intramuscular
Kg.....	Kilogramos
LH.....	Hormona Luteinizante
mg.....	Miligramos
MHz.....	Mega Hertz
mm.....	Milímetros
ml.....	Mililitros

P ₄	Progesterona
PGF ₂ α	Prostaglandina
PIV.....	Producción in vitro
μ m.....	Milimicra
TE.....	Transferencia de embriones
UI.....	Unidades Internacionales
US.....	Ultrasonografía

INTRODUCCIÓN

La eficiente multiplicación de animales superiores por biotecnologías asociadas a la reproducción puede proporcionar mayor retorno económico para las ganaderías tanto de carne como de leche.

La biotecnología no es otra cosa que la aplicación de principios científicos biológicos con fines industriales, la que al ser utilizada en reproducción se convierte en una importante herramienta que permite mejorar la eficiencia reproductiva de los animales, con el propósito de cumplir con los cometidos del uso adecuado y racional de los recursos (Palma, 2001).

A lo largo de los años se ha estudiado en profundidad el ciclo estral bovino y la descripción de sus mecanismos fisiológicos (revisado por Forde et al., 2011a), así como la comprensión de la dinámica folicular ovárica (Adams et al., 2008), han permitido su manipulación práctica con fines productivos en los bovinos.

El conocimiento de la fisiología del ciclo estral y su manipulación, permitió el desarrollo de varias técnicas de reproducción asistida (Machaty et al., 2012), siendo las más destacadas la inseminación artificial (IA), superovulación y transferencia de embriones (TE) y la producción de embriones *in vitro* (PIV). Todas estas técnicas de reproducción, al ser utilizadas en las ganaderías con pobre valor genético, permiten mejorar su eficiencia, generando progreso genético y mayor rentabilidad. En Ecuador se ha generado un avance importante en la utilización de éstas técnicas de reproducción asistida, específicamente la IA, en la especie bovina en particular. Aunque la IA es una de las técnicas básicas de reproducción asistida, está ganando popularidad y su utilización se masificó desde la implementación de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF; Bó et al., 2001; Baruselli et al., 2001), la misma no requiere la detección de celo, reduce las horas de trabajo y minimiza errores en la eficiencia de la técnica. Además los protocolos de IATF constituyen

una de las alternativas más útiles para aumentar la cantidad de vacas inseminadas en un periodo corto de tiempo, ya que son tratamientos que sincronizan la ovulación.

En la actualidad existen muchos trabajos de investigación que pueden ayudarnos a seleccionar el protocolo de IATF más adecuado según la realidad en que nos toque trabajar, pero en ocasiones sucede que aunque seleccionemos el protocolo “ideal” los resultados no son los deseados. Por ello es necesario conocer también que existen diversos factores que pueden influenciar la respuesta de estos protocolos de sincronización (Meneghetti et al., 2009; Sa Filho et al., 2009; Sa Filho et al., 2010b; Sa Filho et al., 2011b). Existen reportes de que el tamaño del folículo preovulatorio influencia la tasa de preñez por IA (P/IA) en vaquillonas de carne (Perry et al., 2007) y en vacas de carne lactantes (Perry et al., 2005; Meneghetti et al., 2009), también existen evidencias que indican una asociación entre la presencia de celo previo y la fertilidad en un protocolo de IATF en vaquillonas (Lopez del Cerro et al., 2011), vacas de carne con cría al pie (Sa Filho et al., 2010) y vacas lecheras (Galvão et al., 2004; Tschopp y Bó, 2015). Otros factores tales como: localización, raza, paridad y condición corporal, podrían influenciar la P/IA en vacas de carne lactantes sometidas a IATF con protocolos a base de P₄ y E₂ (Bó et al., 2007; Sá Filho et al., 2010).

Por lo tanto, determinar si el diámetro del folículo preovulatorio al momento de la IATF y la expresión de estro, tienen efecto sobre la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes con cría al pie en el trópico ecuatoriano es importante, ya que basados en éstos datos se podrían delinear futuras estrategias de IATF, que permitan incrementar la eficiencia de los protocolos a utilizar, así como también orientarnos en la toma de decisiones, específicamente en el uso de semen, destinando semen de mejor calidad (genéticamente superior/sexado) a los animales que tengan mejor expresión de estro y folículos más grandes, eventualmente asociado a mayor probabilidad de preñez y semen de menor calidad (genéticamente inferior/no sexado) en aquellas vacas que no expresen estro y con folículos más pequeños.

Protocolos De Inseminación Artificial A Tiempo Fijo

En la actualidad existen varios tratamientos de IATF disponibles para ser utilizados en rodeos de carne y leche (Bó et al., 2013). Los protocolos de IATF utilizados en la

actualidad se agrupan según el tipo de hormona utilizada. Así tenemos a los llamados protocolos “Ovsynch” (Thatcher et al., 1989; Pursley et al., 1995; Twagiramungu et al., 1995) y “Co-Synch” (Geary y Whitter, 2001) que utilizan hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) junto con prostaglandinas ($\text{PGF}_{2\alpha}$). El protocolo “Ovsynch” ha resultado en una fertilidad aceptable en vacas de leche (Pursley et al., 1997), ya que las tasas de preñez son similares a las que se obtienen en vacas que son sincronizadas con $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Burke et al., 1996; Pursley et al., 1997) sin embargo los resultados de su aplicación en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles no han sido satisfactorios debido a los bajos porcentajes de concepción que se obtienen en vacas en anestro (Baruselli et al., 2001).

Por otro lado están los que utilizan dispositivos intravaginales con progesterona (P_4) junto con estradiol 17β ($\text{E}_{17\beta}$; Bó et al., 1994, 1995a, 1995b) o benzoato de estradiol (BE; Caccia y Bó, 1998; Moreno et al., 2001; Bó et al., 2002) para controlar el desarrollo folicular y la ovulación. En los últimos años, este tratamiento se vio simplificado con la aplicación de cipionato de estradiol (ECP) como inductor de ovulación (Colazo et al., 2003), logrando alcanzar aceptables tasas de preñez en vacas de carne (Colazo et al., 2003; Uslenghi et al., 2014; Torres-Júnior et al., 2014). En general, las tasas de preñez se encuentran alrededor del 50% en rodeos de carne (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2003; 2013; Cutiaia et al., 2003) tanto con protocolos de IATF en base de GnRH como con protocolos en base a progesterona y estradiol.

Sincronización de la ovulación con progesterona y estradiol

Los protocolos de sincronización de la ovulación más utilizados comercialmente en Sudamérica son en base a E_2 y P_4 (Bó et al., 2003, 2007; Baruselli et al., 2004; Sá Filho et al., 2009).

Esta combinación ha favorecido la tasa de preñez debido a que todas las vacas son inseminadas con aceptables tasas de preñez en vacas en anestro posparto y eliminando la infertilidad producida por ciclos cortos (Bó et al., 2013). El protocolo de IATF más utilizado en Sudamérica consiste en administrar 2 mg de benzoato de estradiol (EB) por vía intramuscular (i.m) junto con la inserción del dispositivo intravaginal (DIV), en lo que

nosotros denominamos Día (d) 0 del tratamiento para sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 4 días más tarde. En el d 7 u 8 se retira el DIV y se aplica PGF₂ α i.m. para asegurar la luteólisis, junto con la administración de 300 – 400 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG) en éste momento tendremos un FD desarrollado capaz de ovular después de la administración de 1 mg de EB 24 h más tarde (Bó et al., 2002) o 0.5 mg de cipionato de estradiol (ECP) el mismo momento de la remoción del dispositivo (Colazo et al., 2003), finalmente se realiza IATF cuyo momento óptimo en estos tratamientos varía entre 48 y 60 horas (h) después del retiro del DIV y dependerá de la categoría del animal y de la concentración de P₄ que contengan los dispositivos utilizados.

El fundamento de la aplicación de E₂ junto con la inserción del DIV en el inicio del tratamiento es inhibir la liberación de gonadotrofinas FSH y LH, provocando la atresia de los folículos pequeños y también alteración de la actividad estrogénica del folículo dominante y su consecuente atresia (Bó et al., 1994; 1995; 2000; Burke et al., 2003). La atresia folicular es seguida de un aumento de FSH iniciando una nueva onda folicular, impidiendo de esta manera la formación de folículos persistentes que interfieren negativamente en la fertilidad (Bó et al., 2002; 2002a). Al contrario, en situaciones de baja P₄ y en ausencia de un tratamiento que produzca la atresia folicular, el folículo preovulatorio y el ovocito están expuestos durante un período prolongado a una alta frecuencia de pulsos de LH, llevando a la ovulación de un ovocito sobre-estimulado o prematuramente activado con disminución de la fertilidad pos-inseminación (Wiltbank et al., 2006). Cuando se utiliza EB, la atresia es seguida por el comienzo de una nueva onda folicular a los 4 días, asegurando de esta manera la presencia de un folículo nuevo y un ovocito viable en el momento de retirar el dispositivo, 7 u 8 días después (Bó et al., 2009). Se ha reportado que la combinación de E₂ y P₄ tiene un efecto sinérgico sobre la inhibición de la secreción de LH, y cuando se utilizan los dos esteroides en forma conjunta se logra un mejor control sobre la secreción de gonadotrofinas y por tanto una manipulación más precisa de la dinámica folicular (Bó et al., 1994). El objetivo de la aplicación de ECP al retiro del dispositivo liberador de P₄ es sincronizar la ovulación y obtener buenos índices de preñez a la IATF.

En vacas Nelore (*Bos indicus*) a los 2,5 días de la emergencia de la nueva onda folicular comienza la desviación folicular, donde un folículo de aproximadamente 6,0 mm

(Sartorelli et al., 2005) de diámetro adquiere receptores de LH en la capa de la granulosa para continuar creciendo, mientras que los restantes folículos que emergieron de la misma onda tienden a la atresia (Ginther, 2000). Esto es debido a que el FD cambia su dependencia, de FSH pasa a ser LH dependiente, y así solo el FD es capaz de continuar su crecimiento en un ambiente con baja FSH (Ginther, 2000). El FD alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás siendo el responsable de la secreción de estradiol y adquiriendo capacidad de continuar su desarrollo en un medio hormonal adverso para el resto de los folículos. El FD finalmente puede seguir dos caminos, la regresión o la ovulación dependiendo de las condiciones endocrinas durante su dominancia (Diskin et al., 2002). En presencia de P₄ se atresiará, mientras que si está presente al inicio de la luteólisis se convertirá en folículo ovulatorio. Al final de la fase luteal cuando bajan los niveles circulantes de P₄ existe un incremento de la frecuencia de pulsos de LH y estradiol que serían los responsables del crecimiento final del FD, el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Nett et al., 2002).

Efecto de la maduración del folículo preovulatorio sobre el establecimiento de la preñez en el bovino.

La sincronización de estro y ovulación y IA son técnicas poderosas para el mejoramiento genético y manejo reproductivo en bovinos de carne (Seidel, 1995). Sin embargo, el tiempo y trabajo asociados a la detección de estro, han limitado la adopción de la técnica en gran escala en rodeos de carne. Por ésta razón esfuerzos significativos han sido direccionados para desarrollar protocolos de IATF, que permiten que vacas y vaquillonas sean inseminadas en un tiempo predeterminado y alcancen tasas de preñez semejantes a las obtenidas después de la detección de estro e IA. A pesar de ello es necesario tener mayor comprensión de los mecanismos ovárico, uterino y embrionario que controlan el establecimiento y mantenimiento de la preñez (Bridges et al., 2013; Geary et al 2013), con el objetivo de desarrollar estrategias para aumentar la tasa de preñez.

Para lograr altas tasas de preñez con IATF, es necesario tener una comprensión profunda del desarrollo y maduración folicular. En el ganado vacuno el crecimiento folicular se produce en patrones de ondas continuas a lo largo del ciclo estral (Fortune, 1994), varios cambios ocurren durante el crecimiento y desarrollo de un folículo y éstos incluyen:

proliferación y diferenciación de células foliculares, formación del antro, crecimiento de ovocitos y maduración de ovocitos (nuclear y citoplásmico). Todos esos cambios preparan al folículo para la ovulación y al ovocito para la fertilización (Gosden et al., 1997).

Determinantes foliculares y ovocitarios para el establecimiento de la preñez en vacas

En ganado *Bos taurus* y *Bos indicus* los folículos antrales, adquieren capacidad ovulatoria en respuesta a un pico preovulatorio de gonadotropina endógena o exógena a 7 o 10 mm de diámetro respectivamente, la cual está asociada con el tiempo de divergencia folicular entre el FD recién seleccionado y los folículos subordinados (Sartori et al., 2001; Gimenes et al., 2008). Este tiempo corresponde a la adquisición de receptores de LH en las células de la granulosa por el folículo seleccionado (Lucy, 2007). Sin embargo fue necesaria una dosis mayor de LH para inducir la ovulación en un folículo de 10 mm versus folículos de mayores dimensiones (Sartori et al., 2001), lo que sugiere una diferencia en la madurez fisiológica de folículos dominantes pequeños respecto a folículos dominantes grandes.

Cuando la ovulación es inducida, el tamaño o la madurez fisiológica del folículo preovulatorio, influyen la tasa de preñez y la sobrevivencia embrionaria tardía en bovinos de carne y leche (Vasconcelos et al., 2001; Perry et al., 2007; Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009). La disminución de la tasa de preñez y sobrevivencia embrionaria/fetal tardía (días 28 a 70 pos IATF) después de la ovulación inducida por GnRH de folículos fisiológicamente inmaduros, es probablemente debido a una combinación de competencia ovocitaria reducida y/o preparación inadecuada del ambiente materno para el establecimiento de la preñez. La competencia ovocitaria es definida como la capacidad del ovocito de retomar la meiosis, clivar después de la fertilización, desarrollar hasta el estadio de blastocisto y llevar a término una preñez (Sirard et al., 2006). La competencia de desarrollo es adquirida en los ovocitos durante el crecimiento folicular a medida que el ovocito progresa a través de la maduración meiótica, citoplasmática y molecular. Durante el periodo de crecimiento ovocitario, el ovocito bovino aumenta su tamaño de un diámetro intrazonal menor a 30 μm en los folículos primordiales a más de 120 μm en los folículos terciarios (Hyttel et al., 1997). La adquisición de la competencia ovocitaria se divide en tres

eventos importantes: 1) Adquisición de capacidad de pasar por maduración meiótica, 2) Adquisición de maduración citoplasmática y 3) Maduración nuclear (almacenamiento de transcriptos de ARNm y proteínas).

La ovulación inducida de folículos preovulatorios pequeños en vacas y que además no manifestaron celo, puede impactar negativamente en la adquisición de la competencia ovocitaria. Mientras que la competencia meiótica se completa prácticamente en el momento en que el folículo bovino alcanza 3 mm, una maduración citoplasmática y/o molecular inadecuada podría comprometer la competencia ovocitaria en folículos preovulatorios pequeños, en ovulación inducida por GnRH. Un transcriptoma inadecuado se ha observado en ovocitos de folículos preovulatorios pequeños que son inducidos a ovular prematuramente. El análisis del transcriptoma de ovocitos bovinos provenientes de folículos dominantes de vacas de carne posparto que difieren en tamaño (menor que 11,7 mm vs mayor que 15,5 mm) o estatus fisiológico (con expresión de estró vs sin expresión de estró), reveló una lista de transcriptos diferencialmente abundantes que podrían regular vías asociadas con la adquisición de la competencia ovocitaria (Dickinson, 2016).

