



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y
FORESTALES**

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**OPCIÓN TERMINAL
ÁREA PECUARIA**

**EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO Y COSTOS DE DOS
PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO EN BOVINOS
PRODUCTORES DE LECHE**

TESIS

QUE PRESENTA:

ING. MARVIN NOÉ FLORES SÁNCHEZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

**ASESOR: JOSÉ HERRERA CAMACHO
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

COMITÉ TUTORAL

Dr. Guillermo Salas Razo

MC. Juan Pablo Flores Padilla

MC. Juan Carlos Tinoco Magaña

MC. Antonio García Valladares

TARÍMBARO, MICHOACÁN, AGOSTO 2015

ÍNDICE

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Situación actual de la ganadería.....	5
2.2. Importancia de la reproducción	6
2.3. Generalidades del sistema endocrino.....	7
2.3.1. Mecanismo de acción de las hormonas	8
2.3.2. El hipotálamo	9
2.3.3. Hormonas del hipotálamo	10
2.3.4. Glándula hipófisis o pituitaria.....	12
2.3.5. Hormonas hipofisarias.....	12
2.3.6. Hormonas esteroideas	14
2.3.7. Hormonas derivadas de ácidos grasos no saturados.....	16
2.4. Ciclo estral	17
2.4.1. Fases del ciclo estral.....	17
2.5. Desarrollo folicular	19
2.6. Ovulación.....	20
2.7. Cuerpo lúteo.....	21
2.8. Balance energético negativo	22
2.9. Sincronización del ciclo estral	24
2.10. Medición de la concentración hormonal en la sangre.....	26
3. HIPÓTESIS	28
4. OBJETIVOS.....	28
4.1. Objetivo general.....	28
4.2. Objetivos específicos	28
5. MATERIALES Y MÉTODOS	29
5.1. Localización del área de estudio	29
5.2. Manejo de las vacas	29

5.3. Protocolos de sincronización	30
5.4. Detección de estros	31
5.5. Inseminación y diagnóstico de gestación.....	31
5.6. Variables evaluadas	31
5.7. Análisis estadístico	33
6. RESULTADOS.....	34
7. DISCUSIÓN.....	37
8. CONCLUSIONES	44
9. LITERATURA CITADA.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Determinación de los costos de concepción al primer servicio por tratamiento	33
Tabla 2. Respuesta reproductiva a protocolos de sincronización de estros con progestágenos (CIDR) en vacas Holstein.....	35
Tabla 3. Costos de concepción al primer servicio por tratamiento.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concentración de progesterona en plasma sanguíneo en vacas Holstein tratadas con protocolos de sincronización.....	35
--	----

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el desempeño reproductivo y los costos de concepción de dos protocolos de sincronización del estro en bovinos productores de leche. El estudio se realizó en una unidad de producción intensiva de ganado bovino productor de leche en el Municipio de Álvaro Obregón, Michoacán. Veintiún vacas de la raza Holstein de 45 a 80 d posparto, fueron distribuidas aleatoriamente en dos tratamientos o protocolos hormonales para sincronización de estro: Protocolo ECP (n=10): Día 0: Se insertó el dispositivo intravaginal de liberación controlada de drogas (CIDR, 1.9 g de P₄) + 2 mg de Benzoato de estradiol (BE), vía intramuscular (i.m.), por vaca. Día 8: Se retiró el CIDR y se aplicaron por vía i.m., 10 mg de Prostaglandina F_{2α} + 400 U.I de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) + 1 mg de Cipionato de Estradiol (ECP). Protocolo sin ECP (n=11): Similar al Protocolo ECP, excepto que al momento de retiro del dispositivo no se aplicó la dosis de ECP. Se evaluó el tiempo de presentación del estro (TPE, h), duración del estro (DEs, h), % de hembras en estro (% HE), % de concepción al primer servicio (% CPS), % de ovulación y costos de concepción. Los resultados del TPE y DEs fueron analizados mediante la prueba de t-Student, mientras que el porcentaje de HE, CPS y Ovulación, con una prueba de Chi-cuadrada (X²). El TPE fue menor (P<0.05) en el protocolo ECP (24.6±5.3 h) que en protocolo sin ECP (54.71±24.26 h). La DEs fue similar (P>0.05) en ambos protocolos (ECP; 12.2±1.69 y sin ECP; 12.3±2.06 h). El porcentaje de HE fue superior (P<0.05) en el protocolo ECP (100%), respecto al protocolo sin ECP (63.64%). El % CPS fue de 50% y 71.43% para los protocolos ECP y sin ECP, respectivamente (P>0.05). Las vacas de ambos protocolos de sincronización mostraron un % de ovulación del 100%. Los costos de concepción fueron de 1,632.00 MN\$ y 1,128.40 MN\$, para el protocolo ECP y sin ECP, respectivamente. No se encontró efecto de la aplicación del ECP sobre la DEs, % CPS y Ovulación, sin embargo se encontró que el protocolo ECP tuvo un mayor % HE y un menor TPE, en comparación al protocolo sin ECP. El protocolo sin ECP fue el que mostró un menor costo de concepción.

