



Genética y mejoramiento animal

Artículo de investigación científica y tecnológica

Comparación del protocolo CoSynch con y sin adición de progesterona y eCG sobre la tasa de preñez y el diámetro folicular en novillas *Bos indicus*

Comparison of the CoSynch Protocol with and Without the Addition of Progesterone and eCG on the Pregnancy Rate and Follicular Diameter in *Bos indicus* Heifers

 Roger Daniel Salgado Otero ^{1*}  Oscar David Vergara Garay ²
 Julia Edith Sehuanes Hoyos ¹  María Angélica Vergara Avilez ¹

¹ Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

*Autor de correspondencia: Roger Daniel Salgado Otero. Grupo de investigación GIPAT, Universidad de Córdoba, carrera 6 #77- 305, Montería, Colombia. rdalsgado@correo.unicordoba.edu.co

Recibido: 19 de septiembre de 2021
Aprobado: 09 de junio de 2023
Publicado: 21 de julio de 2023

Editor temático: Hernando Flórez Díaz, (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA]), Cereté, Colombia.

Para citar este artículo: Salgado Otero, R. D., Vergara Garay, O. D., Sehuanes Hoyos, J. E., & Vergara Avilez, M. A. (2023). Comparación del protocolo CoSynch con y sin adición de progesterona y eCG sobre la tasa de preñez y el diámetro folicular en novillas *Bos indicus*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 24(2), e2715. https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num2_art:2715

Resumen: La IATF es una herramienta biotecnológica que permite el control del ciclo estral de la hembra a través de la incorporación de compuestos hormonales que precisan el momento exacto del celo y la ovulación. La combinación de estos compuestos ha permitido el surgimiento de innumerables protocolos hormonales que buscan mejorar la sincronización. El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de protocolos hormonales a base de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) sobre la fertilidad de novillas *Bos indicus*. Se sincronizaron 180 novillas (cíclicas y acíclicas) de la raza Brahman. Los tratamientos experimentales correspondieron a tres protocolos que incluyeron las siguientes hormonas: GNRH-PGF2-GNRH (T1 y T2), DIB-GNRH-PGF2-GNRH (T3 y T4) y DIB-GNRH-PGF2-eCG-GNRH (T5 y T6). A los animales se les evaluó el tamaño del folículo preovulatorio y el diagnóstico de preñez por medio de ultrasonografía, con los protocolos de sincronización se obtuvo una tasa de preñez total de: 10,7 % (T1), 16,6 % (T2), 36,8 % (T3), 41,9 % (T4), 38,7 % (T5) y 27,68 % (T6). Se encontró un efecto ($p = 0,0803$) entre los tratamientos al realizar la comparación de proporciones de preñez y se encontró que el T1 y el T2 fueron estadísticamente iguales ($p > 0,05$) y lo mismo sucedió con los tratamientos T3, T4, T5 y T6, pero se encontraron diferencias ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos T1 y T2 al compararlos con los tratamientos T3, T4, T5 y T6; por otro lado, no hubo diferencias ($p \geq 0,05$) en el promedio del tamaño de folículo preovulatorio, siendo estos de 10,28 mm, 11,21 mm y 11,77 mm para las novillas sincronizadas con los tratamientos 1, 2 y 3, respectivamente. El uso de la hormona GnRH en combinación con la progesterona en protocolo Cosynch mejora significativamente las tasas de preñez en novillas *Bos indicus*, en comparación al protocolo Cosynch tradicional.

Palabras clave: Cosynch, folículos, hormonas, IATF, tasa de preñez.

Abstract: The IATF is a biotechnological tool that allows the control of the estrous cycle of the female through the incorporation of hormonal compounds that specify the exact moment of heat and ovulation. The combination of these compounds has allowed the emergence of countless hormonal protocols that seek to improve synchronization. The objective of this study was to evaluate the use of GnRH-based hormonal protocols on the fertility of *Bos indicus* heifers. A total of 180 clinically healthy Brahman heifers (cyclic and acyclic) with a body condition score of four were synchronized. The experimental treatments corresponded to three protocols that included the following hormones: GNRH-PGF2-GNRH (T1-T2), DIB-GNRH-PGF2-GNRH (T3-T4) and DIB-GNRH-PGF2-eCG-GNRH (T5 and T6). The animals were evaluated for preovulatory follicle size and pregnancy diagnosis by means of ultrasonography using an ALOKA Co., Ltda. UST-5820-5 ultrasound machine equipped with a 5MHz linear translator, the screen was divided into 2B mode, the image was frozen with the Freeze option. With the synchronization protocols, a total pregnancy rate of 10.7% (T1), 16.6% (T2) 36.8% (T3) 41.9% (T4) was obtained. 38.7% (T5) and 27.68% (T6). An effect ($P= 0.0803$) was found between the treatments when comparing pregnancy proportions, it was found that T 1 and T 2 were statistically equal ($p>0.05$). The same happened with treatments T6, T3, T5 and T4, but differences ($p\leq 0.05$) were found between treatments T1 and T2 when compared with Treatments T6, T3, T5 and T4. There were no differences ($P \geq 0.05$) in the average preovulatory follicle size, these being 10.28, 11.21 and 11.77 mm for heifers synchronized with treatments 1, 2 and 3 respectively. The use of the GnRH hormone in combination with progesterone in the Cosynch protocol significantly improves pregnancy rates in *Bos indicus* heifers, compared to the traditional Cosynch protocol.