Papel del estradiol preovulatorio y de la progesterona pos-ovulatoria en el establecimiento de la preñez

Protocolos para la sincronización de la ovulación en vacas de carne y leche han sido desarrollados y son ampliamente utilizados por la industria (Binelli et al., 2014; Bó y Baruselli, 2014; Colazo y Mapletoft, 2014). El próximo desafío en el desarrollo de protocolos es aumentar la tasa de preñez después de la IATF, para ello es necesario tener una mayor comprensión de los mecanismos endocrinos y fisiológicos que controlan la adquisición de competencia ovocitaria, ovulación, fertilización, transporte de gametas, desarrollo embrionario temprano, reconocimiento materno de la preñez y placentación. Binelli et al., (2014) identificaron tres principios biológicos de los protocolos de IATF que gobiernan el éxito de preñez: 1) Regulación de las concentraciones de P₄ circulante para aumentar la competencia ovocitaria y eficacia de luteólisis inducida por la PGF antes de la IATF, 2) Priming de E₂ adecuado durante el proestro y 3) Priming de P₄ adecuada durante el inicio de la fase luteínica.

El proestro comprende el periodo entre la luteólisis y el inicio del estro y es caracterizado por el aumento de la secreción pulsátil de LH, aumento de las concentraciones circulantes de E₂, alteraciones estrogénicas en el tracto reproductor (cuello de útero, útero y oviducto), crecimiento folicular preovulatorio y maduración. Las tasas de preñez después de la IATF fueron positivamente asociadas con la duración del proestro en vacas de carne (Mussard et al., 2007; Geary et al., 2013) y de leche (Santos et al., 2010). Los protocolos de sincronización de la ovulación que aumentan la duración del proestro influyen en el ambiente esteroideogénico folicular y uterino, aumentando las concentraciones séricas de E₂ durante el estro y de P₄ durante la fase luteínica subsiguiente. Concentraciones séricas de E₂ elevadas en la IATF fueron asociadas con mayor tasa de preñez (Jinks et al., 2013), esto puede ser debido a un efecto directo del E₂ en el complejo cúmulus-ovocito, oviducto y ambiente uterino y/o un efecto indirecto a través de la regulación del pH uterino (Perry y Perry, 2008a, b) alterando el transporte y longevidad del esperma (revisado por Dickinson, 2016), induciendo secreciones en el oviducto (por ejemplo glicoproteína oviductual, revisado por Buhi, 2002). El ovocito bovino y las células del cúmulus circundantes contienen ARNm de receptores de E₂ (Beker-van Woudenberg et al., 2004)) y los ovocitos provenientes de folículos preovulatorios con concentraciones intrafoliculares de E₂ elevadas, eran más propensos a desarrollarse en blastocistos (Mermillod et al., 1999), sin embargo la adición de E₂ en el medio de maduración in vitro no produjo ningún efecto sobre la maduración nuclear de los ovocitos (Beker-van Woudenberg et al., 2004; 2006). Curiosamente el tratamiento de vacas de carne con ECP durante el periodo preovulatorio aumentó las tasas de preñez en vacas después de la ovulación inducida por GnRH de folículos ovulatorios pequeños, pero no de folículos grandes (Jinks et al., 2013). Madsen et al., (2015) demostró la necesidad del estradiol preovulatorio en la sobrevivencia del embrión y en la fijación de la placenta en vacas de carne, usando un modelo de vaca ovariectomizada. Este trabajo permitió demostrar la importancia del E₂ preovulatorio durante los primeros 29 días de gestación debido a un efecto directo sobre el medio uterino. El periodo crítico de pérdidas embrionarias en vacas, debido al déficit de E₂ fue alrededor de los días 22 a 24, durante la implantación. En definitiva, niveles adecuados de E₂ durante el periodo preovultario, son necesarios para lograr competencia ovocitaria, mejorar el transporte espermático y la calidad embrionaria (Larimore et al., 2015).

La P₄ juega un rol muy importante en el establecimiento y mantenimiento de la preñez en bovinos, así como también en la regulación endometrial de secreciones esenciales para la estimulación y cambios del *conceptus* (Loneragan y Forde, 2014). El pico preovulatorio de gonadotropina induce luteinización y transformación del folículo preovulatorio en un CL, el cual sirve como la principal fuente de P₄. El desarrollo luteínico es una continuación de la maduración folicular, consecuentemente un microambiente folicular inadecuado (por ejemplo estimulación gonadotrófica disminuida y/o producción de estradiol insuficiente) puede perjudicar la función luteínica subsecuente (Garverick y Smith, 1986). El crecimiento y desarrollo del *conceptus* necesita de la acción de la P₄ sobre el útero, para regular la función endometrial, interacciones *conceptus*-madre (Garrett et al., 1988), reconocimiento de la preñez y receptividad uterina en la implantación (Spencer et al 2007). La P₄ autorregula sus propios receptores uterinos, al aumentar sus niveles plasmáticos durante la fase luteal temprana se produce una regulación hacia abajo (*down-regulation*) sobre los receptores uterinos ESR1 y PGR, disminuyendo la concentración de los mismos, estos cambios están relacionados a la preparación del endometrio y a la composición de la secreción histotrófica o fluido uterino, para la recepción del embrión en el día 4 después de la ovulación, cuando el embrión presente el estadio de 16 células aproximadamente, hasta su posterior elongación (Forde et al., 2009) entre el día 12 a 14. El *conceptus* continúa creciendo y comienza a secretar interferón tau (IFN- τ) alrededor del día 16, el cual bloquea la secreción de PGF₂ α uterina, por bloqueo de la expresión de receptores endometriales de oxitocina (revisado por Spencer et al., 2007), evitando el mecanismo de luteólisis (Tatcher et al., 1995). Concentraciones elevadas de P₄ a partir del día 3 del ciclo incrementaron significativamente el crecimiento en longitud del embrión, con mayor producción de IFN- τ y mayor tasa de preñez (Mann y Lamming, 2000; McNeill et al., 2006). Después del reconocimiento materno-fetal se producen diferentes mecanismos que dan paso a la implantación embrionaria (Spencer et al., 2007). El aumento retardado de P₄, después de la ovulación fue asociado con menor tasa de desarrollo embrionario y producción reducida de IFN- τ , resultando en menores tasas de preñez (Atkins et al., 2013).

Factores que afectan la tasa de preñez en protocolos de IATF

Varios factores pueden influenciar el éxito reproductivo al realizar un protocolo de IATF (Perry et al., 2007; Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009). En programas basados en GnRH, las ovulaciones resultantes de la primera y segunda GnRH son importantes factores que determinan el éxito de la preñez (Galvao y Santos, 2010). Se ha reportado que el tamaño del folículo preovulatorio influencia la preñez por IA (P/IA) en vaquillonas de carne (Perry et al., 2007) y en vacas de carne lactantes (Perry et al., 2005; Meneghetti et al., 2009). Otros factores tales como: la expresión de celo, localización, raza, paridad, y condición corporal (CC) influyen la P/IA en vacas de carne lactantes IATF con un protocolo a base de P₄ y E₂ (Bó et al., 2007; Meneghetti et al., 2009).

Diámetro folicular

Los prerequisites maternos para la producción de un embrión viable incluyen: ovulación de un ovocito competente, adecuada producción de P₄ por el CL, y un adecuado ambiente uterino. Los folículos de los bovinos alcanzan la capacidad ovulatoria a un diámetro aproximadamente de 10 mm (Martínez et al. 1999; Sartori et al., 2001). Los protocolos que sincronizan la ovulación, facilitan el uso de la IATF (Pursley et al., 1997; Martínez et al., 2001). Sin embargo, las vacas inducidas a ovular folículos < 11,5 mm de diámetro, tienen menos fertilidad debido a la formación de un CL pequeño que secreta menos concentraciones séricas de P₄ en la fase luteal subsiguiente (Vasconcelos et al., 2001; Busch et al., 2008). Además también se verifica disminución de la tasa de preñez (Lamb et al., 2001; Perry et al., 2005) e incremento de la mortalidad embrionaria (Perry et al., 2005) en vacas posparto inducidas a ovular folículos < 11,3 mm de diámetro después de una dosis de GnRH para realizar IATF. Esto se asoció con menores concentraciones séricas de estradiol preovulatorio y una consecuente menor concentración sérica de P₄ después de la IA. Gimenes et al. (2008) reportaron que en ganado *Bos indicus* la respuesta ovulatoria es 33%, 80% y 90% en folículos con diámetros de 7-8.4 mm, 8.5-10 mm, y >10 mm respectivamente. Mussard et al. (2007) demostraron que la ovulación prematura de un folículo dominante con GnRH redujo el diámetro del folículo ovulatorio así como también la función luteal

subsiguiente y la fertilidad a pesar de que la máxima P/IA se observó en vacas que ovularon folículos >14.4 mm de diámetro, el umbral crítico para ovulación y preñez en vacas *Bos indicus* sometidas a protocolos de IATF fue de al menos 11.1 mm de diámetro. La presencia de folículos <7.5 mm el día de la IATF resultó en menor tasa de ovulación y de P/IA (Sá Filho et al., 2010b). Meneghetti et al., (2009), evaluaron el diámetro folicular a la IATF en vacas Nelore tratadas con dispositivos con P₄ nuevos y usados, aunque el diámetro folicular no fue diferente entre tratamientos, el diámetro del folículo a la IATF afectó positivamente la tasa de ovulación (P<0,01) y preñez (P<0,01), similares resultados reportaron otros autores (Vasconcelos et al., 2009; Sá Filho et al., 2009), esto puede ser explicado por el mejoramiento en la capacidad ovulatoria de los folículos en crecimiento. Sin embargo no hubo efecto del diámetro folicular a la IATF sobre la tasa de concepción en contraste con el estudio de Perry et al., (2005) en el cuál la tasa de concepción fue menor cuando las vacas de carne ovularon folículos pequeños. La falta de efecto pudo ser debido al empleo de destete temporario y estradiol al final del protocolo que proporcionó un mejor ambiente durante el proestro, mejorando la tasa de concepción incluso en vacas que ovularon folículos más pequeños. En el estudio de Sá Filho et al., (2009) en vacas Nelore, se evaluó el efecto del destete temporario y dosis de eCG sobre el diámetro folicular a la IATF, no hubo diferencias en el diámetro folicular entre tratamientos, pero el diámetro del folículo a la IATF afectó positivamente la tasa de ovulación (P<0,01) y la tasa de preñez (P<0,01) En el trabajo de Perry et al. (2007) en vaquillonas de carne y sincronizadas con el protocolo Co-Synch, se observó una relación curvilínea entre el diámetro del folículo dominante a la IATF y la tasa de preñez (P<0,001) y con una predicción de preñez máxima de 68 ±4,9% cuando las vaquillonas ovularon folículos de 12,8 mm de diámetro. La ovulación de folículos <10,7 mm o >15,7 mm resultó en menor probabilidad (P<0,05) de mantener la preñez. Los trabajos anteriores son coincidentes, en los efectos negativos sobre la fertilidad cuando las vacas ovulan folículos pequeños en el estro, así como baja tasa de ovulación (Meneghetti et al., 2009; Vasconcelos et al., 2009; Sá Filho et al., 2009; Gimenes et al., 2008), formación de CL más pequeño con menor capacidad de producción de P₄ (Vasconcelos et al., 2001), menor crecimiento y capacidad de producción de IFN-tau de los embriones (Mann et al., 1998) .

Expresión de estro

Existen evidencias que indican una asociación entre la presencia de celo previo y la fertilidad en un protocolo de IATF en vaquillonas (Lopez del Cerro et al., 2011), vacas de carne con cría al pie (Sa Filho et al., 2010) y vacas lecheras (Galvão et al., 2004; Tschopp y Bó, 2015). El inicio de la expresión de estro ha sido vinculado con el pico de concentraciones circulantes de estradiol (Allrich, 1994) y las concentraciones de estradiol alrededor del momento de la inseminación podrían influenciar la fertilización debido al transporte espermático alterando el ambiente uterino (Hawk, 1983). Mann y Lamming (2000) demostraron que las vacas con menos concentraciones de estradiol eran más propensas a experimentar luteólisis prematura posterior. Por tanto la ausencia de expresión de estro, el cual ha sido asociado con la concentración de estradiol durante el proestro podría influenciar la fertilidad en vacas de carne, alterando la motilidad espermática o por la frecuencia de vacas que experimentan luteólisis prematura en el siguiente ciclo estral. Las vacas en estro el día de la IATF, generalmente tienen mejor sincronización de la ovulación (Galvao et al., 2004; Perry et al., 2005, 2007; Hillegas et al., 2008), lo cual favorece la preñez. Durante el crecimiento del folículo y desarrollo del ovocito, el ARNm y proteínas son almacenadas en el ovocito (Brevini-Gandolfi y Gandolfi, 2001), la capacidad de desarrollo continua aumentando con el aumento del diámetro folicular en el ganado (Arlotto et al., 1996). La producción de estradiol durante el proestro tiene un efecto positivo sobre la fase luteal subsiguiente y sobrevivencia embrionaria (Mann y Lamming, 2000; Santos et al., 2004).

Condición corporal y nutrición

Una menor CC al inicio de un protocolo de IATF ha sido asociada con reducción de la respuesta reproductiva en vacas *Bos indicus* sincronizadas con un protocolo en base a estradiol y P₄ (Bó et al., 2007; Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009). Así minimizando la pérdida de peso corporal en la lactancia temprana y mejorando la nutrición durante los periodos pre y posparto, apuntando a alcanzar mayor CC al inicio de la temporada reproductiva, probablemente lograremos favorecer la tasa de preñez en un protocolo de IATF en vacas Nelore lactantes. Cutaia et al (2003) sugieren que los animales deben tener una CC mínima de 2,5 (escala de 1 al 5) o idealmente 3,0 para obtener buenos resultados de preñez.

Las vacas con menor CC se encuentran en balance energético negativo y probablemente son más sensibles al efecto de feedback negativo del estradiol sobre la liberación de gonadotrofinas, así las vacas con mejor CC tendrán mejores tasas de preñez, ya que experimentan un periodo de balance energético menos severo en el posparto y por tanto su desarrollo folicular y probabilidad de ovulación puede ser mayor (Wiltbank et al., 2002; Vasconcelos et al., 2009; Bó et al., 2003).

Raza y Número de partos

La raza de vacas y el número de partos no han sido asociadas con la tasa de preñez (Sá Filho et al., 2010), las vacas de carne primíparas alimentadas en base a un sistema de pastoreo tienen prolongados periodos de anestro posparto (Wiltbank, 1970) y consecuentemente podrían experimentar reducción de la preñez en programas de IATF comparadas con vacas multíparas (Sá Filho et al., 2009). Sin embargo esta respuesta no ha sido consistente en vacas Nelore (Meneghetti et al., 2009), ya que no se reportó diferencias en la fertilidad entre vacas Nelore primíparas y multíparas sometidas a un protocolo de IATF, el uso de eCG en vacas al momento del retiro del dispositivo permite un mayor desarrollo folicular final y este efecto positivo probablemente beneficia a las vacas en anestro (Baruselli et al., 2004) o primíparas (Small et al., 2009).

Calidad seminal

La calidad de semen a utilizar es uno de los factores más importantes a considerar a la hora de realizar un protocolo de IATF ya que influye en la fertilización y por tanto en la preñez (Saake et al., 1994). Los atributos más destacados de los espermatozoides para la fertilización contemplan morfología, motilidad progresiva, capacidad de motilidad hiperactiva e integridad de membranas (Amann y Hammerstedt. 1993, citado de Dalton, 2013). Inseminar con un semen de mala calidad tiraría por la borda todos los esfuerzos realizados con el manejo de las vacas, su nutrición, tratamiento, etc.