Palabras claves: hormonas, CIDR, estrógenos, eficiencia reproductiva, Holstein.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the reproductive performance and their costs of conception from two protocols of estrus synchronization in dairy cows. The study was conducted in an intensive production unit of milk cattle, in the municipality of Alvaro Obregón, Michoacán. Twenty-one Holstein cows from 45 to 80 postpartum days were distributed randomly in two treatments or hormonal protocols for estrus synchronization: ECP protocol (n=10): Day 0: The intravaginal device for controlled drugs release was inserted (CIDR, 1.9 g of P₄) + 2 mg of estradiol benzoate (EB), intramuscularly, per cow. At day 8: The CIDR was removed and 10 mg of prostaglandin F_{2α} + 400 I.U of equine chorionic gonadotropin (eCG) + 1 mg of estradiol cypionate (ECP) was applied intramuscularly. Protocol without ECP (n=11): Similar to CE protocol, but at the moment of device removal, the ECP dose was not applied. The parameters evaluated were: time of estrus presentation (TPE, h), duration of estrus (DEs, h), percentage of females in estrus, conception rate percentage to the first service, ovulation rate percentage and conception costs. The results of TPE and DEs were analyzed by t-student test, while the percentage of HE, CPS, ovulation was analyzed by a Chi-square (X²) test. The TPE was lower (P<0.05) in the ECP protocol than the protocol without ECP. The DEs was similar (P>0.05) in both protocols (ECP; 12.2±1.69 without ECP; 12.3±2.06 h). The HE percentage was higher (P<0.05) in the ECP protocol (100%), respecting to the protocol without ECP (63.64%). The CPS % was 50% and 71.43% for the ECP protocols and without ECP, respectively (P>0.05). The cows of both synchronization protocols showed ovulation percentage of 100%. The design costs were 1,632.00 MN\$ and 1,128.40 MN\$, for the ECP protocol and without ECP respectively. There was no effect of EDP on Des, % CPS and ovulation; however it was found that the ECP protocol had higher % HE and lower TPE, compared to the protocol without ECP. The protocol without ECP was the treatment that showed the lowest cost per cow conception.

Keywords: Hormones, CIDR, estrogens, reproductive efficiency, Holstein.

1. INTRODUCCIÓN

Se considera que la ganadería bovina es uno de los subsectores de mayor importancia en Centro América, y que en los últimos años la producción de leche ha tenido una tasa de crecimiento positivo de un 3% por año. En México se tiene una producción de 11 mil millones de toneladas de leche al año, pero dicha producción no logra suplir un consumo aparente *per capita* de 136 litros; por lo tanto se tienen que importar 5 mil millones de toneladas al año (CODEGALAC, 2013). Aun así la ganadería bovina en México es una de las actividades productivas más rentables (SAGARPA, 2005), donde la producción de leche, es una de las ramas de mayor relevancia a nivel nacional, ya que no solo se le confiere un alto valor por el tipo de alimento que aporta, sino que juega un papel fundamental dentro de la economía del sector primario e industrial (SAGARPA, 2004).