Keywords: Cosynch, follicles, hormones, IATF, pregnancy rate.



Introducción

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) es una herramienta de la biotecnología reproductiva que contribuye al mejoramiento genético de los hatos ganaderos por el uso de toros de alto valor genético (Salgado et al., 2015). Esta técnica involucra el uso de protocolos hormonales de sincronización del estro y la ovulación, dentro de los cuales los tratamientos a base de estradiol asociados con dispositivos intravaginales de progesterona han logrado porcentajes de preñez de alrededor de un 50 % y, por tanto, son considerados los de elección (Bó et al., 2018), sin embargo, el uso de hormonas esteroidales está restringido en países como Estados Unidos y Nueva Zelanda y también en la Unión Europea, lo que genera la necesidad de desarrollar tratamientos alternos (Sistema de Información sobre Comercio Exterior, 2021).

La IATF y los nuevos protocolos de sincronización de la ovulación resultan en una opción interesante para aumentar el desempeño reproductivo sin la necesidad de la detección de celos (Bó & Baruselli, 2002). El desarrollo de la biotecnología reproductiva involucra el mejoramiento genético para rescatar las potencialidades productivas a través de la inseminación artificial y la IATF, lo cual incide en mejorar la genética a partir de la reproducción y su producción por medio del manejo del ciclo estral de la vaca, lo que garantiza una cría al año y así rescatar las características productivas en el tiempo, de generación en generación, con el uso de reproductores superiores a través del semen y a partir de los cruzamientos interraciales y la selección genética (Carvajal & Kerr, 2015). Así, la técnica de sincronización permite agrupar partos, reducir el intervalo entre ellos y obtener lotes de becerros uniformes en edad (González Stagnaro, 2001).

Por su parte, los tratamientos hormonales que combinan el uso de GnRH y PGF2 α han logrado sincronizar el estro y la ovulación en vacas lecheras y búfalos, pero en novillas los resultados han sido muy variables, reportándose dispersiones en el estro, persistencia de folículos y bajas tasas de ovulación (Barreiros Santos, et al., 2014); por lo tanto, y con el objetivo de disminuir la variabilidad de estos resultados, se han creado protocolos en combinación con dispositivos de liberación de progesterona (P4), dentro de los cuales se resalta el tratamiento P4-Cosynch que combina el uso de P4 con GnRH y PGF2 α , dando buenos resultados en la sincronización de vacas y novillas de razas lecheras y cárnicas (Colazo et al., 2017; Ferraz et al., 2016).

El objetivo de este estudio fue evaluar el protocolo CoSynch con y sin adición de progesterona y eCG sobre la tasa de preñez y el diámetro folicular en novillas *Bos indicus* y la hipótesis de este estudio fue que con el uso de la GnRH y el dispositivo se pueden obtener resultados similares en tasa de preñez al compararse con protocolos tradicionales de estradiol.

Materiales y métodos

Localización

La investigación se desarrolló en la finca El Búho, ubicada a 5 km de la vía que conduce del municipio de Caucasia a La Apartada, en el departamento de Antioquia, Colombia. Este municipio está ubicado a 7° 58' 46" latitud norte y a 75° 11' 40" longitud oeste, tiene una

temperatura promedio de 28 °C, está a 50 m s.n.m. y tiene una extensión de 1483 km² con precipitación media anual de 1993 mm.

Para el estudio, se escogieron 158 novillas *Bos indicus* con una condición corporal de 4 en escala de 1 a 5 (Lowman et al., 1976). Los animales estaban clínicamente sanos y sin ningún diagnóstico patológico al momento del chequeo reproductivo y se manejaron en pastoreo en praderas de *Brachiaria humidicola* y *Brachiaria dictyoneura*, suplementados con sal mineralizada al 8% y suministro de agua permanente.

Animales y tratamientos

Para el presente estudio se utilizaron un total de 158 novillas a las que se les evaluaron las estructuras ováricas para determinar su estado de ciclicidad y las que presentaron cuerpos lúteos o folículos con un diámetro > 9 mm se clasificaron como cíclicas, mientras que las que no presentaron ninguna de las dos estructuras se clasificaron como acíclicas, para un total de 97 novillas cíclicas y 61 acíclicas, las cuales fueron sometidas a seis tratamientos específicos.

Los animales del T1 (n = 28) fueron las novillas cíclicas y las del T2 fueron las novillas acíclicas (n = 12), a los cuales se les realizó un protocolo Cosynch convencional que consistió en la aplicación de 0,25 mg de gonadorelina (Fertagyl®, Over, Colombia) el día 0 del protocolo, donde siete días después se les aplicaron 25 mg de cloprostenol (Prostal®, Over, Colombia) y en el día 9 se utilizaron 0,25 mg de gonadorelina como inductor de ovulación y los animales fueron inseminados de inmediato (figura 1).