Es conveniente realizar un examen de calidad seminal previo a la IATF (Barth, 1995) de todos los toros a utilizar. Los parámetros mínimos aceptables son 25% de células móviles, a una velocidad 3 (0= sin movimiento, 5= movimiento rápido donde es difícil seguir a una célula), inmediatamente luego del descongelado y un 15% de células móviles a una velocidad 2 luego de 2 horas en incubación a 37°C. La morfología debe tener un mínimo de 70% de espermatozoides normales y con no más del 15 a 20% de defectos de cabeza y del 25% de defectos de cola y acrosoma. La concentración estándar de una dosis de semen debe ser de entre 5 a 10 millones de células viables pos descongelado. El análisis de calidad seminal debe ser completo y no tomar algunos parámetros en forma aislada ya que por ejemplo hay defectos morfológicos de cabeza que no necesariamente afectan la fertilidad.

Instalaciones y Personal, es importante tener en cuenta al momento de realizar un protocolo de IATF el tipo y estado de las instalaciones, así como el personal con el que contamos para trabajar. Los tratamientos de sincronización son muy estrictos en cuanto a los tiempos de ejecución de cada actividad. Lo recomendable es no demorar más de 2 a 3 horas durante cada tratamiento y la IATF debe ser realizada en un periodo de 4 horas, desde las 52 a 56 h después del retiro del dispositivo. Es fundamental disponer de potreros cercanos a la manga, con adecuada disponibilidad de forraje y agua durante todo el tratamiento, ya que de ésta forma se minimiza el traslado de los animales. Los arreas deben ser lo más tranquilos posibles y sin la utilización de perros, gritos o golpes, en definitiva evitar todo tipo *estrés con el manejo* de los animales, ya que existen reportes de menores tasas de preñez en animales poco dóciles o con peor temperamento (Cooke et al., 2011).

Finalmente se debe considerar que la sumatoria de los diferentes factores afectará en cierta medida los resultados y no existe solo un factor que determine el éxito o fracaso de un programa de IATF.

Diferencias en la fisiología reproductiva de hembras *bos taurus* y *bos indicus*.

Existen diferencias marcadas entre los grupos genéticos en respuesta a los tratamientos de sincronización de la ovulación (Bó et al., 2003; Baruselli et al., 2007). En

hembras taurinas (*Bos taurus*), especialmente en vacas holandesas, mayores concentraciones de P₄ durante la sincronización permiten mayores tasas de preñez después de la IATF (Wiltbank et al., 2011), mientras que en hembras cebuínas (*Bos indicus*), la elevada concentración de P₄ durante el protocolo de sincronización, promueve efectos negativos sobre el crecimiento folicular, reduciendo el diámetro del FD y consecuentemente la tasa de ovulación (Carvalho et al., 2008). Se ha reportado mayor concentración sanguínea de P₄ durante el protocolo de sincronización de la ovulación en hembras cebuínas comparadas con las taurinas (Batista 2015; Carvalho et al., 2008). Esto puede ser explicado por la mayor capacidad del CL para producir P₄ de hembras taurinas, en comparación con las hembras cebuínas (Segerson et al., 1984), o por la menor metabolización hepática por menor flujo sanguíneo en hembras cebuínas comparadas con hembras taurinas (Batista et al., 2015).

Comportamiento estral

El estro ocurre cuando caen las concentraciones séricas de P₄ y aumentan las concentraciones de E₂ (Allrich 1994). Este fenómeno es caracterizado por inmovilidad durante la monta, comportamiento homosexual, descarga de moco vaginal, mugidos frecuentes, intenso movimiento, aumento de la frecuencia de micción, entre otras. Durante un largo periodo estos signos fueron y todavía son empleados para la detección convencional de estro. Sin embargo, las características de estro son influenciadas por una serie de factores, entre los principales: la edad (De Silva et al., 1981), producción de leche (López et al., 2004), condiciones ambientales (White et al., 2002), raza (Rae et al., 1999) y factores sociales como jerarquía (Galina y Orihuela, 2007), Ingestión de materia seca, peso corporal y metabolismo de esteroides también ejercen influencia sobre el comportamiento estral (Sartori et al., 2010).

Las hembras cebuínas generalmente presentan estro de duración más corta (aproximadamente 10 horas) lo que dificulta su detección (revisado de Bo et al., 2003). Sumado a este factor, más del 50% de los animales de este grupo genético inician el celo en la noche (Pinheiro et al., 1998) y alrededor del 30% inician y terminan el celo durante la noche (Pinheiro et al., 1998), dificultando el manejo y eficacia de la detección de celo. En condiciones de manejo brasileras se evaluó el comportamiento estral en vacas de carne con ayuda de radiotelemetría (Heat-Watch), verificándose que la duración del estro en *Bos*

indicus es menor que en *Bos taurus* (12,9±2,9 horas en Nelore vs 16,3±4,8 horas en Angus; Mizuta, 2003). A pesar de eso el intervalo entre el estro y ovulación no fue diferente entre las dos razas (Nelore, 27,1±3,3 h vs. Angus, 26,1±6,3 h). Sin embargo, estudios recientes indican que vacas holandesas (*Bos taurus*) de alta producción, también presentan estro de corta duración debido al elevado metabolismo hepático de E₂ presente en este grupo genético (López et al., 2004). Existen informes de que hay una relación negativa entre la producción de leche y la duración del estro (Wiltbank et al., 2006). Estos datos indican que es necesario conocer las características del comportamiento estral y de la ovulación para implementar eficientes programas reproductivos, teniendo en consideración las diferencias entre *Bos indicus* y *Bos taurus*.

Desarrollo Folicular

Existen diferencias en la dinámica folicular entre hembras *Bos taurus* y *Bos indicus*. Una particularidad observada entre hembras cebuínas y taurinas es el número de ondas de crecimiento folicular por ciclo estral. Estudios realizados en hembras *Bos taurus*, demuestran predominancia de 2 o 3 ondas de crecimiento folicular por ciclo estral (Bastos 2012), mientras que en hembras cebuínas se han descrito mayor incidencia de 3 y hasta 4 ondas de crecimiento folicular por ciclo estral (Figueiredo et al., 1997).

Además de la diferencia en el número de ondas, existen trabajos que describen que las hembras *Bos indicus* reclutan mayor número de folículos antrales por onda, que las hembras *Bos taurus* (33,4±3,2 vs 25,4±2,5; Carvalho et al., 2008). Esta característica tiene influencia directa en la eficiencia de la técnica de superovulación y TE y OPU-PIV, lo que indica una ventaja de las hembras cebuínas sobre las taurinas (Baruselli et al., 2016; Bó et al., 2016). También se sabe que la hormona anti-mulleriana (AMH) tiene relación positiva con la población folicular en hembras *Bos taurus* y *Bos indicus*, se ha observado mayor concentración de AMH en novillas cebuínas comparadas a las taurinas (1,0 vs 0,3 ng/ml, P< 0,05; Batista et al., 2014). Asimismo se ha observado en hembras *Bos taurus* y en *Bos indicus*, una correlación positiva entre la producción *in vitro* de embriones (Batista et al., 2016). También se atribuye que mayores concentraciones de IGF-1 son responsables por el mayor número de folículos reclutados en cebuínos, que en taurinos, incluso en presencia de

bajos niveles de FSH (Bó et al., 2003; Sartori et al., 2016). Esta diferencia en las concentraciones de FSH y de IGF-I puede explicar la mayor sensibilidad al tratamiento superovulatorio en donantes *Bos indicus* (Barros y Nogueira, 2001). Asimismo, hay informes que confirman que es posible reducir considerablemente la dosis de FSH para superovular hembras Nelore (Baruselli et al., 2003), empleando dosis inferiores a las usualmente utilizadas para *Bos taurus*.

La divergencia o desvío folicular es definida por la diferencia en las tasas de crecimiento entre los dos folículos más grandes, siendo marcada por la continuidad en el desarrollo del folículo más grande y disminución o detención en el crecimiento de los otros (Ginther et al., 1996; 2001). En bovinos de raza holandesa (*Bos taurus*), el desvío comienza alrededor del día 2,8 después de la emergencia, cuando el FD alcanza 8,5 mm de diámetro y el folículo subordinado 7,2 mm (Ginther et al., 1997), y en novillas de raza Nelore (*Bos indicus*), se describe un periodo de 2,5 a 2,7 días después de la ovulación con un diámetro del FD de 5,4 a 6,2 mm y el folículo subordinado 5,4 a 5,8 mm (Gimenes et al., 2008a). En resumen, los datos indican que la divergencia folicular en *Bos indicus* ocurre con diámetros inferiores a los reportados para *Bos taurus*.

A pesar de informes sobre la adquisición de receptores de LH por el FD en el momento de la divergencia, existen estudios que demuestran que este folículo todavía no es sensible a un inductor de ovulación. Sartori et al., (2001) encontraron que la capacidad ovulatoria en vacas holandesas ocurre solamente después de que los folículos alcanzan 10 mm de diámetro, mientras que en novillas *Bos indicus* el 33% alcanzó capacidad ovulatoria con diámetros entre 7,0 a 8,4 mm, el 80% con diámetros entre 8,5 a 10 mm y el 90% con diámetros superiores a 10 mm (Gimenes et al., 2008), en base a estos datos se observa claramente que la capacidad ovulatoria en *Bos indicus* es adquirida con diámetros inferiores a los observados en *Bos taurus*.

Otra diferencia está relacionada con el diámetro del folículo ovulatorio, en hembras *Bos taurus* vería entre 12,9 a 17,1 mm (Ginther et al., 1989; Batista 2015), mientras que en hembras *Bos indicus* va de 9,4 a 12,1 mm (Figueiredo et al., 1997). A partir de estos datos

se observa que el diámetro del FD y del folículo ovulatorio en cebuínos es menor que el de taurinos.

El diámetro del CL también parece ser menor en *Bos indicus* que en *Bos taurus*. Los CL de cebuínas varían de 17 a 21 mm de diámetro (Figueiredo et al., 1997), mientras que en taurinas se informan diámetros de 20 a 30 mm (Ginther et al., 1989; Kastelic et al., 1990). De la misma manera hay estudios que indican que la concentración de P₄ producida por el CL también es inferior en cebuínas, con relación a las taurinas (Segerson et al., 1984). Según Randel (1976) las hembras cebuínas puras y cruzadas tienen menor concentración de progesterona por gramo (g) de tejido luteínico que las hembras taurinas.

Carvalho et al. (2008), expresa que durante la permanencia del dispositivo intravaginal de progesterona empleado en los protocolos de sincronización de la ovulación, las concentraciones de P₄ sérica fueron superiores y permanecen más elevadas en novillas *Bos indicus*, que en *Bos taurus*. Este fenómeno podría deberse a la diferencia de metabolismo entre estos grupos genéticos, atribuyendo menor velocidad metabólica en cebuínas, aspecto que debe ser considerado en el empleo de tratamientos con P₄ en cebuínas, ya que elevadas concentraciones de P₄, disminuyen la pulsatilidad de LH y pueden comprometer el crecimiento folicular y la ovulación.

HIPÓTESIS GENERAL

Hembras Nelore (*Bos indicus*) con mayor diámetro del folículo preovulatorio al momento de la IATF y con evidente expresión de estro, tendrán mayor tasa de preñez.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del diámetro del folículo preovulatorio al momento de la IATF y la expresión de estro entre el retiro del dispositivo y la IATF, sobre la tasa de preñez en vacas Nelore con cría al pie.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el diámetro del folículo preovulatorio medido por ultrasonografía antes de la IATF.

Evaluar la expresión del estro a través de dispositivos laminares o pintura colocada en la base de la cola.

Evaluar la relación entre el diámetro del folículo preovulatorio y la expresión de estro.

Determinar la tasa de preñez por ultrasonografía a los 35 días después de la IATF.

Evaluar el efecto de la raza del toro utilizada sobre la tasa de preñez a los 35 días después de la IATF

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del experimento

La investigación se realizó en la ganadería El Encanto ubicada en la región Costa del Ecuador, Provincia de Esmeraldas, cantón Muisne, parroquia Galera, al Noroccidente del país. La ganadería el Encanto cuenta con 802 hectáreas de las cuales 650 están destinadas a pastizales que en su mayoría son de Saboya (*Panicum máximum*). El clima es tropical húmedo con una temperatura promedio de 25°C y humedad relativa promedio 94%, la altitud varía entre los 0 y 200 msnm, con cinco meses secos que normalmente van de julio a diciembre, su precipitación anual es de 1200 a 1800 mm . El experimento se realizó en el mes de mayo del 2015.

Tabla 2.1. Parámetros meteorológicos de ganadería El Encanto

Parámetro	Valor
Clima	Trópico - Húmedo
Temperatura, °C	25°C
Humedad relativa, %	94%
Precipitación anual, mm	1200 – 1800
Altitud (msnm)	0 – 200
Longitud (UTM)	-80.0167
Latitud (UTM)	0.833333

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI).

Animales y Manejo

Se utilizaron un total de 200 vacas de raza Nelore (*Bos indicus*) lactando con cría al pie primíparas y multíparas, y para la selección de las vacas se utilizaron los siguientes criterios: pos parto temprano (40 a 60 días pos parto), condición corporal (CC) de 2 a 3,5, usando una escala de 1 a 5 (1= flaca, 5=obesa; Ayres et al., 2009), presencia de CL y/o folículos mayores a 6,0 mm (Baruselli et al., 2007).

La condición corporal (CC) fue evaluada el día de inicio del protocolo de sincronización y para efectos de análisis fue clasificada como: baja (CC: hasta 2,5), moderada (CC: 3,0) y Alta (CC: 3,5).

Las crías fueron separadas de sus madres el día anterior al inicio del protocolo y los animales fueron manejados en instalaciones adecuadas (corrales, mangas y cepos).

Todas las vacas fueron alimentadas en base a un sistema de pastoreo con pasto saboya (*Panicum maximum*), más aporte de sal mineralizada y acceso libre a agua.

Tratamiento reproductivo

Las vacas fueron sincronizadas en base a un protocolo de P₄ y E₂ (Convencional). El Día 0, todas las vacas recibieron un dispositivo intravaginal con progesterona (DIB 0,5 g®, Syntex SA, Argentina) conjuntamente con 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol®, Syntex SA, Argentina). El día 8, se retiraron los dispositivos intravaginales y todas las vacas recibieron una inyección de 500 µg de cloprostenol sódico (PGF₂α, Estrumate, MSD Animal Health), 300 UI de gonadotrofina coriónica equina (eCG, Folligón, MSD Animal Health), 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP, Cipyosin®, Syntex SA, Argentina), y se colocó el parche (Estrotec) y pintura (celocheck) detectores de monta, en la base de la cola. Todas las hormonas inyectables se administraron por vía intramuscular (i.m) profunda con agujas de 18G x 1½ y jeringas de volumen adecuado (3 ml totales). Finalmente se realizó IATF entre 52 a 56 horas después del retiro del DIV como se muestra en la Figura 2.1.