La ganadería bovina del Estado de Michoacán es la actividad que genera más empleos permanentes en el sector agropecuario, ocupando 100,608 empleos fijos, que equivale al 8.6% de la población económicamente activa de todo el Estado (Sánchez y Sánchez, 2005). De acuerdo a un censo realizado por IICA-COFUPRO (2010) la ganadería bovina de Michoacán ocupa el 41% de la superficie del territorio, sin embargo actualmente está perdiendo su competitividad y sustentabilidad, debido a la baja eficiencia reproductiva que presentan los hatos ganaderos.

La reproducción representa un factor importante en la determinación de la eficiencia reproductiva, y de igual forma en la rentabilidad de los hatos bovinos, debido a que una mayor eficiencia reproductiva representa un mayor número de becerros destetados y una mayor disponibilidad de animales para la selección de reemplazos y venta para pie de cría (Balls y Peters, 2004; Castillo *et al.*, 2012).

Uno de los principales problemas que afecta la eficiencia reproductiva son los eventos endocrinos que tienen lugar durante el periodo posparto, (Herrera *et al.*, 2012) y uno de los factores que influye sobre estos eventos es la nutrición (Espinoza *et al.*, 2010) y principalmente el balance energético negativo (Morales, 2012), esto debido a que después del

parto la vaca requiere de altas demandas de nutrientes para la síntesis de grandes volúmenes de leche, pero la limitada capacidad de consumo de alimentos y las inadecuadas concentraciones de nutrientes en los alimentos consumidos y en especial energía, producen un balance energético negativo (BEN); el cual se define como la diferencia entre la energía requerida por la vaca para su metabolismo basal y producción, comparada con la energía consumida a través de su alimentación. Este desbalance energético retarda el reinicio de los ciclos estrales posparto y dependiendo de su intensidad, puede limitar el crecimiento de los folículos ováricos (Henaó, 2001; Granja *et al.*, 2012) y si la restricción de energía fue antes y/o después del parto se ve afectada también la tasa de preñez (Freetly, 2006).

En los últimos años las vacas productoras de leche han presentado una reducción en la fertilidad, provocando que la eficiencia reproductiva sea cada vez más baja y considerándose como un problema general en todo el mundo (Lucy, 2001; Morales *et al.*, 2012; Mufeed y Mohammed, 2014). Morales *et al.*, (2000) mencionan que en México hace 30 años se lograba gestar no menos de 50% de las vacas después de un servicio ya sea de inseminación artificial o monta natural; sin embargo, actualmente es difícil lograr que geste el 35%. Ante esta situación, la implementación de tecnologías, como la manipulación del ciclo estral, mediante protocolos de sincronización del estro, podría mejorar los porcentajes de fertilidad o concepción de los sistemas de producción bovinos lecheros (Sá *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2009).

En este sentido, la sincronización del estro (SE) es una técnica que intenta mejorar la eficiencia reproductiva y productiva del hato (Carvajal, 2009), ya que permite agrupar la actividad reproductiva de un determinado número de hembras en un tiempo corto con el fin de darles servicio, ya sea por monta natural o inseminación artificial (IA). (Blanquet, 2003; Molina *et al.*, 2005; Carvajal, 2009; McKinniss, 2011).

Actualmente existen dos principios para realizar la sincronización del estro en bovinos. a) el uso de progestágenos utilizado para extender la fase lútea. b) Prostaglandinas y principalmente la prostaglandina $F_{2\alpha}$, que es una hormona uterina natural o sintética, cuya función es la lisis o regresión del cuerpo lúteo, acortando la duración de la fase lútea (Cabrera y Giménez, 2012).

También se han incorporado combinaciones de hormonas como la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y estradiol en los tratamientos con progestágenos, resultando en aceptables porcentajes de preñez (Colazo *et al.*, 2007).