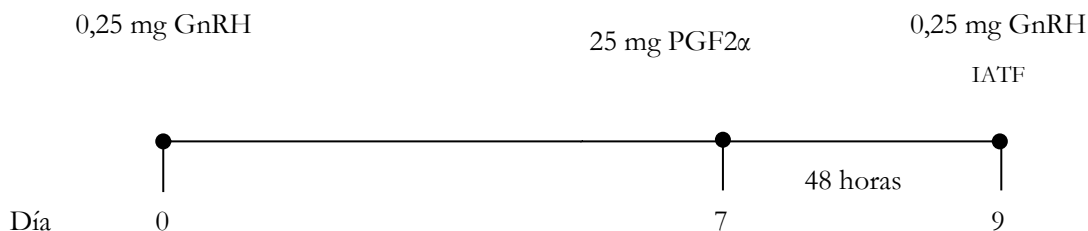


Figura 1. Novillas cíclicas-acíclicas con el protocolo Cosynch tradicional

Fuente: Elaboración propia

Los animales del T3 (n = 38) fueron novillas cíclicas y para el T4 fueron novillas acíclicas (n = 31). Las novillas se sincronizaron con el protocolo P4-Cosynch, para lo cual, en el día 0 del protocolo se les aplicó 0,25 mg de gonadorelina (Fertagyl®, Over, Colombia) y se les insertó un dispositivo intravaginal en monodosis con 0,5 g de progesterona (DIB®, Zoetis, Colombia), posterior a ello, el día 7 fue removida la fuente de P4 y se aplicaron 2 ml de cloprostenol (Prostal®, Over, Colombia) y a las 64 horas más tarde se indujo la ovulación mediante el empleo de 0,25 mg de gonadorelina y se realizó la IATF seguido a esto (figura 2).

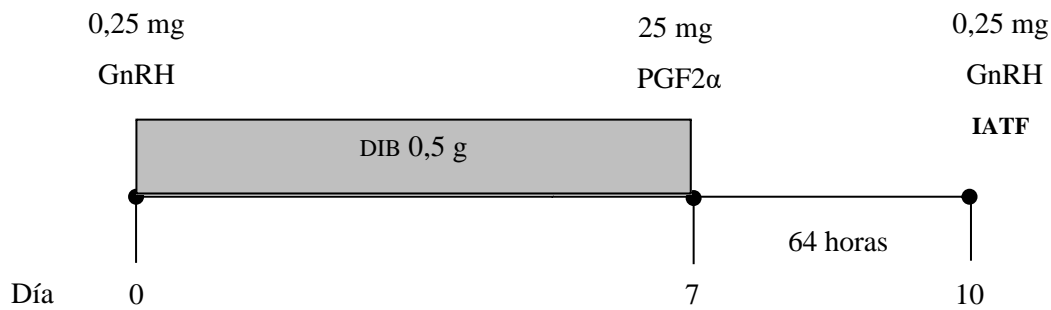


Figura 2. Novillas cíclicas-acíclicas con el protocolo Cosynch con progesterona
Fuente: Elaboración propia

Para el T5, las novillas fueron cíclicas ($n = 31$) y para el T6 las novillas fueron acíclicas ($n = 18$), donde todas se sincronizaron con el protocolo P4-Cosynch, anteriormente descrito, con la variante de que en el día siete fueron aplicadas 300 UI de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) (Novormon®, Zoetis, Colombia) (figura 3).

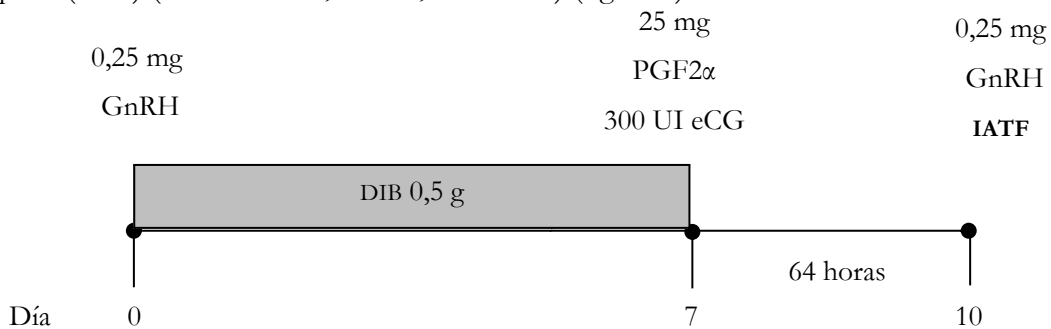


Figura 3. Novillas cíclicas-acíclicas con el protocolo Cosynch con progesterona y eCG
Fuente: Elaboración propia

Ultrasonografía ovárica, respuesta ovulatoria y diagnóstico de preñez

Las evaluaciones ultrasonográficas de los ovarios se realizaron con un ecógrafo Aloka Co., Ltda. UST-5820-5, equipado con un traductor lineal de 5MHz, con el cual se determinó el tamaño del folículo preovulatorio en el día 9 de los protocolos Cosynch tradicional con adición de progesterona y se determinó el día 10 para el tratamiento en el cual se le adicionó la eCG, luego, el diagnóstico de preñez se realizó 30 días posteriores a la IATF. Finalmente, la tasa de preñez fue calculada como el número de novillas preñadas, dividido por el número total de novillas expresada porcentualmente.