Protocolo Convencional con ECP

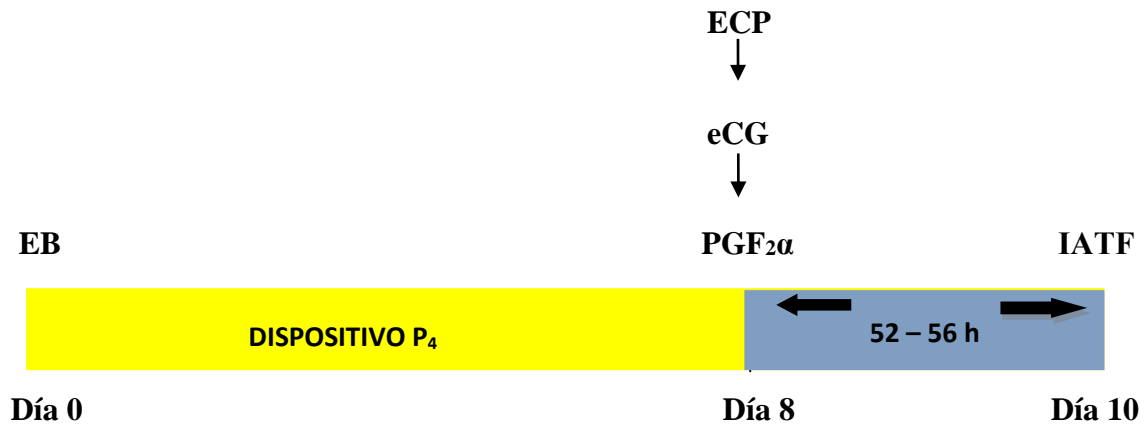


Figura 2.1 Tratamiento convencional: Día 0 dispositivo intravaginal (DIB 0,5 g, Syntex SA, Argentina más 2 mg de benzoato de estradiol (EB, Gonadiol, Syntex SA, Argentina); Día 8 retiro del DIV más 500 µg de cloprostenol sódico (PGF_{2α}, Estrumate, MSD Animal Health), 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG, Folligón, MSD Animal Health), 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP, Cipyosin®, Syntex SA, Argentina); IATF a las 52 a 56 h después de retiro del DIV.

Ultrasonografía

Los ovarios y útero fueron examinados por ultrasonografía transrectal, utilizando ecógrafos veterinarios (Tringa linear y Aquila vet, Holanda), con transductor lineal de 6.0 y 5.0 MHz respectivamente, el día de inicio del protocolo para determinar la presencia o ausencia de estructuras ováricas, el día de la IATF (n=200) para medir el diámetro del FD y los días 7, 14 y 21 después de la IATF (al 10% de vacas) para evaluar el diámetro del CL. El FD el día de la IATF fue medido y categorizado teniendo como referencia la categorización de Sá Filho et al. (2010b) en: clase 1 (<7.5 mm), clase 2 (7,5- 11,0 mm), clase 3 (11.1-14.4 mm), clase 4 (>14.4 mm). Tanto en la medición del FD como en la del CL se registró: el diámetro horizontal y el vertical (ancho y alto) y se calculó un promedio (Kastelic et al., 1990). Las estructuras ováricas fueron dibujadas en una hoja de mapeo.

Evaluación de la expresión de estro

Para evaluar la expresión de estro se colocó parche (estrotec) o pintura (celocheck) detectores de monta en la base de la cola, el día del retiro del dispositivo, como un método auxiliar para determinar si las hembras expresaron celo entre la retirada del DIB y la IATF (Cuatrín et al., 2011; Ferraz et al., 2013). Se consideró como vaca en estro a toda aquella que presentó más del 40% de pérdida de color a las 48 a 52 h después del retiro del dispositivo. Las vacas que permanecieron con el parche/pintura intacta o con menos del 40% de pérdida de color fueron consideradas sin expresión de celo.

Inseminación Artificial a Tiempo Fijo

Todas las vacas recibieron inseminación artificial a tiempo fijo el día 10, entre las 52 a 56 horas después del retiro del dispositivo de P₄.

Semen utilizado

Se utilizó semen congelado – descongelado de dos toros; uno de raza Brangus y otro Bonsmara, que cumplieran con los parámetros mínimos requeridos según Barth (1995).

Diagnóstico de gestación

A los 35 días después de la IATF se realizó ultrasonografía transrectal para diagnosticar la preñez.

Modelo estadístico planteado

Para evaluar el efecto del diámetro folicular sobre la tasa de preñez, la expresión de celo sobre la tasa de preñez, la relación entre el diámetro folicular y expresión de celo, el número de partos sobre la tasa de preñez y el tipo de toro sobre la tasa de preñez se utilizó la prueba de Chi-cuadrado, a un criterio de clasificación. Además se utilizó un modelo lineal

general y mixto, donde se evaluó la tasa de preñez en función del diámetro folicular y la raza del toro utilizado en la IATF. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando software Infostat 2.0 (Infostat, Universidad Nacional de Córdoba, 2013)

RESULTADOS

En la presente investigación, 200 vacas Nelore con cría al pie fueron tratadas para ser IATF utilizando un protocolo convencional con ECP, sin embargo, es importante aclarar que en el análisis estadístico se trabajó solo con 161 vacas, debido a que 39 vacas tuvieron ovulación anticipada, ya que el día de la IATF no hubo folículo preovulatorio.

Efecto del diámetro folicular sobre la tasa de preñez

El diámetro promedio del folículo preovulatorio el día de la IATF fue $11,1 \pm 0,71$ mm, la distribución de vacas de acuerdo al diámetro del folículo preovulatorio fue [8,0% (13/161)] < 7,5 mm; [39,7% (64/161)] entre 7,5 y 11,0 mm; [46,5% (75/161)] entre 11,1 y 14,4 mm; y [5,6% (9/161)] > 14,4 mm de diámetro; se estableció una tabla de contingencia entre la categoría de diámetro folicular y la gestación y se observó diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0001$), con claridad se observa que la tasa de preñez mejora, mientras mayor es el diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF, aunque en la categoría 4, si bien fueron pocos animales la tasa de preñez disminuye, por lo que el diámetro ideal de folículo preovulatorio donde se logró mayor tasa de preñez, fue el de la categoría 3 (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Relación entre la categoría de diámetro folicular a la IATF y la tasa de preñez.

Preñez	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	total
Si	2	33	54	6	95
No	11	31	21	3	66
% de Preñez	15,4 ^a	51,6 ^b	72,0 ^c	66,7 ^c	59,0
Total	13	64	75	9	161

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0001$)

Efecto de la expresión de celo sobre la tasa de preñez

El estro fue detectado en el 89,0% (178/200) de las vacas el día de la IATF. El 19,5% (39/200) de vacas mostraron ovulación en forma anticipada y de ese porcentaje el 46,1% (18/39) se preñaron, al establecer una tabla de contingencia entre la gestación y la expresión de celo, se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,0001$), es claro que las vacas que no expresaron celo tuvieron menor porcentaje de preñez [9,09% (2/22)], en comparación con las que si expresaron celo [62,35% (111/178)] a la IATF (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Relación entre la expresión de celo y la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes con cría al pie.

Preñez	Con estro	Sin estro	Total
Vacía	67	20	87
Preñada	111	2	113
% de Preñez	62,36 ^a	9,09 ^b	56,5
Total	178	22	200

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0001$)

Relación entre el diámetro folicular y expresión de celo

Al establecer una tabla de contingencia entre la categoría de diámetro folicular según la expresión de celo, se observó diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0001$); el diámetro del folículo dominante el día de la IATF influyó la ocurrencia de celo, en el periodo comprendido desde el retiro del dispositivo al día de la IATF. Así los porcentajes de expresión de celo fueron 23,1% (3/13), 83% (53/64), 100% (75/75), 100% (9/9), para las categorías de diámetro folicular 1, 2, 3, 4 respectivamente (Tabla 3.3).

Tabla 3.3 Relación entre la expresión de estro y la categoría de diámetro folicular a la IATF.

Celo	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	Total
Si	3	53	75	9	140
No	10	11	0	0	21
% de Celo	23,1 ^a	83,0 ^b	100 ^c	100 ^c	86,9
Total	13	64	75	9	161

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (P<0.0001)

Efecto de la condición corporal de las vacas al inicio del protocolo sobre la tasa de preñez.

Al realizar la tabla de contingencia de la gestación, en función de la condición corporal, se encontró diferencias estadísticas significativas (P < 0.0001) (Tabla 5), la categoría de CC baja presentó un porcentaje de preñez de 53,0%, mientras que con la CC moderada se logró un 73,0%, sin embargo con la categoría de CC alta se obtuvo el 50,0% de tasa de preñez (Tabla 3.4)

Tabla 3.4. Relación entre la tasa de preñez y la Condición Corporal de las vacas al inicio del protocolo de IATF.

Preñez	Baja	Moderada	Alta	total
Vacía	52	12	2	66
Preñada	60	33	2	95
% de Preñez	53,0 ^a	73,0 ^b	50,0 ^a	59,0
Total	112	45	4	161

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (P<0.0001)

Por otro lado hay que notar que existe un gran desbalance entre la cantidad de vacas pertenecientes a cada una de las categorías de la CC. Al modelar la respuesta de preñez según la CC, encontramos diferencias estadísticas significativas (P=0.0020). La mayor tasa de preñez se presentó en las vacas con CC moderada (3,0), diferenciándose del resto de CC (2.5 y 3.5), con la CC 3.5 se obtuvo menor tasa de preñez respecto a las otras CC, pero es

importante destacar que hubo reducido número de animales en esta categoría lo que podría distorsionar la respuesta. (Figura 3.1).

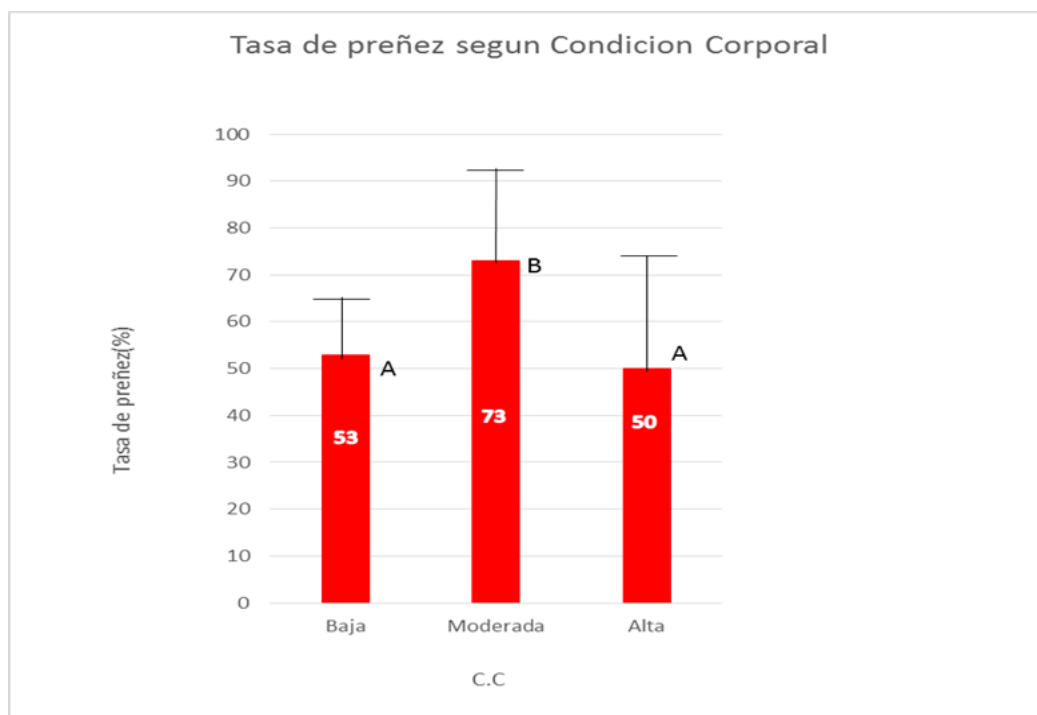


Figura 3.1 Tasa de preñez según la condicion corporal de vacas Nelore lactantes

Tasa de preñez en función del número de partos.

Al establecer la tabla de contingencia de la gestación, en función del número de partos, no se encontró diferencias estadísticas significativas ($P=0.4239$) (Tabla 6), el porcentaje de preñez en las vacas múltiparas fue de 59,0% mientras que en las primíparas fue de 58,0%, sin diferenciarse estadísticamente (Tabla 3.5)

Tabla 3.5. Relación entre la Tasa de Preñez y el Número de partos.

Preñez	Múltipara	Primípara	Total
Vacía	50	16	66
Preñada	72	23	95
Porcentaje preñez	59,0 ^a	58,0 ^a	59,0
Total	122	39	161

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas significativas ($P=0.4239$)

Tasa de preñez en función de la raza de toro utilizado en la IATF.

Al establecer la tabla de contingencia de la gestación, en función del tipo de toro utilizado en la IATF, se encontró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$), con los resultados anteriores se puede inferir que el tipo de toro utilizado en la IATF influyó en la tasa de preñez, ya que con la raza Brangus se obtuvo un porcentaje de preñez de 63,0%, mientras que con la Bonsmara se logró un porcentaje de preñez de 51,0%, con protocolos en base de P_4 y E_2 (Tabla 3.6).

Tabla 3.6. Relación entre la Tasa de Preñez y la raza de Toro utilizado en la IATF.

Preñez	Brangus	Bonsmara	Total
Vacía	40	26	66
Preñada	68	27	95
% de Preñez	63,0 ^a	51,0 ^b	9,0
Total	108	53	161

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$)

Además mediante un diagrama de dispersión de puntos se graficó de manera descriptiva la respuesta de tasa de preñez según el diámetro folicular, observándose un crecimiento cuadrático de la curva. Al modelar la respuesta de preñez en función del diámetro folicular, se determinó diferencias estadísticas significativas ($P = 0.0007$), además se identificó una respuesta dispar, según el semen utilizado para la inseminación (tipo de toro).

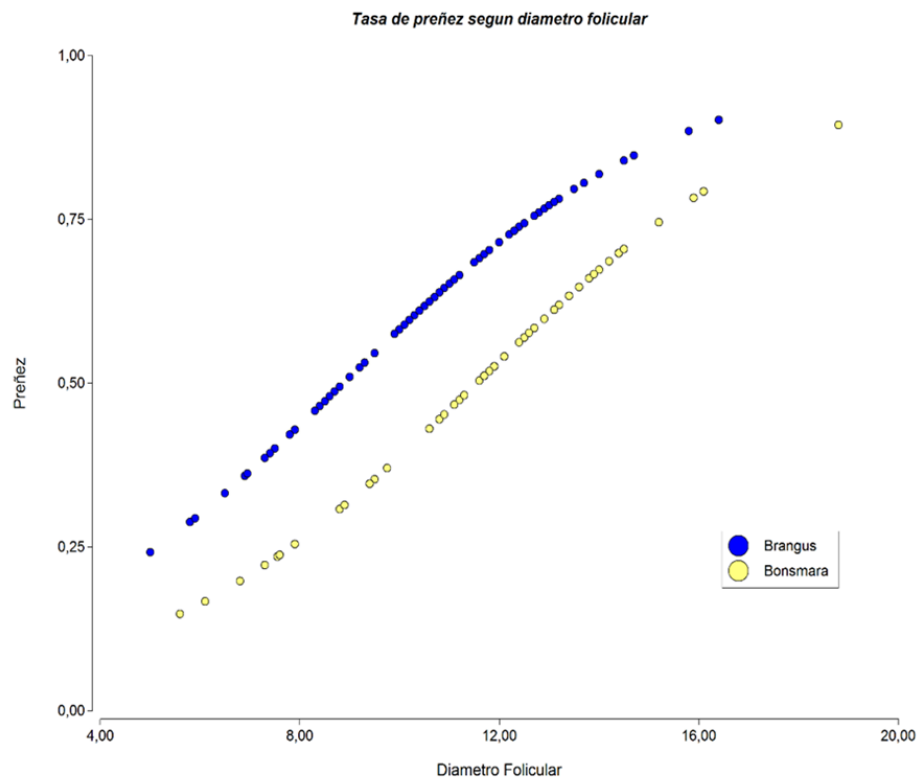


Figura 3.2. Tasa de preñez en función del diámetro folicular según la raza de toro utilizado.