En la sincronización del ciclo estral de los bovinos, se han utilizado diversos tratamientos a base de progesterona o progestágenos, en distintas presentaciones y métodos de aplicación, combinados generalmente con otras hormonas, los cuales han demostrado ser una herramienta satisfactoria como agentes sincronizadores (Hernández *et al.*, 2008). Un producto comercial a base de progestágenos empleado actualmente en programas de sincronización del estro es el dispositivo intravaginal de liberación controlada de droga (CIDR) (Peralta-Torres *et al.*, 2010). Se ha demostrado que la sincronización del estro a base de progestágenos (CIDR) con protocolos de corta duración, benzoato de estradiol al inicio, prostaglandina (Lutalyse), eCG (Folligon) y estradiol al momento de retiro del dispositivo, aumenta la eficiencia en la sincronía y la proporción de animales en estro durante el periodo de sincronización, lográndose hasta 90 % de animales en estro en las primeras 48 h posteriores al término del tratamiento (Perea, 2003; Cortes, 2006; Hernández *et al.*, 2008; Solórzano, 2008; Rosas *et al.*, 2011).

Peralta *et al.* (2010) realizaron un trabajo en la región centro del Municipio de Villahermosa, Tabasco, tratando vacas *Bos indicus* con CIDR. Encontraron que la aplicación de cipionato de estradiol (ECP) al momento de retirar el CIDR al día 9 después de insertado, se presentó un 72% de hembras en estro en las primeras 42h y un porcentaje de gestación del 51%. De igual forma Colazo *et al.* (2003) sincronizando vaquillas *Bos taurus* y realizando la inseminación a las 54 h después de retirado el dispositivo, encontraron que al aplicar el cipionato de estradiol (ECP) a las 0 h después de retirado el dispositivo el porcentaje de fertilidad fue de 52.5%, mientras que aplicándolo a las 24 h después de retirar el dispositivo se obtuvo un 65.3% de fertilidad. Zavala (2012) sincronizó vacas de la raza Bradford a las cuales les aplicó el siguiente protocolo de sincronización: Día 0. CIDR y 2 ml de BE. Día 8. Se retiró el dispositivo y se aplicó una dosis de 400 U.I de eCG + 0.5 mg de ECP, la inseminación se realizó a tiempo fijo a las 48 y 54 h después de retirado el dispositivo, encontrando un porcentaje de preñez del 43 y 44% respectivamente.

Stevenson *et al.* (2004) mencionan que la administración de ECP al momento de retiro del CIDR induce el pico preovulatorio de LH y por lo tanto la ovulación. Colazo *et al.* (2003) encontraron que aplicar una dosis de ECP al retiro del CIDR provoca una ovulación sincronizada y un porcentaje de gestación aceptable.

Cesaroni (2007), menciona que la utilización del cipionato de estradiol al momento del retiro del CIDR, provoca una nueva sincronización de la onda folicular o induce la ovulación de un folículo todavía no maduro, así como también puede presentar una mayor dispersión en el momento de la ovulación, provocando buenos resultados en cuanto a la presentación del celo; pero porcentajes de fertilidad muy bajos.

Por lo anterior, todavía existe mucha controversia en cuanto a la aplicación del cipionato de estradiol (ECP) al momento de retiro de un dispositivo intravaginal ya que en algunos trabajos provoca un efecto positivo; pero negativo en otros, y es que de acuerdo a Cesaroni (2007) las vacas presentan buenos resultados en cuanto a la presentación del celo; pero mostrando resultados de fertilidad muy bajos, ya que según Veiga *et al.* (2011) a las vacas que se les administra ECP presentan una mayor dispersión en el momento de la ovulación, es por eso que todavía se requiere de más información al respecto. Por lo tanto con la implementación de esta investigación se pretende evaluar que si aplicando ECP al momento de retirar el dispositivo tiene algún efecto positivo o negativo en cuanto al tiempo de presentación del estro, duración del estro, así mismo sobre el porcentaje de hembras en estro, de concepción al primer servicio y de ovulación, de igual forma demostrar que si los costos de concepción por vaca se ven afectados.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Situación actual de la ganadería

Mundialmente, la producción pecuaria está creciendo más deprisa que cualquier otro sector, y se prevé que para 2020 el sector ganadero será el sector agropecuario más importante en lo que respecta al valor agregado. El aumento rápido en la población y la creciente urbanización son algunos de los factores que están impulsando un enorme incremento de la demanda de alimentos de origen animal (leche, carne, huevos) en los países en desarrollo (ProChile, 2013).