Análisis estadístico

Se realizó una prueba de independencia de chi cuadrado y una prueba de comparación de proporciones entre dos poblaciones.

Resultados y discusión

El desarrollo de protocolos de sincronización a base de la GnRH se basó en la combinación de tratamientos que permitieran controlar la dinámica folicular y la fase lútea, a tal punto que el tiempo de ovulación pudiera ser sincronizado con precisión.

Tabla 1. Porcentaje de preñez en novillas *Bos indicus* cíclicas y acíclicas sincronizadas con protocolo Cosynch

Tratamientos	# de animales	Novillas preñadas	Porcentaje de preñez (%)	Preñez total %
T1. Cosynch cíclicas	28	3	10,7a	12,5
T2. Cosynch acíclicas	12	2	16,6a	
T3. Cosynch cíclicas + P4	38	14	36,8b	39,13
T4 Cosynch Acíclicas + P4	31	13	41,9b	
T5 Cosynch cíclicas + p4 + eCG	31	12	38,7b	34,69
T6 Cosynch acíclicas + p4 + eCG	18	5	27,68b	
Total de animales	158			

Nota aclaratoria: las medias a y b difieren significativamente ($p = 0,0803$)

Fuente: Elaboración propia

Se encontró un efecto ($P = 0,0803$) entre los tratamientos evaluados sobre las tasas de preñez. Al realizar la comparación de proporciones de preñez entre los diferentes tratamientos, se encontró que el T1 y el T2 fueron estadísticamente iguales ($p > 0,05$) y de la misma manera sucedió con los tratamientos T3, T4, T5 y T6, pero se encontraron diferencias ($p \leq 0,05$) entre T1 y T2 al compararlos con T3, T4, T5 y T6.

Con T1 y T2, que correspondieron al Cosynch tradicional (novillas cíclicas y acíclicas, respectivamente), no se encontraron diferencias significativas, así, en el T1 se evaluó el protocolo Cosynch tradicional en novillas cíclicas en el que se obtuvo un porcentaje de preñez del 10,7 % y en el T2 se evaluó en novillas acíclicas, donde el porcentaje de preñez fue del 16,6 %, sin haber diferencias significativas entre los dos tratamientos ($p > 0,05$). Este resultado es similar al referenciado por Villa et al. (2007), quienes reportaron un 19,3 % en animales *B. indicus* y, al respecto, Colazo y Ambrosio (2011) evidenciaron que en animales del trópico y especialmente en las novillas *B. indicus*, solo el 31,7 % lograron obtener una respuesta ovulatoria al primer tratamiento con GnRH, lo que explica en gran manera los resultados de este protocolo.

Una consideración importante del tratamiento Cosynch (T1 y T2) y sus resultados reportados por la literatura sería lo relacionado con los aspectos fisiológicos, lo cual, para su efectividad, requiere que el 90 % de los animales ovulen tras la primera aplicación de GnRH en el día 0, con el fin de que los niveles de hormona folículo estimulante (FSH) circulantes puedan sincronizar

una nueva onda y permitir el crecimiento uniforme de los folículos, de lo contrario, si el folículo de la onda anterior no ovula en el día 0, se producirá una luteinización que retarda el reclutamiento (Bó et al., 2016; Peel et al., 2012; Ratzburg et al., 2020). Por este motivo, la eficacia de la GnRH para inducir la emergencia de una nueva onda es relativamente baja, cuando esta primera GnRH no logra inducir la emergencia de una nueva onda. Lo anterior favorece la formación de un folículo persistente que tiene dos desventajas: a) el estro se adelanta y la ovulación muchas veces ocurre antes de la IATF, disminuyendo la tasa de preñez (Martínez et al., 2002) y b) se forman folículos persistentes o envejecidos y el ovocito reinicia la meiosis antes de la ovulación, disminuyendo la fertilidad (Mihm et al., 1994; Ahmad et al., 1997).

En el presente trabajo, T1 y T2 fueron iniciados en días aleatorios del ciclo estral, donde no es controlable el tamaño folicular para que este pueda ejercer una buena sincronización, ya que se requiere de tamaños de folículos mayores a 8 mm para que haya una expresión de receptores de hormona luteinizante (LH) en las células de la teca interna del folículo y, así, se pueda ejercer un efecto adecuado en la sincronización de la onda (Bao et al., 1997; Rawan et al., 2015), lo que podría estar relacionado con el resultado obtenido en los tratamientos T1 y T2.

Al comparar T3, T4, T5 y T6 se encontró que no existen diferencias significativas estadísticas entre ellos, sin embargo, fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) a T1 y T2 (tabla 1). Por su parte, el porcentaje de preñez obtenido en novillas cíclicas y acíclicas cuando se adicionó la progesterona fue del 36,8 % y el 41,9 % (T3 y T4, respectivamente), donde estos porcentajes fueron similares a los obtenidos por autores como Lopes et al. (2013) y Madureira et al. (2020), quienes reportaron un 35,7 % y un 36,6 % en novillas *B. indicus* cruzadas.