Diámetro de Cuerpo Lúteo

Los CL fueron clasificados según su diámetro en calidad 1 (>18 mm), calidad 2 (16,1 a 18 mm) y calidad 3 (≤ 16 mm), se estableció una tabla de contingencia entre la gestación y calidad de CL al día 7 y al día 14 y se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P=0,00049$). La tasa de preñez según la calidad de CL al día 7 después de la IATF fue 100%; 66,6% y 0% para calidad de CL 1, 2 y 3 respectivamente (Tabla 3.7). La tasa de preñez según la calidad de CL al día 14 después de la IATF fue 100%; 66,6% y 20,0% para calidad de CL 1, 2 y 3 respectivamente (Tabla 3.8).

Tabla 3.7. Relación entre la Tasa de Preñez y Calidad de Cuerpo Lúteo al día 7 después de la IATF

Preñez	C 1	C 2	C 3	Total
Preñada	6	6	0	12
Vacía	0	3	4	7
% de Preñez	100 ^a	66,6 ^b	0,0 ^c	63,0
Total	6	9	4	19

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (P<0.0001)

Tabla 3.8. Relación entre la Tasa de Preñez y Calidad de Cuerpo Lúteo al día 14 después de la IATF.

Preñez	C 1	C 2	C 3	Total
Preñada	5	6	1	12
Vacía	0	3	4	7
% de Preñez	100 ^a	66,6 ^b	20,0 ^c	63,0
Total	5	9	5	19

Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (P<0.0001)

Tasa de preñez total.

En total se obtuvo el 56,5% (113/200) de tasa de preñez, si consideramos a todas las vacas, incluidas a las vacas que tuvieron ovulación anticipada, pero la tasa de preñez total aumenta a 59,0% (95/161) si tenemos en cuenta solo a las vacas que no tuvieron ovulación anticipada.

DISCUSIÓN

Los programas de IATF constituyen una importante herramienta biotecnológica que ha sido utilizada exitosamente en ganado *Bos taurus* y *Bos indicus*, ya que estos programas permiten aumentar la IA y mejorar la eficiencia reproductiva en los rebaños de carne y leche. Los resultados obtenidos en el experimento de la presente tesis, permitieron mejorar los conocimientos sobre los distintos factores que afectan la tasa de preñez en vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes con cría al pie en el trópico ecuatoriano. Se ha mencionado que varios factores afectan la tasa de preñez al utilizar protocolos de IATF. El diámetro del folículo preovulatorio al momento de la IATF, expresión de celo entre el retiro del dispositivo de P₄ y la IATF, CC de los animales al inicio del protocolo, el número de partos, semen utilizado, son factores que fueron evaluados en esta tesis y que consideramos importantes para obtener resultados reproductivos aceptables.

En el presente estudio el diámetro del folículo preovulatorio, la expresión de celo, la CC al inicio del protocolo y la calidad seminal afectaron la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes con cría al pie, sin embargo la paridad no influyó la tasa de preñez.

Al evaluar el diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF, encontramos que el diámetro promedio fue $11,1 \pm 0,7$ mm, similar al reportado por Sá Filho et al. (2010b) quienes reportaron un diámetro promedio de $11,1 \pm 0,3$ mm en vacas Nelore. El diámetro del folículo preovulatorio a la IATF influyó la tasa de preñez en este trabajo obteniendo mejor tasa de preñez a medida que aumentaba el diámetro del folículo preovulatorio (<7,5 mm: 15,4%; 7,5 a 11 mm: 51,6%; 11,1 a 14,4 mm: 72,0%; >14,4 mm: 66,7%), esto concuerda con lo reportado por Martins et al. (2014) donde se observó que el diámetro folicular a la IATF afectó la tasa preñez [10,8 a 15,7 mm (51,5%) vs. <10,7 mm (23,6%)] en vaquillonas Nelore. En el estudio de Sá Filho et al. (2010b), en vacas Nelore también se observaron diferencias significativas en la tasa de preñez según la categoría del diámetro del folículo preovulatorio a la IATF (<7,5 mm: 27,5%; 7,5 a 11 mm: 46,6%; 11,1 a 14,4 mm: 57,9%; >14,4 mm: 63,3%).

En otro trabajo (Yanes et al., 2016) realizado en vacas lecheras se observó que las vacas que tuvieron folículos de mayor diámetro, tuvieron 14 veces más chances de quedar preñadas que las vacas con folículos de menor diámetro.

Perry et al. (2007) reportaron que en vaquillonas de carne se alcanzó un máximo de probabilidad de preñez a un diámetro folicular de 12,8 mm y que por debajo de 10,7 mm o por encima de 15,7 mm la probabilidad de preñez era menor. En la figura 3 donde se grafica la preñez en función del diámetro folicular según el tipo de toro, observamos un crecimiento cuadrático de la curva, similar a lo reportado por Martins et al. (2014) que también observó una correlación positiva entre el diámetro del folículo a la IATF y las concentraciones de P₄ 7 días después de la IATF. Esto puede ser explicado por el hecho de que al tener folículos de mayor diámetro el momento de la IATF, mejora la tasa de ovulación y consecuentemente la tasa de preñez (Martins et al., 2014).

Por otro lado la P₄ luteal es requerida para el mantenimiento de la preñez (McDonal et al., 1952; Lonergan et al., 2016), crecimiento y desarrollo embrionario (Garret et al., 1988; Mann et al., 1996; Lonergan y Forde N. 2014). Los folículos de los bovinos alcanzan la capacidad ovulatoria a un diámetro aproximadamente de 10 mm (Martínez et al 1999; Sartori et al., 2001). Sin embargo, las vacas inducidas a ovular folículos < 11,5 mm de diámetro, tienen menos fertilidad debido a la formación de un CL pequeño que secreta menos concentraciones séricas de P₄ en la fase luteal subsiguiente, que las vacas que ovulan folículos más grandes (Vasconcelos et al., 2001; Busch et al., 2008). Esto es observado durante el desarrollo temprano del CL, mientras que después del día 8 del ciclo estral, cuando el CL alcanzó la maduración, su tamaño no influye en las concentraciones circulantes de P₄ (Mann, 2009).

Disminución de la tasa de preñez e incremento de la mortalidad embrionaria también ocurre en vacas posparto inducidas a ovular folículos < 11,3 mm de diámetro después de una dosis de GnRH para realizar IATF (Lamb et al., 2001; Perry et al., 2005; Dickinson et al., 2016). Esto se asoció con menores concentraciones séricas de estradiol preovulatorio y una consecuente menor concentración sérica de P₄ después de la IATF. No obstante, el tamaño del folículo preovulatorio, no tuvo efecto sobre las tasas de preñez y mortalidad

embrionaria/fetal en vacas posparto cuando la ovulación ocurrió espontáneamente después de la detección de estro (Perry et al., 2005). Esto puede sugerir que la madurez fisiológica más que el diámetro del folículo preovulatorio influye en el establecimiento y mantenimiento de la preñez (Atkins et al., 2013).

Otros autores sugieren que la inducción de la ovulación de folículos pequeños e incompetentes podría resultar en una reducida sobrevivencia embrionaria a causa de inadecuada secreción luteal y ciclos estrales cortos (Santos et al., 2004). En definitiva en el presente trabajo, las vacas con menor diámetro de folículo preovulatorio al momento de la IATF, tuvieron fertilidad reducida, la misma que pudo ser debida a i) inmadurez folicular, ii) a una menor producción de E₂ folicular y baja tasa ovulatoria, iii) a una consecuente menor producción de P₄ por el CL del ciclo siguiente (Perry et al., 2005; Mussard et al., 2007; Mann 2009).

Atkins et al. (2013) realizaron un trabajo sobre transferencia de embriones, en el cual transfirieron embriones colectados de vacas que ovularon un folículo pequeño (<12,5 mm) a vacas receptoras que ovularon folículos grandes (>12,5 mm) y pequeños (<12,5 mm) y embriones colectados de vacas que ovularon folículos grandes a receptoras que ovularon folículos grandes y pequeños, se observó que el ambiente folicular de la donante afecta la tasa de fertilización y la sobrevivencia embrionaria hasta antes del día 7, pero el mantenimiento de la preñez posterior al día 7 fue dependiente del tamaño del folículo preovulatorio, producción de E₂ y subsecuente producción de P₄ por la receptora, entonces, sin duda alguna es clave el rol de competencia ovocitaria en la fertilización y sobrevivencia embrionaria temprana hasta el día 7 después de la TE o IATF, así como también el ambiente materno (influenciado por el estradiol y progesterona) que influye en el mantenimiento de la preñez después del día 7.

Respecto a la expresión de celo, que fue evaluada por el grado de despintado del parche o pintura en la base de la cola, el 89,0% (178/200) de las vacas presentaron celo en el periodo entre el retiro del dispositivo de P₄ y la IATF esto coincide con el estudio de De la Mata et al. (2015). Existen evidencias que indican una asociación entre la presencia de celo previo y la fertilidad en un protocolo de IATF en vaquillonas (Lopez del Cerro et al.,

2011), vacas de carne con cría al pie (Sa Filho et al., 2010) y vacas lecheras (Galvão et al., 2004; Pereira et al., 2014; Tschopp y Bó, 2015).

En los resultados encontrados en este trabajo se observa que las vacas que expresaron celo antes de la IATF tuvieron mejor tasa de preñez [62,3% (111/178) vs 9,0% (2/22)] que las que no lo hicieron ($P < 0,0001$), similares resultados fueron observados por Tschopp et al. (2015), quienes manifiestan que la expresión de celo previo a la inseminación mejoró la tasa de preñez en vacas lecheras IATF con ECP como inductor de la ovulación, tanto a las 48 h de retiro del dispositivo como las que mostraron celo luego de la aplicación de GnRH (entre las 48 y 60 h) y con IATF a las 60 h. Las tasas de preñez para las que presentaron celo y no presentaron celo a las 60 h del retiro del dispositivo fueron 60,0% (45/79) y 28,6% (32/112) respectivamente, cuando no recibieron GnRH.

Martins et al. (2014) reportaron que la tasa de preñez fue mayor en vaquillonas Nelore que expresaron celo comparadas con las que no lo hicieron, E48 [en celo, 61,0% (75/126) vs. sin celo, 25,7% (46/181)], G54 [en celo, 47,9% (24/52) vs. sin celo, 30,3% (76/252)], G72 [en celo, 45,8% (45/99) vs. sin celo, 32,5% (68/210)] utilizando como inductores de ovulación al ECP a las 48 h y GnRH a las 54 o 72 h del retiro del dispositivo. Pereira et al. (2014) también reportaron mayor tasa de preñez ($P < 0,01$) cuando hubo expresión de celo a la IATF [en celo (38,9%); sin celo (25,5%)] y TETF [en celo (46,2%); sin celo (32,7%)] en vacas lecheras.

Asimismo en el estudio de De la Mata et al. (2013b) en vaquillonas de carne, utilizando protocolo J-Synch, los animales que manifestaron celo antes de la IATF tuvieron mayor tasa de preñez ($P < 0,05$) que las vaquillonas que no lo hicieron (76,3% vs. 42,3% respectivamente). Otro estudio (Sá Filho et al., 2011b) evaluó la importancia de la ocurrencia de celo sobre la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes, las vacas fueron tratadas con un protocolo a base de P_4 y E_2 y con distintos inductores de la ovulación, ECP al retiro del dispositivo, GnRH en el momento de la IATF y los dos tratamientos a la vez ECP + GnRH. Las vacas que presentaron celo antes de la IATF tuvieron mayor tasa de preñez (58,5%; $P < 0,0001$) que las vacas que no presentaron celo (32,1%).

La correlación positiva entre la expresión de celo y la tasa de preñez que se observa en el presente trabajo, así como en el de otros autores puede ser explicada por el efecto del E₂ sobre la secreción de glicoproteínas oviductuales y la función uterina (Bridges et al., 2012), el celo ha sido vinculado con el pico de concentraciones circulantes de estradiol (Allrich, 1994) y las concentraciones de estradiol alrededor del momento de la inseminación podrían influenciar la fertilización debido a una mejora en el transporte espermático, alterando el pH uterino (Hawk, 1983), en las vacas que expresan celo antes de la IATF disminuye el pH uterino de 7 a 6,7 (Perry y Perry, 2008 a,b) y la disminución del pH uterino ha sido asociada con mayor viabilidad espermática (Jones y Bavister. 2000), inmediatamente después del celo ocurre un rápido incremento en el pH uterino que permite iniciar la capacitación espermática y aumentar la motilidad de los espermatozoides (Jones y Bavister. 2000). El incremento de la motilidad espermática, facilita la penetración en el mucus oviductual, matriz del cúmulus y la zona pelúcida (Stauss et al., 1995).

Mann y Lamming (2000) demostraron que las vacas con menos concentraciones de estradiol eran más propensas a experimentar luteólisis prematura posterior. Por tanto la ausencia de expresión de celo, el cual ha sido asociado con la concentración de estradiol durante el proestro podría influenciar la fertilidad en vacas de carne, alterando la motilidad espermática o por la frecuencia de vacas que experimentan luteólisis prematura en el siguiente ciclo estral. Además las vacas en celo el día de la IATF, generalmente tienen mejor sincronización de la ovulación (Galvao et al., 2004; Perry et al., 2005, 2007; Hillegas et al., 2008), lo cual favorece la preñez.

Los resultados de la relación entre el diámetro folicular y la expresión de celo en vacas Nelore, indican claramente que a mayor diámetro de folículo preovulatorio hubo mejor expresión de celo. Así los porcentajes de expresión de celo según la categoría de diámetro de folículo preovulatorio fueron: [23,1% (Cat 1); 83,0% (Cat 2); 100% (Cat 3); 100% (Cat 4)], estos resultados son similares a los reportados por otros autores en vacas Nelore (Sá Filho et al., 2011b), en el cuál las vacas que expresaron celo, tuvieron mayor diámetro de folículo preovulatorio a la IATF, mayor tasa de ovulación, mayor diámetro de CL y mayor concentración de P₄ en el ciclo estral subsiguiente.

En otro trabajo (Baruselli et al., 2003) en receptoras de embriones que recibieron un embrión a tiempo fijo, la expresión de celo en la receptora también estuvo asociada con un mayor diámetro folicular, con un incremento del diámetro del CL, mayor concentración sérica de P₄ durante el diestro y mayor tasa de preñez.

En definitiva las vacas que expresaron celo generalmente tuvieron folículos más grandes, es posible que los beneficios del celo sobre la preñez a la IATF se relacionaron en parte por un mayor diámetro del folículo preovulatorio y mejor sincronización del momento de ovulación. Sin embargo esas vacas probablemente tienen mayores concentraciones de estradiol endógeno que aquellas que no expresan celo lo cual no solamente mejora la tasa de ovulación o sincronía de la misma, sino que también prepara al endometrio para un mejor desempeño (Madsen et al., 2015), además concentraciones de estradiol más altas durante el proestro tiene un efecto positivo sobre la fase luteal subsiguiente y sobrevivencia embrionaria (Mann y Lamming, 2000; Santos et al., 2004; Madsen et al., 2015).

Para terminar con la discusión del efecto del diámetro del folículo preovulatorio a la IATF y la expresión de celo y su relación entre los dos, diremos que hasta hace algunos años en protocolos que utilizan GnRH como inductor de la ovulación, el diámetro folicular era un fuerte indicador de la fertilidad, pero el análisis de varios estudios realizados en vacas *Bos taurus* han demostrado que el predictor más consistente de preñez fue la duración del proestro, en lugar del diámetro folicular (Day. 2015), los animales con un proestro prolongado, tienen un folículo más grande (con niveles elevados de E₂), que induce un CL de mayor tamaño con mayor concentración sérica de P₄ (Perry et al., 2005; 2007; Pitaluga et al., 2013) y una mayor tasa de preñez (Binelli et al., 2017).