En México la producción pecuaria es una de las actividades productivas más rentables, aportando el 45% del valor de la producción agropecuaria y que es equivalente al 95% del valor de la producción agrícola. En el país existen más de 3.4 millones de unidades de producción ganadera. La ganadería en su conjunto genera más de un millón de empleos permanentes remunerados. El crecimiento de la producción ha sido sostenido, pero insuficiente para satisfacer la demanda creciente por alimentos de origen pecuario. Las unidades de producción pecuaria se ubican a lo largo y ancho del territorio nacional, ocupando más de 110 millones de hectáreas del territorio (SAGARPA, 2007).

Actualmente en México se tiene un inventario de 32, 402, 461 cabezas de ganado bovino, dentro de las cuales 29, 992, 172 son de carne y 2,410, 289 destinadas a la producción de leche (SIAP, 2013). Según datos del Comité Nacional del Sistema Producto Bovinos Leche (2011) de 1993 a 2010 la tasa media anual de crecimiento (TMAC) del ganado de leche fue del 2.23 y del 2000 al 2010 del 1.4%. Teniéndose una producción de 10, 965, 632 millones de toneladas de leche al año; pero esta producción no es suficiente para satisfacer la demanda existente en el país, lo cual conlleva a importar leche de otros países, principalmente de Estados Unidos de donde se importa el 85% y lo restante de España y Nueva Zelanda (CODEGALAC, 2013; ProChile, 2013; SIAP, 2013).

La ganadería bovina del Estado de Michoacán fue de las primeras en establecerse en México (Sánchez y Sánchez, 2005), contando con un inventario de 1, 909, 078 cabezas de ganado bovino, en donde 63,358 cabezas son destinadas a la producción de leche y 1, 845, 720 cabezas para la producción de carne (SIAP, 2013).

2.2. Importancia de la reproducción

La reproducción es un importante componente que directa o indirectamente influye en la eficiencia económica de una explotación lechera, por lo tanto el mantenimiento de una alta eficiencia reproductiva en vacas es de suma importancia para garantizar la rentabilidad de la cría de ganado lechero. Lograr que las vacas más productoras se preñen en el momento óptimo después del parto es complicado (Flores *et al.*, 2007; Nishany *et al.*, 2013). Butler (1998) reporta datos en los cuales se muestra una clara reducción del porcentaje de concepción en los últimos 40 años, en este sentido en 1951 se lograba un 65% de concepción y en 1996 se obtenía un 40%.

Para considerar eficiente un hato ganadero y obtener una máxima eficiencia reproductiva, es necesario mantener intervalos entre partos de 365 días; sin embargo, para satisfacer esta meta, la concepción debe ocurrir antes de los 90 días después del parto, y de igual forma destetar a un becerro por año y producir gran cantidad de leche para su venta. De ahí que la eficiencia reproductiva es uno de los aspectos más importantes, que se debe tener en cuenta al evaluar la producción del ganado de leche, ya que el mejoramiento de dicha eficiencia tendrá un impacto económico considerable dentro del hato ganadero (Casares y Retamoza, 2003; INIA, 2004). Las ganancias o pérdidas económicas dependen de la capacidad del productor para lograr la máxima eficiencia reproductiva en los animales bajo explotación. Se estima que por cada día que una vaca excede un intervalo entre partos de 365 días, el productor pierde más de 50 pesos (Lucy *et al.*, 2004; SAGARPA, 2005; Portillo, 2008).

2.3. Generalidades del sistema endocrino

Los animales domésticos poseen unas estructuras denominadas glándulas endocrinas, las cuales secretan unas sustancias llamadas hormonas que, transportadas por la sangre, establecen la comunicación entre ellas para transmitir información beneficiosa y útil para el organismo. Este conjunto de tejidos y relaciones se denomina sistema endocrino. El sistema endocrino, desempeña un papel fundamental en la integración y desarrollo del organismo ante las etapas de crecimiento, el inicio y mantenimiento de las actividades reproductoras, metabólicas y las respuestas conductuales y ante variaciones del medio interno y externo. El sistema endocrino conjuntamente con el sistema nervioso interviene en respuestas de adaptación del animal ante cambios del ambiente (Ramírez, 2006).