Se puede observar en el presente estudio que estos resultados mejoran al incluir la fuente de progesterona, al compararse con T1 y T2. Así, el efecto de la progesterona podría ser explicado por lo reportado por autores como Bó (2020) y Oliveira et al. (2021), quienes describieron que la progesterona mejora la tasa de preñez, dado que esta impide la secreción de estrógenos endógenos e inhibina, lo que aumenta la secreción de FSH y el inicio de una nueva onda folicular. Con el retiro de la fuente exógena de progesterona y la posterior aplicación de GnRH al momento de la IATF, se genera una retroalimentación positiva sobre la hormona liberadora de gonadotropinas que incrementa la frecuencia de los pulsos de LH, que su vez ayuda a la maduración y la ovulación del folículo dominante, eventos fundamentales que garantizan la concepción (Bó, 2020; Oliveira et al., 2021).

Al incluir la eCG en el tratamiento Cosynch (T5 y T6) (38,7 % y 27,6 %, respectivamente) esto no mostró una diferencia significativa respecto a T3 y T4, donde estos resultados son similares a los de Menchaca et al. (2013), quienes alcanzaron un porcentaje de preñez de 44 % vs. 32 % para novillas con o sin eCG, respectivamente. Además, estos autores evidenciaron que existe una mejora estadísticamente significativa en hembras bovinas que no presentaron buena condición ni cuerpo lúteo (CL) al momento de la inserción de la progesterona, mientras que en esta investigación se trabajó con novillas con excelente condición corporal, siendo esta un promedio de 4, por lo tanto, se puede inferir que la hormona eCG no tuvo efecto, dado que los animales no necesitaban de un estímulo extra para aumentar el tamaño de los folículos preovulatorios (figura 4).

Por otra parte, al evaluar el uso del protocolo Cosynch modificado con el uso del dispositivo intravaginal entre novillas cíclicas y acíclicas no se obtuvieron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en los porcentajes de preñez, siendo estos de 36,8 % y 41,94 %, respectivamente (figura 4).

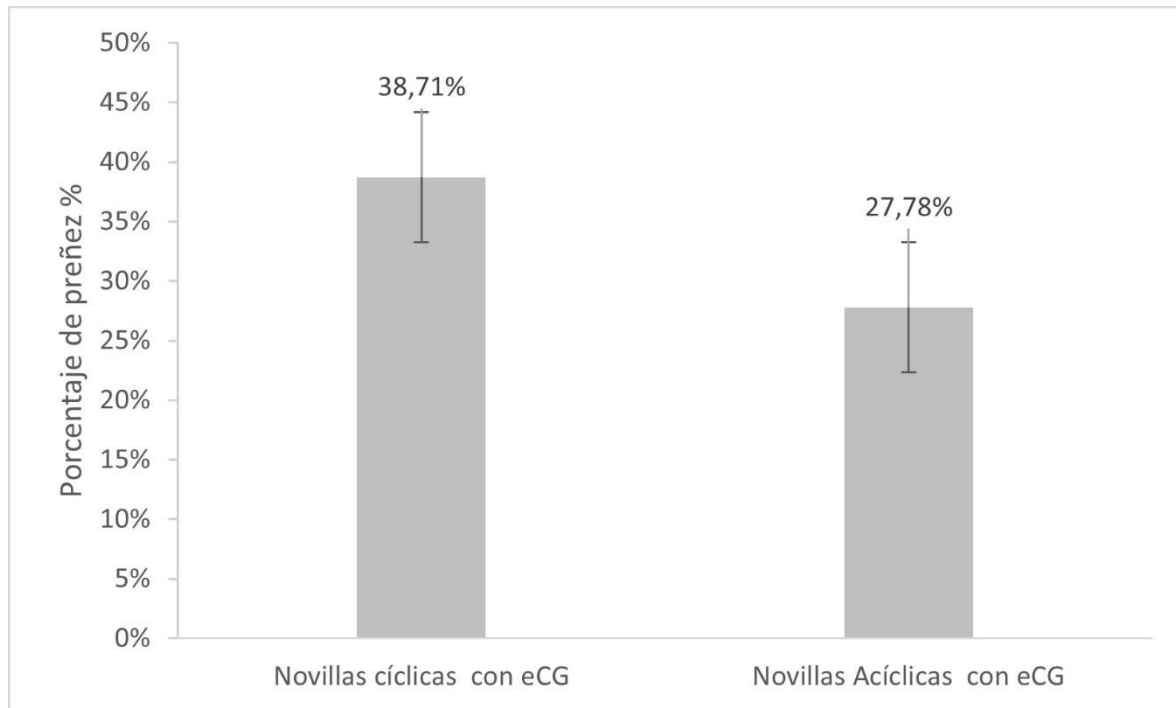


Figura 4. Resultado de preñez con uso de la hormona eCG en novillas cíclicas y acíclicas
Fuente: Elaboración propia

Lopes Helguera et al. (2018) y Bilbao et al. (2019) manifestaron que el uso de la hormona progesterona en animales cíclicos o acíclicos en el protocolo disminuye el periodo de dominancia del folículo, por lo tanto, el inicio de la onda es menos disperso y la sincronía del ciclo logra ser efectiva, de modo que los resultados obtenidos con el protocolo 2 demuestran una excelente respuesta tanto en novillas cíclicas como acíclicas, considerándose entonces como un tratamiento alternativo a los tradicionales.