La CC al inicio del protocolo de IATF influyó la tasa de preñez en el presente estudio (P<0,0001), la tasa de preñez obtenida fue de 53,0%, 73,0% y 50,0% para la CC baja ($\leq 2,5$), moderada (3,0) y alta (3,5) respectivamente, sin embargo es importante notar que en la categoría CC alta (3,5), el número de animales es muy reducido, y eso podría estar distorsionando la respuesta, obteniéndose menor tasa de preñez respecto a las CC más bajas, en ese sentido vemos la necesidad de obviar la categoría de CC 3,5 para la discusión.

Fiorenza et al. (2016), también reporta resultados donde la tasa de preñez según la CC fue [36,9% (< 2,5); 61,7% (2,5-3,5); 63,3% (>3,5)], y claramente se observa que la tasa de preñez es menor, cuando la CC disminuye. De la Mata et al. (2015) también reporta similares resultados en vaquillonas de carne utilizando el protocolo J-Synch comparado con el protocolo convencional, en el primer experimento las vaquillonas estuvieron en baja CC (4 a 6 en una escala de 1 a 9) al inicio del tratamiento y perdiendo peso, la tasa de preñez fue de 37,8% (104/275) vs 49,3% (138/280) para el protocolo J-Synch y convencional respectivamente, pero en un segundo experimento en vaquillonas de carne con buena CC (6 a 7) al inicio del protocolo y ganando peso con los mismos protocolos de IATF, las tasa de preñez fueron de 59,7% (175/293) vs 53,1% (154/290) para protocolo J-Synch y convencional respectivamente, entonces se puede observar como la CC influyó sobre la tasa de preñez en el protocolo J-Synch con diferentes CC.

Ono et al. (2014) también reportan menores tasas de preñez cuando las CC disminuyen en animales *Bos indicus*, [27.1% ($\leq 2,5$) vs 39,4% ($\geq 3,0$)], la expresión de celo y tasa de crecimiento del FD también fue menor en animales con menor CC. Asimismo la CC al inicio del protocolo de IATF influyó la tasa de preñez [$<2,75 - 48,9\%$ (714/1460); $2,75$ a $3,25 - 54,7\%$ (353/645); $>3,25 - 56,4\%$ (145/257)] en el estudio de Sá Filho et al., (2010b).

Una menor CC al inicio de un protocolo de IATF ha sido asociada con reducción de la respuesta reproductiva en vacas *Bos indicus* sincronizadas con un protocolo en base a estradiol y P₄ (Bó et al., 2007; Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009), entonces si mejoramos la nutrición durante los periodos pre y posparto, minimizando así la pérdida de peso corporal en la lactancia temprana, probablemente se alcanzaría mejor CC al iniciar un protocolo de IATF en el posparto temprano lo que favorecería la tasa de preñez en vacas Nelore lactantes. Cutaia et al. (2003) sugiere que los animales deben tener una CC mínima de 2.5 (escala de 1 al 5) o idealmente 3 para obtener buenos resultados de preñez.

En el estudio de Souza et al., (2009) realizado en vacas lecheras, la CC al inicio del protocolo de IATF también afectó la tasa de preñez obteniendo 15,2% y 33,0% para CC $<2,75$ y CC $>2,75$ respectivamente. Sin embargo cuando las vacas recibieron eCG al retiro

del dispositivo, la tasa de preñez mejoró notablemente (38%) en vacas con CC <2,75; mientras que no hubo efecto (29,9%) en las vacas con CC >2,75. La posible explicación a éstos resultados es que las vacas con menor CC (<2,75) tuvieron menor circulación de P₄ en el diestro, comparada con las vacas con mayor CC (>2,75) posiblemente debido a una mayor tasa de metabolismo esteroideal en el hígado a causa de mayor ingesta de alimento, o menor producción de P₄ luteal. Sá Filho et al. (2009) también reportaron diferencias en la tasa de preñez en vacas *Bos indicus* con diferente escore de CC en un protocolo de IATF [<2,5 (43,0%); 3,0 (49,6%) y >3,5 (52,7%).

Si analizamos los resultados de los trabajos de los diferentes autores, coinciden en como las vacas con menor CC tienen menor tasa de preñez, probablemente esto se debe a que después del parto las vacas se encuentran en balance energético negativo y probablemente las vacas con menor CC son más sensibles al efecto de feedback negativo del estradiol sobre la liberación de gonadotrofinas, de manera que la mayoría de vacas estarían en anestro, por el contrario, las vacas con mayor CC estarían en mejor estatus metabólico o experimentan un periodo de balance energético menos severo en el posparto y por tanto su desarrollo folicular y probabilidad de ovulación pueden ser mayores, mejorando la tasa de preñez (Wiltbank et al., 2002; Vasconcelos et al., 2009; Bó et al., 2003).

En lo referente al número de parto de las vacas, en este estudio no se encontraron diferencias estadísticas significativas (P=0,4239), las tasas de preñez fueron de 58,0% (23/39) para primíparas y 59,0% (72/122) para multíparas, estos resultados son similares a los reportados por Sá Filho et al., (2010b) en vacas *Bos indicus*, con tasas de preñez de 51,1% (210/411) y 51,5% (1018/1977) para vacas primíparas y multíparas respectivamente.

Sin embargo en el trabajo de Sá Filho O et al., (2009) en vacas Nelore la tasa de preñez fue influenciada por el número de partos, esto probablemente debido a diferencias en el estatus energético entre las diferentes categorías de vacas. Las vacas de carne primíparas alimentadas en base a un sistema de pastoreo tienen prolongados periodos de anestro posparto (Wiltbank, 1970) y consecuentemente reducción de la tasa preñez en programas de IATF comparadas con vacas multíparas (Sá Filho et al., 2009). Sin embargo esta respuesta no ha sido consistente en vacas Nelore (Meneghetti et al., 2009), ya que no se reportó

diferencias en la fertilidad entre vacas Nelore primíparas y multíparas sometidas a un protocolo de IATF así como observamos en el presente estudio.

La posible explicación a este resultado es que todas las vacas fueron tratadas con eCG al retiro del dispositivo e inyección de PGF₂α. El tratamiento con eCG proporciona un soporte gonadotrófico para el desarrollo folicular final y este efecto positivo probablemente beneficia a las vacas en anestro (Baruselli et al., 2004) o primíparas (Small et al., 2009).

Otro aspecto a considerar en la fertilidad en vacas primíparas igual que en multíparas sometidas a una IATF es el periodo posparto. Normalmente las vacas de carne *Bos taurus* o *Bos indicus* alcanzan su pico de producción de leche entre 8.8 y 11.1 semanas después del parto (Jenkins and Ferrell, 1992; Oliveira et al., 2007) y las vacas primíparas tienden a alcanzar el pico más tarde que las vacas multíparas. Es posible que por iniciar los protocolos de sincronización más temprano que el periodo de requerimientos máximo de nutrientes, podría beneficiar la fertilidad. Por lo tanto iniciar el protocolo de IATF en el posparto temprano combinado con un soporte gonadotrófico (uso de eCG) que ayude al desarrollo y maduración final del folículo dominante podría favorecer la fertilidad en vacas primíparas, aboliendo la disparidad en la P/IA entre vacas de diferentes número de partos.

Respecto al uso de sémenes de diferentes toros y la tasa de preñez, los resultados demuestran diferencias estadísticas significativas ($P < 0,0001$), las tasas de preñez fueron de 63% y 51% para los toros Brangus y Bonsmara respectivamente. Otros autores (Oliveira et al., 2014) también reportan diferencias estadísticas significativas en porcentajes de preñez en vacas Nelore cuando se utilizaron sémenes de diferentes toros pero de la misma raza, para realizar IATF y PIV, así el toro 2 tuvo menor tasa de preñez (40%, $P < 0,05$) comparado con el toro 3 (53,6%) y el toro 7 (54,2%) y el semen heteroespermático (58,4%), sin embargo los toros 1 (48,1%), 4 (46,6%), 5 (51,3%) y 9 (50,0%) presentaron similares resultados ($P > 0,05$), en la PIV los toros 1 (23,7%) y 2 (23,9%) demostraron menores ($P < 0,05$) tasas de formación de blastocistos, comparados con los toros 8 (42,2%), 9 (44,3) y semen heteroespermático (50,0%), sin embargo para los toros 3 (31,2%), 4 (35,6%), 5 (35,0%), 6 (39,4%), y 7 (42,2%) no hubo diferencias ($P > 0,05$). Sá Filho et al., (2010b) por el contrario

reporta que la raza del toro no estuvo asociada ($P > 0,10$) a la preñez por IATF en vacas Nelore.

La calidad del semen utilizado en los programas de IATF y la habilidad del técnico inseminador son factores muy importantes que determinan el resultado de un programa de IATF, a pesar de que la información disponible no es amplia, permite mencionar en este caso que hubo efecto significativo del toro.

El diámetro del CL medido a los 7, 14 y 21 días en el 10% de vacas ($n=20$), permitió observar claramente el proceso de regresión y mantenimiento de los mismos, en base a esto pensamos que las vacas que disminuyeron el diámetro de su CL no estarían preñadas, mientras que en las que se mantuvieron probablemente estarían preñadas. Al clasificar los CL de acuerdo a su diámetro y relacionarlo con la gestación se observó diferencias estadísticas significativas ($P=0,00049$).

Las tasas de preñes fueron de 100%; 66,6% y 0% para las calidades de CL 1, 2 y 3 respectivamente al día 7 después de la IATF y 100%; 66,6% y 20% para las calidades de CL 1, 2, 3 respectivamente al día 14 después de la IATF, es decir las vacas que estuvieron preñadas presentaron mayor diámetro de CL, que las vacas que no estuvieron preñadas. Resultados similares reportaron otros autores (Paiva et al., 2013; Sá Filho et al., 2014), en donde evaluaron las características funcionales del CL en las primeras semanas después de la IATF en vacas Nelore, el diámetro y volumen de CL se redujo en el grupo de vacas no gestantes a partir del día 18, similar a lo que sucedió en el presente estudio, pero las vacas gestantes presentaron mayor diámetro y volumen luteal que las no gestantes en el día 21.

Así mismo se observó en el presente trabajo que los diámetros de CL en vacas Nelore no superaron los 21 mm, similares a lo reportado por otros autores (Baruselli et al., 2007 citado de Figueiredo et al., 1997). El mayor diámetro de CL registrado en las vacas preñadas sugiere una mayor secreción de P_4 luteal y mejora en el ambiente endometrial, acelerando cambios en la expresión génica y la elongación del *conceptus* y consecuentemente mejor sobrevivencia embrionaria (Forde et al., 2009; Forde et al., 2011b).

Aunque no se conocen con exactitud los valores óptimos que deberían alcanzar los niveles plasmáticos de P₄, existe una correlación entre la concentración plasmática de P₄ materna con la producción de INF- τ por el *conceptus* (Mann et al., 2006), las concentraciones de P₄ elevadas a partir del día 3 del ciclo aumentaron significativamente el crecimiento del embrión (durante la elongación) con mayor producción de INF- τ y mejor tasa de preñez (Mann y Lamming 2000., NcNeill et al., 2006). Futuros estudios deberían realizarse para investigar con más detalle el ambiente uterino evaluando expresión génica de receptores y proteínas receptoras de hormonas relacionadas con el desarrollo embrionario.

La tasa de preñez total incluyendo a las vacas que tuvieron ovulación anticipada fue de 56,5% (113/200), pero si excluimos a aquellas vacas, la tasa de preñez fue de 59,0% (95/161), estos resultados son similares a los reportados por Sá Filho et al. (2012) en vacas Nelore, utilizando semen convencional y sexado obteniéndose tasas de preñez de 58,9% (126/214) y 56,8% (134/236) respectivamente cuando las vacas tuvieron folículos ≥ 9 mm de diámetro a la IATF, pero cuando tuvieron folículos < 9 mm las tasas de preñez fueron de 49,5% (101/204) y 31,2% (59/189) para semen convencional y sexado respectivamente. Martins et al. (2014) reportan tasas de preñez similares de acuerdo al diámetro del FD el día de la IATF [$\leq 10,7$ mm (23,6%); 10,8-15,7 mm (51,5%); $\geq 15,8$ mm (30%)] en vaquillonas Nelore. En otro trabajo realizado en vaquillonas de carne (Menchaca et al., 2013) utilizando el mismo protocolo se obtuvieron tasas de preñez que superaron el 50%.

En general la tasa promedio de preñez cuando se hace IATF es de 50% con rangos que varían de 43,3% a 62,7% (Chesta et al 2009a; Cutaia et al., 2009; Sales 2012), sin embargo es común escuchar que fue un fracaso cuando el resultado no alcanzó el 50%, pero no está bien generalizar y hablar solamente de ese porcentaje, porque si nos detenemos a pensar técnicamente, no es lo mismo trabajar con vaquillonas de 15 o 24 meses, no es lo mismo trabajar con vacas sin ternero al pie que vacas con cría y fundamentalmente no es lo mismo trabajar en establecimientos ubicados en diferentes regiones productivas. Por eso, previo a organizar una IATF es importante tener claro con qué tipo de animales y en qué condiciones vamos a trabajar, porque de acuerdo a eso variarán nuestros resultados.

CONCLUSIONES

El diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF, influyó la tasa de preñez en vacas Nelore con cría al pie en el trópico ecuatoriano.

La expresión de celo estuvo asociado con la tasa de preñez, ya que las vacas que expresaron celo tuvieron mayor tasa de preñez que las que no lo hicieron.

La presencia de un mayor diámetro folicular a la IATF fue asociado con mayor expresión de celo en vacas Nelore con cría al pie.

La CC al inicio del protocolo de IATF influyó significativamente la tasa de preñez, logrando mayor porcentaje de preñez en vacas con CC moderada (CC: 3), superando inclusive a la CC alta (CC: 3,5), la cual estuvo conformada por un bajo número de animales, razón por la que podría estar distorsionando la respuesta.

No se manifestó un efecto en la tasa de preñez, según el número de partos.

Hubo efecto del tipo de toro utilizado en la IATF sobre la tasa de preñez, el toro Brangus tuvo mejor desempeño que el toro Bonsmara.