Las hormonas son sustancias fisiológicas, orgánicas y químicas sintetizadas y secretadas por una glándula endocrina sin conducto, que entran al sistema circulatorio para ser transportadas. Las hormonas inhiben, estimulan o regulan la actividad funcional del órgano o tejido blanco. Sin embargo, órganos como el útero y el hipotálamo producen hormonas que no satisfacen la definición clásica de estas sustancias (Hafez *et al.*, 2005).

Las hormonas reproductivas se agrupan según su estructura bioquímica, en glucoproteínas, polipéptidos, esteroides, ácidos grasos y aminas. Según su estructura química se dividen en: A) Proteínas, hormonas polipeptídicas con un peso molecular de 300 a 70.000 daltons, como la oxitocina, FSH y LH. B) Esteroides, derivados del colesterol con un peso molecular de 300 a 400 daltons, por ejemplo, testosterona, estrógeno y progesterona. C) Ácidos grasos, derivados del ácido araquidónico, con un peso molecular alrededor de 400 daltons, por ejemplo, prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), y las Aminas, derivados de tirosina o triptófano, como por ejemplo, la melatonina (Gutiérrez, 2008).

Los órganos que normalmente se consideran endocrinos son: hipotálamo, hipófisis, tiroides, paratiroides, páncreas, suprarrenales, gónadas, y placenta (Frandsen *et al.*, 1995).

2.3.1. Mecanismo de acción de las hormonas

La acción de las hormonas comienza con su unión a un receptor específico de la célula diana. Las células que carecen de receptores para las hormonas no responden. Los receptores de algunas hormonas se localizan en la membrana de la célula efectora, mientras que en otros casos se encuentran en el citoplasma o en el núcleo. Cuando la hormona se combina con su receptor, se desencadena una cascada de reacciones en la célula: la activación se potencia en cada etapa, de forma que hasta una reducida concentración de la hormona puede ejercer un efecto sobre la célula u órgano blanco (Guyton *et al.*, 2001).

Con base en extensas investigaciones, se postula que los mecanismos de acción de las hormonas cuyo objetivo son las células de ciertos órganos, implican dos procesos. Uno es el estímulo intracelular directo de la transcripción del núcleo celular hecho por los cromosomas; el otro es el concepto de segundo mensajero. La estimulación intracelular directa de transcripción nuclear se da principalmente en las hormonas esteroides llevadas en la sangre. Una vez en el sitio celular adecuado, las hormonas dejan la sangre y cruzan la membrana plasmática hacia la célula. Una vez aquí, se cree que se unen a un receptor citosol específico para formar un complejo que es desplazado al núcleo donde actúa sobre los genes cromosómicos para activar o retardar el proceso de transcripción. Esto da por resultado la síntesis de RNA mensajero, el cual sale del núcleo y estimula la síntesis de proteínas y enzimas en el citoplasma mediante interacción ribosómica (Frandsen *et al.*, 1995).

El concepto de segundo mensajero comienza con la hormona presente en la sangre como primer mensajero, que es una proteína receptora específica de la membrana plasmática de la célula blanco. Se postula que esto activa la enzima adenil ciclasa de la membrana, la cual incrementa la formación de 3', 5'-AMP cíclico a partir de ATP en el citoplasma celular. Se cree que este AMP cíclico (AMPC) es el segundo mensajero. Este a su vez, cambia la concentración de Ca^{++} celular, lo que afecta la activación enzimática, la fosforilación de la proteincinasa y la velocidad de síntesis proteínica y de secreción hormonal (Frandsen *et al.*, 1995).

El sistema de segundo mensajero adenilil ciclasa-AMPC.