Finalmente, en esta investigación se evaluó el tamaño promedio de los folículos preovulatorios al momento de la inseminación a tiempo fijo, evaluando T1 (Cosynch tradicional), T2 (Cosynch con adición de progesterona) y T3 (Cosynch con adición de eCG) independientemente de la ciclicidad, sin encontrar diferencias significativas entre los tratamientos ($P \geq 0,05$) (figura 5).

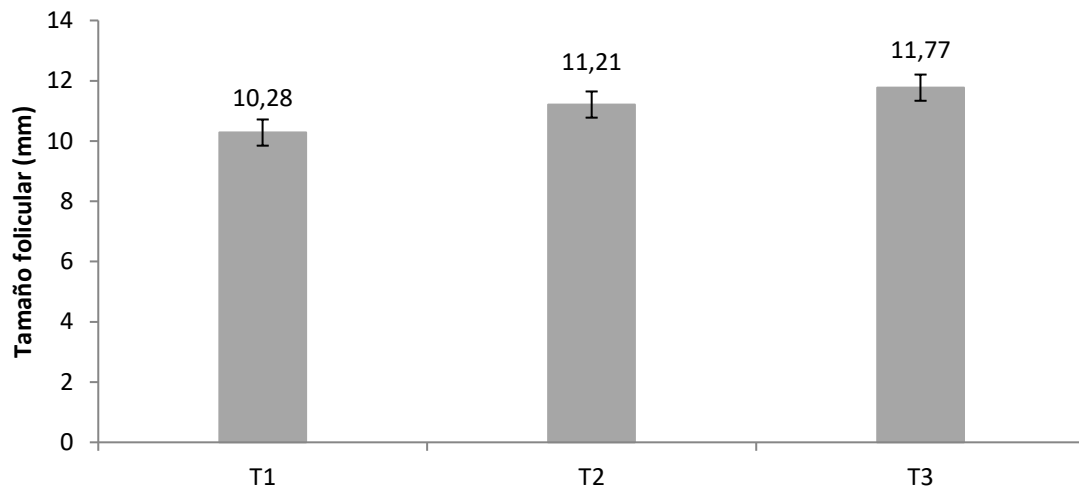


Figura 5. Promedio del tamaño folicular en novillas sometidas a tres protocolos hormonales
Fuente: Elaboración propia

El tamaño de los folículos preovulatorios ha sido evaluado por autores como Duica (2010), Palomino et al. (2020) y Scandolo et al. (2020), quienes reportaron valores promedio de 10,4 mm \pm 04, 11,8 mm \pm 07 y 11,6 mm \pm 0,7 mm, respectivamente, al día nueve del protocolo de sincronización en hembras bovinas *Bos indicus*; mientras que Guzmán (2018), al evaluar el efecto del diámetro del folículo al momento de la IATF y relacionarlo con las tasas de preñez en vacas Nelore, informó que el 8,0 % de los animales tenía folículos menores a 7,5 mm; el 39,7 % de la población tenía tamaños foliculares entre 7,5 y 11,0 mm; el 46,5 % entre 11,1 mm y 14,4 mm y solo el 5,6 % reportaron valores superiores a 14,4 mm, los cuales mencionaron que la tasa de preñez mejora cuanto mayor es el diámetro del folículo preovulatorio el día de la IATF, obteniendo la mejor tasa de preñez con respecto a los demás tratamientos cuando los animales tenían tamaños foliculares alrededor de 11,1 mm y 14,4 mm.

Ahora bien, en el presente estudio, al relacionar esta variable con el porcentaje de preñez obtenido por tratamiento (12,5 %, 39,13 % y 34,78 %, protocolos 1, 2 y 3, respectivamente) (figura 5), los resultados muestran que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y se puede considerar que hay un aumento a nivel porcentual en la tasa de preñez cuando el tamaño del folículo preovulatorio sobrepasa los 11 mm. Datos coincidentes de Gimenes et al. (2008) reportaron que en el ganado de *Bos indicus*, la respuesta ovulatoria es de 33 %, 80 % y 90 % en folículos con diámetros de 7-8,4 mm, 8,5-10 mm y > 10 mm, respectivamente.

En el T1, el tamaño promedio de los folículos ovulatorios fue de 10,8 mm, que al relacionarlo con el porcentaje de preñez de 12,5 % se podría inferir que el bajo porcentaje se debe a que las vacas inducidas a ovular folículos tienen diámetros menores a 11,5 mm y que tienen menos fertilidad debido a la formación de un CL pequeño que secreta menos concentraciones séricas de

P4 en la fase lútea subsiguiente vs. las vacas que ovulan folículos más grandes (Vasconcelos et al., 2001).