Las vacas con CL calidad 1 tuvieron mayor tasa de preñez que las vacas con CL calidad 2 y 3, a los 7 y 14 días después de la IATF

BIBLIOGRAFÍA

- Adams G.P., Jaiswal R., Singh J., Malhi P. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 69: 72-80.
- Allrich R.D. 1994. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 2738-2744.
- Arlotto T., J.L. Schwartz, N. L. Leibfried-Rutledge. 1996. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology*. 45:943-956.
- Atkins J.A., Smith M.F., MacNeil M.D., Jinks E.M., Abreu F.M., Alexander L.J. and Geary T.W. 2013. Pregnancy establishment and maintenance in cattle. *Journal of Animal Science* 91: 722-733.
- Ayres, H., Ferreira R.M., Torres-Júnior J.R.S., Demétrio C.G.B., de Lima C.G., Baruselli P.S., 2009. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nellore (*Bos indicus*) cows. *Livestock Sci.* 123, 175–179.
- Barth A.D. 1995. Evaluation of frozen semen by the veterinary practitioner. *Proc. Of Bovine Short Course. Society for Theriogenology*, 105-110
- Baruselli P.S., Madureira E.H., Marques M.O. 2001. Programas de IA a tiempo fijo en *Bos indicus*. *Resúmenes Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba*; 95-116.
- Baruselli P.S., Marques M.O., Carvalho N.A.T., Berber R.C.A., Valentin R., Carvalho Filho A.F., Costa Neto W.P., 2003. Follicular dynamics and pregnancy rate in embryo recipient (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) treated with “Ovsynch” protocol for fixed-time embryo transfer. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 40, 96-106.
- Baruselli P.S., Reis E.L., Marques M.O., Nasser L.F., Bo G.A., 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83,479-486.
- Baruselli P.S., Guimenes L.U., Sales J.N.S., 2007. Reproductive physiology of *Bos taurus* and *Bos indicus* females. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 31,205–211.
- Baruselli P.S. 2016. Supera dez milhoes de procedimentos e amplia o mercado de trabalho *Revista CFMV, XXII* 57-60

- Barros C.M; Nogueira M.F.G. 2001. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*. 56: 1483-1496
- Batista E.O.S; Macedo G; Sala R.V; Ortolan M; Sa Filho M.F; Del Valle T.A; Jesús E.F; Lopes R; Rennó F.P; Baruselli P.S. 2014. Plasma Anti-mullerian hormone a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reproduction in Domestic Animals*. 49: 448-452
- Batista E.O.S; Macabelli C.H; Chiaratti M.R; Yasuoka M.M; Sala R.V; Ortolan M; Jesús E.F; Del Valle T.A; Rennó F.P; Baruselli P.S. 2015. Impact of bovine genetic group (*Bos indicus* vs *Bos taurus*) and level of dry matter intake (high vs low) on gene expression of liver enzymes related to progesterone metabolism. *Anim. Reprod.* 12: 642
- Batista E.O.S; Guerreiro B.M; Freitas B.G; Silva J.C.B; Vieira L.M; Ferreira R.M; Rezende R.G; Basso A.C; Lopes R; Rennó F.P; Souza A.H; Baruselli P.S. 2016. Plasma Anti-mullerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*. 54: 1-9
- Beker-van Woudenberg A.R., van Tol H.T.A., Roelen B.A.J., Colenbrander B., Bevers M.M. 2004. Estradiol and its membrane-impermeable conjugate (estradiol-bovine serum albumin) during in vitro maturation of bovine oocytes: Effects on nuclear and cytoplasmic maturation, cytoskeleton and embryo quality. *Biol. Reprod.* 70: 1465-1474
- Beker-van Woudenberg., Zeisentra E.C., Roelen B.A.J., Colenbrander B., Bevers M.M. 2006. Developmental competence of bovine oocytes after specific inhibition of MPF kinase activity: Effect of estradiol supplementation and follicle size. *Anim Reprod Sci.* 92: 231-240
- Binelli M., Sartori R., Vasconcelos J.L.M., Monteiro Jr. P.L.J., Pereira M.H.C., Ramos R.S. 2014. Evolution in fixed-time from synchronization of ovulation to improved fertility. 2014 Proceedings 9th International Ruminant Reproduction Symposium Context Products Ltd, England. Pp 493-506
- Binelli M., Pugliesi G., de Oliveira Santana Batista E., Martins T., Lopes E., Sponchiado M., Gonella-Diaza A., Oliveira M., Rodrigues Franca M., de Oliveira Cardoso B., Piffero Mello B., Souza Gomes N., Latorraca L., Cuellar Cuadros F. 2017. Programação da receptividade uterina e fertilidade em vacas de corte. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 41: 121-129
- Bo G.A.; Martinez M., Nasser L.F., Caccia M., Tribulo H., Mapletoft R.J. 1993. Follicular dynamics in *Bos-indicus* and *Bos-taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. *Proc 10 Congresso Brasileiro de Reproducao Animal*; 2:221 abstr.

- Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A., Caccia M., Tríbulo H., Mapletoft R.J. 1994. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology*, 41, 1555-1569.
- Bó G.A., Adams G.P., Caccia M., Martínez M., Pierson R.A., and Mapletoft R.J. 1995a. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science* 39: 193-204.
- Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A. and Mapletoft R.J. 1995b. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31-40.
- Bó G.A., Medina M., Tegli J.C., Costamagna A. and Brogliatti G.M. 2000. Fixed-timed artificial insemination in CIDR-B treated cows induced to ovulated with estradiol benzoate or GnRH. Proc. 14 th International Congress on Animal Reproduction.
- Bó G.A., Cutaia L., Brogliatti G.M., Medina M., Tríbulo R., Tríbulo H. 2001. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. Resúmenes Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba; 117-136.
- Bó G.A., Cutaia L. y Tríbulo R. 2002a. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda parte. *Taurus* 15: 17-32.
- Bó G.A., Baruselli P.S., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tríbulo R., Tríbulo H., Mapletoft R.J. 2002b. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57, 53-72. 3.
- Bó G.A., Baruselli P.S., Martínez M.F., 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78, 307-326.
- Bó, G., Cutaia L., Chesta P., Balla E., Pincinato E., Peres L., Maraña D., Avilés M., Menchaca A., Veneranda G., Baruselli P. 2005. Implementación de Programas de Inseminación Artificial en Rodeos de Cría de Argentina. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. Tomo I, pp. 97-128
- Bó G.A., Cutaia L., Peres L.C., Pincinato D., Maraña D., Baruselli P.S., 2007. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc. Reprod. Fert. Suppl.* 64, 223-236.
- Bó G.A., Cutaia L.E., Souza A.H., Baruselli P.S. 2009. Actualización sobre protocolos de IATF en Bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. *Taurus*, 41, 2034.
- Bó G.A., Baruselli P.S. and Mapletoft R.J. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Animal Reproduction* 10: 137-142.
- Bó G.A., Baruselli P.S. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*, 8 (Suppl 1): 144-150.

- Bó G.A., Huguenine E. y Menchaca A. 2014. Control farmacológico del ciclo estral para IATF en vacas de cría. Memorias de las 7° Jornadas Taurus de Reproducción Bovina p 76 -94
- Bó G.A.; De la Mata J.J; Baruselli P.S; Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*. 86: 388-396
- Brevini-Gandolfi T.A., Gandolfi F. 2001. The maternal legacy to the embryo: cytoplasmic components and their effects on early development. *Theriogenology* 55, 1255-1276.
- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R and Day M.L. 2012. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus developmental and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 133: 16-26.
- Bridges G.A., Day M.L, Geary T.W., and Cruppe L.H. 2013. Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *Journal of Animal Science* 91: 3002-3013.
- Buhi W.C. 2002. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reproduction*. 123: 355-362.
- Burke J.M., de la Sota R.L., Risco C.A., Staples C.R., Schmitt E.J.-P, Thatcher W.W. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 8, 1385-1394.
- Burke C.R., Mussard M.L., Gasser C.L., Grum D.E., DAY M.L. 2003. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology*, 60, 647-658.
- Busch D.C., Atkins J.A., Bader J.F., Schafer D.J., Patterson D.J., Geary T.W. and Smith M.F. 2008. Effect of ovulatory follicle size and expression of estrus on progesterone secretion in beef cows. *Journal of Animal Science* 86: 553-563.
- Caccia M. and Bó G.A. 1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 49: 341.
- Carvalho J.B.P; Carvalho N.A.T; Reis E.L; Nichi M; Souza A. H; Baruselli P.S. 2008. Effect of early luteolysis in progesterone- based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 69: 167-175.
- Colazo M.G., Kastelic J.P. and 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., Mapletoft R.J. 2014. A review of ocurrent timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. *Can Vet J.* 55: 772-780.

- Cooke, R. F., Bohnert D. W., Meneghetti M., Losi T. C., and Vasconcelos J. L. M. 2011. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livest. Sci. LIVSCI-D-11-414R1*.
- Cuatrín A., Scándolo D.G., Scándolo D., Maciel M. 2011. Detección de celo por actividad en vaquillonas Holstein sincronizadas con un protocolo de inseminación a tiempo fijo. Resúmenes I Simposio Latinoamericano de Reproducción Animal/ Comunicaciones Cortas/Bovinos, (pag. En CD). Viña del Mar, Chile
- Cutaia L., Veneranda, G., Tríbulo, R., Baruselli, P.S., Bó, G.A.2003. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo: Análisis de factores que afectan los resultados. Resúmenes de V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. pp. 119 - 132.
- Cutaia L., Ramos M., Bó G.A. 2009. Efecto del momento de la IATF en vaquillonas de carne cruzadas cebú tratadas con dispositivos con progesterona y cipionato de estradiol como inductor de la ovulación. Resúmenes del VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba Argentina-IRAC 2009.
- Chesta P., Filippi L., Ramos M., Racca D. y Bó G. 2009. Evaluación de las tasas de preñez en protocolos de inseminación Artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes dosis de cipionato de estradiol en vaquillonas Holando. Resúmenes VII Simposio Internacional de Reproducción Animal IRAC, Córdoba, Argentina, CD.
- Dalton J.C. 2013. Características del semen de relevancia para la inseminación artificial a tiempo fijo. Resúmenes del X Simposio Internacional de Reproducción Animal. Pabellón Argentino, Ciudad Universitaria, Córdoba, pp 183-198.
- Day M.L. 2015. State of the art of GnRH-based timed IA in beef cattle. *Anim. Reprod.* 12: 473-8
- De la Mata J.J., C.A. de la Mata and G.A. Bó. 2013a. Características foliculares y luteales y tasa de preñez en receptoras de embriones sincronizadas con un protocolo J-Synch 6 d. 10° Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentino, Córdoba, Argentina. Resúmenes pp.378 (abstract).
- De la Mata J.J., C.A. de la Mata and G.A. Bó. 2013b. 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. 10° Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentino, Córdoba, Argentina. Resúmenes pp.308 (abstract).
- De la Mata J.J., Menchaca A. y Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentina, Córdoba. Resúmenes pp 143-157.

- De Silva A; Anderson G; Gwazdauskas F; McGilliard M; Lineweaver J. 1981. Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle. *Journal of dairy science*. 64: 2409-2418.
- Dickinson S.E. 2016. Effect of pre-ovulatory follicle size on oocyte transcript abundance in beef cows. University of Missouri. Thesis.
- Diskin M.G., Ausstin E.J., Roche J.F. 2002. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom. Anim. Endocrinol*, 23, 211-228.
- Ferraz P.A., Matos B.A.P., Loiola M.V.G., Rodrigues A.S., Oliveira C.H.C., Pinto B.M., Santos M.M., Jesus E.O., Bittencourt R.F., Chalhoulb M., Bittencourt T.C.B.S.C., Ribeiro Filho A.L. 2013. Validation of a method for estrus detection in Nelore females submitted FTAI protocol. Reunión anual de la Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones, Resúmenes p. (abstracts).
- Figueiredo R.A., Barros C.M., Pinheiro O.L., Soler J.M.P. 1997. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*; 47:1489-1505.
- Fiorenza Farias M., Minela T., Cabral M., Trentin J., Schenatto R., De Araujo L., Casarin, J.B., Martini A.P., Pessoa G.A., Rubin M.I. 2016. Efeito do score de condicao corporal nas taxas de prenhez de femeas de corte no RS. XXX Reunión Anual de la Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones. Resúmenes p. 215 (abstract).
- Forde N., Carter F., Fair T., Crowe M.A., Evans A.C.O., Spencer T.E., Bazer F.W., McBride R., Boland M.P., O'Gaora P., Lonergan P. and Roche J.F. 2009. Progesterone Regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biology of Reproduction* 81: 784-794.
- Forde N., Beltman M.E., Lonergan P., Diskin M., Roche J.F., Crowe M.A. 2011a. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science* 124: 163-169.
- Forde N., Beltman M.E., Duffy G.B., Duffy P., Mehta J.P., O'Gaora P., Roche J.F., Lonergan P. and Crowe M.A. 2011b. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: Effect of low circulating progesterone and consequences for the conceptus elongation. *Biology of Reproduction* 84: 266-278.
- Fortune J.E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.* 50: 225-232
- Galina C.S; Orihuela A. 2007. The detection of estrus in cattle raised under tropical conditions: What we know and what we need to know. *Hormones and behavior*. 52: 32-38
- Galvao K.N., Santos J.E., Juchem S.O., Cerri R.L., Coscioni A.C., Villasenor M. 2004. Effect of addition of a progesterone intravaginal insert to a timed insemination protocol using estradiol cypionate on ovulation rate, pregnancy rate, and late embryonic loss in lactating dairy cows. *J. Animal Sci.*, 82, 3508-3517.

- Galvao K.N., Santos J.E.P. 2010. Factors affecting synchronization and conception rate after the Ovsynch protocol in lactating Holstein cows. *Reprod. Domest. Anim.* 45: 439-446
- Garrett, J. E., R. D. Geisert, M. T. Zavy, and G. L. Morgan. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fertil.* 84:437-446.
- Garverick H.A., Smith M.F. 1986. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J. Anim. Sci.* 62 (Suppl 2): 92-105.
- Geary T.W. and Whittier J.C. 2001. Effects of timed insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or CO-Synch protocol in beef cows. *The Professional Animal Scientist* 14: 217-220.
- Geary T.W., Smith M.F., MacNeil M.D., Day M.L., Bridges G.A., Perry G.A., Abreu F.M., Atkins J.A., Pohler K.G., Jinks E.M. and Madsen C.A. 2013. Influence of follicular characteristics of ovulation on early embryonic survival. *Journal of Animal Science* 91: 3014-3021.
- Ginther O.J., Kastelic J.P., Knopf L. 1989a. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrus cycle. *Anim Reprod Sci*; 20:187-200.
- Ginther O.J., Kastelic J.P., Knopf L. 1989b. Temporal associations among ovarian events in cattle during estrus cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil*; 87:223-230.
- Ginther O.J., Kot K., Kulick L.J., Martin S., Wiltbank M.C. 1996. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J Reprod Fert*; 108:271-279.
- Ginther O.J., Kot K., Kulick L.J., Wiltbank M.C. 1997. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology.* 48: 75-87
- Ginther O. J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim. Reprod. Sci.*, 60, 61-79.
- Ginther O.J; Bergfelt D.R; Beg M.A; Kot K. 2001. Follicle selection in cattle: Role of luteinizing hormone. *Biology of Reproduction.* 64: 197-205.
- Gimenes L.U., Sá Filho, M.F., Carvalho, N.A., Torres-Junior, J.R., Souza, A.H., Madureira, E.H., Trinca, L.A., Sartorelli, E.S., Barros, C.M., Carvalho, J.B., Mapletoft, R.J., Baruselli, P.S., 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology.* 69, 852-858.
- Gosden R., Krapez J and Briggs D. 1997. Growth and development of the mammalian oocyte. *Bioessays* 19: 875-882.
- Hawk H.W. 1983. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *J. Dairy Sci.* 66, 2645-2660

- Hillegas J., Lima F.S., Sá Filho M.F., Santos J.E. 2008. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 91, 4226-4237
- Hyttel P., Fair T., Callesen H., Greve T. 1997. Oocyte growth, capacitation, and final maturation in cattle. *Theriogenology*. 47: 23-32
- Jenkins T.G., Ferrell C.L. 1992. Lactation characteristics of nine breeds of cattle fed various quantities of energy dietary. *J. Anim. Sci.* 70, 1652-1660
- Jinks E.M., Smith M.F., Atkins J.A., Pohler K.G., Perry G.A., MacNeil M.D., Roberts A.J., Waterman R.C., Alexander L.J. and Geary T.W. 2013. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 91: 1176-1185.
- Jones J.M and Bavister B.D. 2000. Acidification of intracellular pH in bovine spermatozoa suppresses motility and extends viable life. *J.Androl.* 21: 616-624.
- Kastelic J.P., Bergfeldt D.R., Ginther O.J. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33: 1269-1278.
- Lamb G. C., J. S. Stevenson, D. J. Kesler, H. A. Garverick, D. R. Brown, and B. E. Salfen. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2alpha for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79:2253–2259.
- Larimore E.L., Amundson O.L., Bird S.L., Funnell B.J., Kruse S.G., Bridges G.A. and Perry G.A. 2015. Influence of estrus at fixed-time artificial insemination on early embryonic development in beef cattle. *Journal of Animal Science* 93: 2806-2812.
- Lonergan P. and Forde N. 2014. Maternal-embryo interaction leading up to the initiation of implantation of pregnancy in cattle. *Animal*, 8:s1, pp 64-69.
- Lonergan P., Forde N. and Spencer T. 2016. Role of progesterone in embryo development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 28: 66-74.
- Lopez del Cerro P., Scándolo D.G., Vanzetti L., Cuatrín A., Scándolo D., Maciel M. 2011. Efecto de la aplicación de Lecirelina en la fertilidad de vaquillonas Braford que no manifiestan celo previo a la IATF. Resúmenes IX Simposio Internacional de Reproducción Animal, (pág. 326 abstract). Córdoba, Argentina.
- Lopez H; Satter L.D; Wiltbank M.C. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science.* 81: 209-223
- Lucy M.C. 2007. The bovine dominant ovarian follicle. *J. Anim Sci.* 85 (E. Suppl.), E89-E99.

- Machaty Z., Peippo J., Peter A. 2012. Production and manipulation of bovine embryos: techniques and terminology. *Theriogenology* 78 (5):937-950.
- Madsen C.A., Perry G.A., Mogck C.L., Daly R.F., MacNeil M.D., Geary T.W. 2015. Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 158: 96-103.
- Mann G. E., S. J. Mann., and G. E. Lamming. 1996. The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 21:37.
- Mann G.E., Lamming G.E., Robinson R.S., Whates D.C. 1998. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod. Fertil.* 54 (Suppl): 317-28.
- Mann G.E., Lamming G.E., 2000. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Anim. Reprod. Sci.* 64, 171–180.
- Mann G.E., Fray M.D., Lamming G.E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *The Veterinary Journal* : 500-503.
- Mann G.E. 2009. Corpus luteum size and plasma progesterone concentrations in cows. *Animal Reproduction Science, (Short communication)* 115: 296-299.
- Martinez M. F., G. P. Adams, D. R. Bergfelt, J. P. Kastelic, and R. J. Mapletoft. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 57:23–33.
- Martínez M.F., Adams G.P., Kastelic J.P., Bergfelt D.R. and Mapletoft R.J. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54: 757-769.
- Martínez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., and Mapletoft R.J. 2001. The use of GnRH or estradiol to facilitate fixed time insemination in an MGA-based synchronization regimen in beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 67: 221-229.
- Martins T., Peres R.F.G., Rodrigues A.D.P., Polher K.G., Pereira M.H.C., Day M.L., Vasconcelos J.L.M., 2014. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology.* 81: 446-453
- Meneghetti M., Sá Filho O.J., Peres R., Lamb G., Vasconcelos J.L.M., 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cow I: Basis for development of protocols. *Theriogenology.* 72:179-89.

- Menchaca A., Núñez R., Wijma R., García Pintos C., Fabini F., de Castro T. 2013. How fertility can be improved in fixed-time AI programs in beef cattle. Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba. pp. 103-134.
- Mermillod P., Oissaid B., Cognie Y. 1999. Aspects of follicular and oocyte maturation that affect the developmental potential of embryos. *J Reprod Fertil, Suppl.* 54: 449-460
- Mizuta K. 2003. Estudio comparativo dos aspectos compartamentais do estro e deteores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que preceden a ovulacao em femeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), angus (*Bos taurus taurus*) e nelore x angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). Universidad de Sao Paulo, Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia
- Moreno D., Cutaia L., Villata L., Otisi F. and Bó G.A.. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol y progesterone. *Theriogenology* 55: 408 (abstract).
- Murphy M.G.; Boland M.P.; Roche J.F. (1990). Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum suckled beef cows. *J Reprod Fert*; 90:523-533.
- Murphy M.G.; Enright W.J.; Crowe M.A.; McConnell K.; Boland M.P.; Roche J.F. 1991. Effect of dietary intake of pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle in beef heifers. *J Reprod Fertil*; 92:333-338.
- Mussard M.L., Burke C.R., Gasser C.L., Behlke E.J., Coliflower K.A., Grum D.E. and Day M.L. 2003. Ovulatory response, luteal function and fertility in cattle induced to ovulate dominant follicles of early or late maturity. *Biology of Reproduction* 68(Suppl.1):332.(Abstr.).
- Mussard M.L., Burke C.R., Behlke E.J., Gasser C.L., Day M.L. 2007. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function and fertility in cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 937-943
- McDonald L. E., R. E. Nichols., and S. H. McNutt. 1952. Study of corpus luteum ablation and progesterone replacement therapy in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 13:446-451.
- Nett T.M., Turzillo A.M., Baratta M., Rispoli L.A. 2002. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *Domest. Anim. Endocrinol*, 23, 33-42.
- Núñez-Olivera R., de Castro T., García-Pinto C., Bó G.A., Piaggio J. and 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.
- McNeill R.E., Sreenan J.M., Diskin M.G., Cairns M.T., Fitzpatrick R., Smith T.J. and Morris D.G. 2006. Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium during early luteal phase. *Reproduction, Fertility and Development* 18: 573-583.

- Oliveira L.Z; Atique Netto H; Benzi E.C.D; Carreira J.T; Prado R.B; Peres R.F.G; Graff H.B; Monteiro F.M; Martins J.P.N; Aruda R.P. 2014. The “bull effect” comparative results between the reproductive performance of semen batches at IVP and timed-AI. Resúmenes de la Reunion Anual de Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones p.379.
- Oliveira, V.C., Fontes, C.A.A., Siqueira, J.G., Fernandes, A.M., Santana, N.F., Chambela Neto, A., 2007. Milk production and performance of calves from Nelore and crossbred cows. R. Bras. Zootec. 36, 2074-2081.
- Ono M.S.B., Girotto R.W., Crepaldi G.A., Baruselli P.S., Sales J.N.S. 2014. Effect of body condition score on diameter of the dominant follicle, estrous behavior, ovulation rate and fertility in Nelore cows submitted to timed artificial insemination. Resúmenes de la Reunion Anual de Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones p.385.
- Paiva Nabuco Y., Miagawa B.T., Franca M.R., Pinaffi F.L.V., Lopes E., Scolari S.C., Nogueira G.P., Pugliesi G., Silva L.A., Binelli M. 2013. Características ultrasonográficas funcionais do corpo lúteo nas primeiras semanas pos-inseminacao em vacas de corte gestantes e nao-gestantes. Resúmenes de la Reunion Anual de Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones p.398.
- Palma, G. 2001. Biotecnología de la reproducción. Buenos Aires, Argentina. Ed. INTA, Balcarce.
- Pereira M.H.C., Guida T.G; Barbosa L.P., Lopes F.R., Munhoz A.K., Wiltbank M.C., Vasconcelos J.L.M. 2014. Expression of estrus increases fertility and decreases pregnancy loss in timed-AI or timed-ET protocols. Resúmenes de la Reunion Anual de Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones p.382
- Perry G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M.D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:5268–5273
- Perry G.A., Smith M.F., Roberts A.J., MacNeil M.D., Geary T.W., 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. J. Anim. Sci. 85:684-689.
- Perry G.A., Perry B.L. 2008a. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. Domest Anim Endocrinol. 34: 333-338.
- Perry G.A., Perry B.L. 2008b. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time artificial insemination protocol. J Anim Sci. 86: 2928-2935.
- Pinheiro O; Barros C; Figueiredo R; Do Valle E; Encarnacao R; Padovani C. 1998. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus* with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ α or norgestomed and estradiol valerate. Theriogenology. 49: 667-681.

- Pitaluga P.C.S.F., Sá Filho M.F., Sales J.N.S., Baruselli P.S., 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.
- Pursley R.J., Mee M.O. and Wiltbank M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. *Theriogenology* 44(7):915-23.
- Pursley R.J., Wiltbank M.C., Stevenson J.S. Garverick H.A., Anderson L.L. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci*: 80: 295-300.
- Rae D; Chenoweth P; Giangreco M; Dixon P; Bennett F. 1999. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. *Theriogenology*. 51: 1121-1132
- Rhodes J.M., Death G., Entwistle K.W. 1995. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim Reprod Sci*; 38:265-277.
- Saake R.G., Nadir S. and Nebel R.L. 1994. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants. *Theriogenology* 41: 45-50
- Sá Filho MF, Torres-Júnior JRS, Penteado L, Gimenes LU, Ferreira RM, Ayres H., 2010. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*. 118:182–7.
- Sá Filho M.F., Ayres H., Ferreira R.M., Nichi M., Fosado M., Campos Filho E.P., Baruselli P.S., 2010. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology*. 74:1636-1642
- Sá Filho, M.F., Crespilho, A.M., Santos J.E.P., Perry G.A., Baruselli, P.S., 2010b. Ovarian Follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*, 120:23-30.
- Sá Filho MF, Santos JEP, Ferreira RM, Sales JNS, Baruselli PS., 2011b. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* . 76:455–63.
- Sá Filho MF., Giroto R.W., Abe E.K., Penteado L., Campos Filho E.P., Moreno J.F., Sala R.V., Nichi M., Baruselli PS., 2012. Optimizing the use of sex-sorted sperm in timed artificial insemination programs of suckled beef cows. *Journal of Animal Science*. 90: 1816-1823

- Sá Filho M.F., Pugliesi G., Freitas B.G., Vieira L.M., Soares J.G., Baruselli P.S. 2014. The use of color doppler ultrasonography as a method of pregnancy diagnosis 22 days after FTAI in Nelore beef cows. Resúmenes de la Reunión Anual de Sociedad Brasileira de Tecnología de Embriones p.380.
- Sá Filho O.G., Thatcher W.W., Vasconcelos J.L.M. 2009. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrus Nelore cows. *Anim. Reprod. Sci.* 112: 95-103.
- Sá Filho O.J., Meneghetti, M., Peres, R., Lamb, G., Vasconcelos, J.L.M., 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 72: 210-18
- Sales J.N., Carvalho J.B., Crepaldi J.A., Cipriano R.S., Jacomini J.O., Maio J.R., Souza J.C., Nogueira G.P., Baruselli P.S. 2012. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 78: 510-516.
- Santos J.E., Thatcher W.W., Chebel R.C., Cerri R.L., Galvão K.N., 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci.* 82-83:513–35.
- Santos J.E., Narciso C.D., Rivera F., Thatcher W.W., Chebel R.C. 2010. Effect reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci.* 93: 2976-2988
- Sartorelli E.S., Carvalho L.M., Bergfelt D.R., Ginther O.J., Barros C.M., 2005. Morphological characterization of the follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394.
- Sartori R., Fricke P.M., Ferreira J.C.P., Ginther O.J. and Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction* 65: 1403-1409.
- Sartori R; Bastos M.R; Baruselli P.S; Gimenes L.U; Ereno R.L; Barros C.M. 2010. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. *Soc. Reprod. Fertil. Suppl.* 67: 357-375
- Sartori R., Gimenes L.U; Monteiro P.L.J.J; Melo L.F; Baruselli P.S; Bastos M.R. 2016. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*. 86: 32-40.
- Segerson E; Hansen T; Libby D; Randel R; Getz W. 1984. Ovarian and uterine morphology and function in angus and brahman cows. *Journal of animal science.* 59: 1026-1046.

- Seidel G.E. 1995. Reproductive biotechnologies for profitable beef production. In Proc. Beef Improvement Federation. P 28 Sheridan, WY.
- Sirard M.A., Richard F., Blondin P., Robert C. 2006. Contribution of the oocyte to embryo quality. *Theriogenology*. 65: 126-136.
- Sirois J., Fortune J.E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*; 39:308-317.
- Souza A.H., Viechnieski S, Lima F.A., Silva F.F., Araújo R., Bó GA., 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses on dairy cows. *Theriogenology*. 72:10 –21.
- Small G.A., Colazo M.G., Kastelic J.P., Mapletoft R.J. 2009. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-IA in beef cattle. *Theriogenology* 71, 698-706.
- Spencer T.E., Johnson G.A., Bazer F.W., Burghardt R.C. and Palmarini M. 2007. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development* 19: 65-78.
- Stauss C.R., Votta T.J and Suarez S. 1995. Sperm motility hiperactivation facilitates penetration of the hámster zona pellucida. *Biol. Reprod*. 53: 1280-1285
- Stahringer R.C., Vispo P.E., Prieto P.N., Fogliatti G. 2011. Evaluación del pintado en la base de la cola en protocolos de IATF en vacas Braford pluríparas. IX Simposio Internacional de Reproducción Animal (pag. 335), Córdoba, Argentina.
- Thatcher W.W., Macmillan K.L., Hensen P.J., and Drost M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31: 149-164.
- Thatcher W.W., Meyer M.D., Danet-Desnoyers G. 1995. Maternal recognition of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl*. 49: 15-28.
- Torres-Júnior J.R.S., Penteado L., Sales J.N.S., Sá Filho M.F., Ayres H., Baruselli P.S. 2014. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. *Animal Reproduction Science* 151: 9-14.
- Tschopp J.C. y Bó G.A. 2015. Momento de inseminación y expresión de celos en vacas lecheras sincronizadas con dispositivos con progesterona y estradiol. XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, (págs. 209-233). Córdoba, Argentina.
- Twagiramungu H., Guilbault L.A. and Dufour J.J. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 73: 3141-3151.

- Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. *Animal Reproduction Science* 145: 1-7
- Vasconcelos J.L.M., Sartori R., Oliveira H.N., Guenther J.G., Wiltbank M.C. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 56:307-314.
- Vasconcelos J.L.M., Sá Filho O.G., Perez G.C., Silva A.T.N. 2009. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. *Anim. Reprod. Sci.* 111:302-11.
- Vasconcelos J.L.M., Vilela E.R., Sá Filho O.G. 2009. Temporary weaning at two different times of the GnRH-PGF₂ α -EB synchronization of ovulation protocol in post partum Nelore cows. *Braz J Vet Anim. Sci.* 61:95-103.
- White F.J; Wettemann R.P; Looper M.L; Prado T.M; Morgan G.L. 2002. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in non-lactating beef cows. *J. Anim. Sci.* 80: 3053-3059.
- Wiltbank J.N. 1970. Research needs in beef cattle reproduction. *J. Anim. Sci.* 31, 755-762
- Wiltbank M.C., Gumen A., Sartori R. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 57: 21-52.
- Wiltbank M.C., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S., Gümen A. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, 65, 17-29.
- Wiltbank M.C., Carvalho P.D; Kaskin A; Hackbart K.S; Meschiatti M.A; Bastos M.R; Guenther J.N; Nascimento A.B; Herlihy M.M; Amundson M.C. 2011. Effect of the progesterone concentration during follicle development on subsequent ovulation, fertilization and early embryo development in lactating dairy cows. *Biol. Reprod.* 85 685.
- Yáñez D., Barbona I., López J.C., Moyano J.C., Quinteros R., Bernardi S., Marini P.R. 2016. Possible factors affecting pregnancy rate of cows in the amazon ecuatorian. *Proceedings, VI Peruvian Congress Animal Reproduction*, pp 66