Por último, los resultados de este estudio no difieren cuando los folículos están entre 11,21 mm y 11,77 mm, datos coincidentes con los reportados por Sá Filho et al. (2010), quienes obtuvieron un porcentaje de preñez en vacas Nelore del 46,6 % cuando los folículos tenían un tamaño de 11,1 mm a 14,4 mm.

Conclusiones

El uso de la hormona GnRH en combinación con progesterona en protocolo Cosynch mejora significativamente la tasa de preñez en novillas *Bos indicus*, en comparación al protocolo Cosynch tradicional.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por la financiación del proyecto, a la finca El Búho por permitir la ejecución de este trabajo investigativo y a los revisores anónimos que ayudaron a mejorar el manuscrito.

Contribución de los autores

Oscar Vergara Garay: definición de variables a analizar, análisis estadísticos e interpretación de los datos; Roger Salgado Otero: interpretación de los datos y escritura, construcción de las gráficas y figura y revisión del artículo; Julia Sehuanes Hoyos: adquisición de fotografías, construcción de las gráficas, interpretación de los datos y escritura; María Angélica Vergara Avilez: construcción de las gráficas y figuras, interpretación de los datos y escritura. Adicionalmente, todos los autores revisaron y aprobaron el documento final.

Implicaciones éticas

La fase experimental se realizó con la asesoría del director, teniendo en cuenta los procesos y aspectos que minimicen las incomodidades, evitando al máximo la vulneración de las libertades del bienestar animal plasmadas en la Ley 1774 de 2016 y basándonos en las normas éticas contenidas en las leyes 84 de 1989 y 576 de 2000. También se cumplió con la política de ética de la investigación, bioética e integridad científica.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan que no existen conflictos de interés en este estudio.

Financiación

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por la financiación del proyecto y a la finca El Búho por permitir la ejecución de este trabajo investigativo.

Referencias

- Ahmad, N., Townsend, R., & Dailey, E. (1997). Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three follicular waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows. *Animal Reproduction Science*, 49(1), 13-28. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00057-2)
- Bao, B., Garverick, H. A., Smith, G. W., Smith, M. F., Salfen, B. E., & Youngquist, R. S. (1997). Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biology of Reproduction*, 56(5), 1158-1168. <https://doi.org/10.1095/biolreprod56.5.1158>
- Barreiros Santos, B., Morotti, E., Andrade, P., & Baruselli, P. (2014). Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*, 81(5), 651-656. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.12.008>
- Bilbao, M., Zapata, L., Romero, H., Pérez, S., Wallace, M., Farcey, L., & Bartolomé, J. (2019). Comparison between the 5-day cosynch and 7-day estradiol-based protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in suckled *Bos taurus* beef cows. *Theriogenology*, 131, 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.027>
- Bó, G. (2020). Pursuit of a means of manipulating ovarian function in the cow: An adventure of serendipity, collaboration and friendship. *Theriogenology*, 150, 480-489. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.010>
- Bó, B., & Baruselli, P. (2002). Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado bovino en regiones subtropicales y tropicales. En: C. Gonzales-Stagnaro, E. Soto Belloso y L. Ramírez Iglesias (eds.), *Avances de la Ganadería doble propósito* (pp. 499-514). Maracaibo, Venezuela: Fundación Giraz.
- Bó, G., De la Mata, J., Baruselli, P., & Menchaca, A. (2016). Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, 86(1), 388-396. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.053>
- Bó, G., Huguenine, E., De la Mata, J., Núñez, R., Baruselli, P., & Menchaca, A. (2018). Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Animal Reproduction*, 15(supl. 1), 952-962. <http://dx.doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0025>
- Carvajal, A. M., & Kerr, B. (2015). *Factores genéticos que influyen en la composición de la leche bovina*. Engormix. <http://bit.ly/2uLh8Qz>
- Colazo, M., & Ambrosio, D. (2011). Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affect pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch

- protocol. *Theriogenology*, 76(3), 578-588. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.03.013>
- Colazo, M., Whittaker, P., Bignell, D., & Mapletoft, R. (2017). Evaluation of a modified GnRH-based timed artificial insemination protocol associated with estrus detection in cyclic beef heifers inseminated with sexed selected semen. *Reproduction Fertility and Development*, 29(1), 112. <https://doi.org/10.1071/RDv29n1Ab9>
- Duica, A. (2010). *Efecto del diámetro del folículo ovulatorio, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona sobre la tasa de preñez en la hembra receptora de embriones bovinos* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bogotá]. Repositorio UNAL. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/7399>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.001>
- González Stagnaro, C. (2001). Parámetros, cálculos e índices aplicados en la evaluación de la eficiencia reproductiva. En: C. González-Stagnaro (Ed.), *Reproducción Bovina*. Maracaibo, Venezuela: Fundación Giraz.
- Guzmán, F. (2018). *Efecto del diámetro del folículo preovulatorio en el momento de la LATF y de la expresión de estró sobre la tasa de preñez en vacas Nelore con cría al pie* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina]. Repositorio Digital UNC. <http://hdl.handle.net/11086/6572>
- Ferraz, M., Pires, A., Biehl, M., Santos, M., Barroso, J., Goncalves, J., & Day, M. (2016). Comparison of two timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nelore cattle. *Theriogenology*, 86(8), 1939-1943. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.06.012>
- Lopes Helguera, I., Whittaker, P., Behrouzi, A., Mapletoft, R., & Colazo, M. (2018). Effect of initial GnRH and time of insemination on reproductive performance in cyclic and acyclic beef heifers subjected to a 5-d Co-synch plus progesterone protocol. *Theriogenology*, 106, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.001>
- Lopes, G., Johnson, C., Mendonça, L., Silva, P., Moraes, J., Ahmadzadeh, A., Dalton, J., & Chebel, R. (2013). Evaluation of reproductive and economic outcomes of dairy heifers inseminated at induced estrus or at fixed time after a 5-day or 7-day progesterone insert-based ovulation synchronization protocol. *Journal Dairy Science*, 96(3), 1612-1622. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5971>
- Lowman, B., Scott, N., & Somerville, N. (1976). *Condition scoring beef cattle*. Edimburgo, Escocia: Edinburgh School of Agriculture. <https://www.worldcat.org/title/condition-scoring-of-cattle/oclc/8589575?referer=di&ht=edition>
- Madureira, G., Consentini, J., Drum, J., Prata, A., Monteiro, P., Melo, J., & Sartori, R. (2020). Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. *Theriogenology*, 145, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.033>
- Martínez, M. F., Kastelic, J. P., Adams, G. P., Cook, R. B., Olson, W. O., Mapletoft, R. J. (2002). The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 57, 1049-1059. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00682-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00682-3)

- Menchaca, A., Núñez, R., Wijma, R., Garcia, C., Fabini, F., & de Castro, T. (2013). How fertility can be improved in fixed-time AI programs in beef cattle. En G. A. Bó, & M. Caccia (Eds.), *Proceedings X Symposium on Animal Reproduction* (pp. 103-134). Córdoba, Argentina: Institute of Animal Reproduction Cordoba (IRAC).
- Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M. P., Roche, J. F. (1994). Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 102, 123-130. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1020123>
- Oliveira, L., Valenza, A., Rodriguez, R., Da Silva, M., Barreiro, T., Lemos, J., & Sartori, R. (2021). Progesterone release profile and follicular development in Holstein cows receiving intravaginal progesterone devices. *Theriogenology*, 172, 207-215. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.001>
- Palomino, S., Grand, F., Vigneault, C., Blondin, P., & Sirard, M. (2020). Effects of follicular ablation and GnRH on synchronization of ovulation and conception rates in embryo recipient heifers. *Animal Reproduction Science*, 221, 0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106596>
- Peel, J., Seabrook, G., Seidel, J., Whittier, A., Grove, J., & Ahola, J. (2012). Effect of 2, 4, and 5-hour intervals between 2 prostaglandin F₂ α injections administered with 5-day CO-Synch + CIDR protocol on pregnancy rate in beef cows. *Animal Science*, 28(6), 623-627. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30420-4](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30420-4)
- Rawan, A., Yoshioka, S., Abe, H., & Acosta, T. (2015). Insulin-Like Growth Factor-1 Regulates the Expression of Luteinizing Hormone Receptor and Steroid Production in Bovine Granulosa Cells. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(2), 283-291. <https://doi.org/10.1111/rda.12486>
- Ratzburg, K., Jorgensen-Muga, K., Murugesan, J., Kastelic, J., Kasimanickam, V., & Kasimanickam, R. (2020). Presynchronization with CIDR, with or without GnRH, prior to CO-Synch in beef heifers. *Theriogenology*, 146, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.005>
- Salgado, O., Vergara, M., & Vergara, O. (2015). Impacto de la utilización de inseminación artificial con detección de celo e inseminación artificial a término fijo en vacas mestizas manejadas bajo el sistema doble propósito. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, XXV(1), 57-62. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95934122009>
- Sá Filho, M. F., Torres-Júnior, J. R., Penteado, L., Gimenes, L. U., Ferreira, R. M., & 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(2-4), 182-187. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.10.004>
- Scandolo, D., Dominguez, G., Bilbao, M., Perez, W., Zapata, L., Ravera, E., & Bartolomé, J. (2020). Efficacy of estradiol or GnRH in combination with progesterone intravaginal devices to control the follicular wave dynamics and resulting fertility in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 223, 0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106646>
- Sistema de Información sobre Comercio Exterior. (2021). *Comunidades Europeas - medidas que afectan a la carne y los productos cárnicos (hormonas); reclamación del Canadá*. <http://www.sice.oas.org/DISPUTE/wto/horca02s.asp>
- Vasconcelos, J., Sartori, R., Oliveira, H., Guenther, J., & Wiltbank, M. (2001). Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 56(2), 307-314. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9)

Villa, N., Morales, C., Granada, J., Mesa, H., Gómez, G., & Molina, J. (2007). Evaluación de cuatro protocolos de sincronización para inseminación a tiempo fijo en animales *Bos indicus* lactantes. *Revista Científica Maracaibo*, 17(5), 501-507.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000500010&lng=es&tlng=en