La unión de las hormonas al receptor permite que este se acople a una proteína G, que cuando estimula el sistema adenil ciclasa-AMPC, recibe el nombre de proteína G_s (del inglés, proteína G estimuladora). La estimulación de la adenilil ciclasa, una enzima unida a la membrana, por la acción de la proteína G_s cataliza la conversión de una pequeña cantidad de trifosfato de adenosina (ATP) del citoplasma en AMPC dentro de la célula. De esta forma se activa la proteian cinasa dependiente del AMPC, que fosforila proteínas específicas de la célula, desencadenando reacciones bioquimocas que, en última instancia, conducen a la respuesta celular a la hormona (Guyton *et al.*, 2001).

El AMPC no es el único segundo mensajero que emplean las distintas hormonas. Existen otros dos con una importancia esencial: a) los iones calcio y la calmodulina asociada a ellos y b) los productos de la degradación de los fosfolípidos de la membrana (Guyton *et al.*, 2001).

2.3.2. El hipotálamo

El hipotálamo ocupa sólo una pequeña parte del cerebro. Esta consiste en la región del tercer ventrículo, que se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares. Existen conexiones neurales entre el hipotálamo y el lóbulo posterior de la hipófisis a través del tracto hipotalámico-hipofisario y conexiones vasculares entre el hipotálamo y el lóbulo anterior de la hipófisis. La sangre arterial entra en la hipófisis a través de las arterias hipofisarias superior e inferior (Hafez *et al.*, 2002).

El mecanismo principal responsable de la función reproductiva es el eje hipotalámico-pituitario-gónadas. El área hipotalámica que controla la reproducción está representada por dispersas neuronas que producen la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), dichas neuronas están situadas en el cerebro anterior, principalmente en la parte preóptica, áreas hipotalámicas anteriores y ventromedial del hipotálamo, así como en el núcleo supraóptico, núcleo arqueado, hipotálamo basal medio y eminencia media.

La hormona GnRH es un decapeptido considerado como la molécula maestro para el control de la reproducción en los mamíferos; esta hormona controla la actividad gonadal mediante la regulación de la producción y liberación de las gonadotropinas de la hipófisis, hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH).

Estas gonadotropinas son responsables de la dinámica folicular ovárica, la producción de estrógenos, la ovulación y luteinización del cuerpo lúteo. Es bien conocido que la secreción pulsátil de GnRH induce un patrón idéntico de la secreción de LH y FSH aumentando la síntesis de dichas hormonas a nivel hipofisario (Tinoco, 2006; Andrade *et al.*, 2011; Parraguez *et al.*, 2012).

2.3.3. Hormonas del hipotálamo

Las principales hormonas liberadoras e inhibidoras hipotalámicas son las siguientes: 1) *Hormona liberadora de la tirotrópina (TRH)*, que produce la liberación de hormona tirotrópica. 2) *Hormona liberadora de la corticotrópina (CRH)*, que produce la liberación de corticotrópina. 3) *Hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH)*, que produce la liberación de hormona de crecimiento y hormona inhibitoria de la hormona de crecimiento (GHIH), denominada también somatostatina, que inhibe la liberación de la hormona de crecimiento. 4) *Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH)*, que produce la liberación de dos hormonas gonadotrópicas: Hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH). 5) *Hormona inhibidora de la prolactina (PIH)*, que produce la inhibición de la secreción de prolactina (Guyton *et al.*, 2001).

Entre las hormonas hipotalámicas de mayor importancia en la regulación de la reproducción se encuentra la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH o LHRH); ya que como respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisario para la liberación de LH y FSH de la hipófisis anterior (Hafez *et al.*, 2002).

Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

Las hormonas del hipotálamo que regulan la reproducción son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La GnRH es un decapeptido (10 aminoácidos) con un peso molecular de 1183 daltons. Este decapeptido es sintetizado y luego almacenado en el hipotálamo basal medio. La GnRH proporciona un enlace hormonal entre los sistemas neurales y endocrinos. En respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisario para la liberación de LH y FSH de la hipófisis anterior (Hafez *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008).

La secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la hembra es controlada por dos áreas separadas en el hipotálamo. El centro tónico es el responsable de la secreción basal de GnRH. El centro de ondas es el responsable de la liberación inicial de GnRH que estimula el pico preovulatorio de LH. La GnRH controla la síntesis y liberación de gonadotropinas hipofisarias a través de la unión a sus receptores específicos en la membrana plasmática de los gonadótropos. La hormona GnRH, se libera en forma de pulsos y además su secreción es regulada por efectos de feedback de los esteroides gonadales, los cuales comprenden procesos complejos que no son claramente entendidos (Prieto-Gómez *et al.*, 2002; Atuesta *et al.*, 2011).

El sitio de producción de la GnRH son neuronas productoras de GnRH. Estas neuronas que producen GnRH, tienen su origen embrionario fuera del sistema nervioso central, y derivan de la placoda olfatoria durante la gestación temprana; dichas neuronas migran hacia el hipotálamo, junto con o como parte del nervio terminal a través de la lámina cribiforme. Defectos en la migración de estas neuronas resultan en una deficiencia de GnRH (Prieto-Gómez *et al.*, 2002).

Los receptores a la GnRH se encuentran exclusivamente en membranas citoplasmáticas. El principal sitio blanco de esta hormona son las células gonadotropas de la adenohipófisis. Además de las acciones bien conocidas de la GnRH, hay evidencias de que existen receptores a esta hormona en el sistema nervioso central (SNC). En el cerebro, los principales sitios blancos para esta hormona son la amígdala y el hipocampo. Además, se encuentran sitios que fijan GnRH en núcleo arqueado, ventromedial y sustancia gris central.

La respuesta fisiológica a la unión de la GnRH a los gonadotropos es la liberación de gonadotrofinas (Prieto-Gómez *et al.*, 2002).

Sin embargo, hay otras respuestas celulares provocadas por esta hormona, entre ellas se incluyen: el aumento y la disminución en el número de receptores, desensibilización de los gonadotropos y la biosíntesis de los receptores a la GnRH y a las gonadotropinas (Prieto-Gómez *et al.*, 2002).

2.3.4. Glándula hipófisis o pituitaria

La hipófisis se localiza en la silla turca, una depresión ósea en la base del cerebro. La glándula se subdivide en tres partes anatómicas distintas: lóbulo anterior, intermedio y posterior (Hafez *et al.*, 2002).

La hipófisis anterior se considera que está integrada por las siguientes células secretoras de diferentes hormonas: corticotrópicas [secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH)]; gonadotrópicas [producir la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH)], lactótrofos [productores de prolactina]; somatotrópicas [secretan la hormona del crecimiento (GH)]; tirotrópicas [productores de la hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH)] y las mamotrópicas (Hafez *et al.*, 2002; Scanes *et al.*, 2005).

2.3.5. Hormonas hipofisarias

Después del transporte de GnRH desde el hipotálamo a la glándula pituitaria a través del sistema sanguíneo portal hipofisaria, la GnRH se une a su proteína G acoplada al receptor en la superficie celular de las células gonadotrofos. Esta unión libera calcio intracelular que activa intermediarios en el activando proteínas quinasas (MAPK) vía de señalización que culmina en la liberación de FSH y LH de compartimentos de almacenamiento en el citoplasma. FSH sólo se almacena en gránulos de secreción en el citoplasma durante cortos períodos de tiempo, mientras que la LH se almacena durante períodos más largos durante el ciclo estral (Forde *et al.*, 2011).

Las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas y liberadas por la hipófisis anterior, de donde se vierten al torrente sanguíneo para así alcanzar sus órganos blanco, por lo tanto están encargadas de conectar el hipotálamo con las gónadas y regular los ciclos sexuales. Su biosíntesis se realiza en las células gonadotropas que además, producen activina e inhibina. Ambas gonadotropinas están formadas por dos cadenas polipeptídicas (subunidades α y β) unidas por enlaces de hidrógeno. De igual forma ambas hormonas, favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir. La síntesis y la liberación de estas hormonas gonadotrópicas hipofisarias, son reguladas por la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas (GnRH), misma que provee el enlace entre los sistemas nervioso y endocrino (Brandan, 2002; Prieto-Gómez *et al.*, 2002).

Hormona Folículo Estimulante (FSH). Es una glicoproteína que promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o de Graff en la hembra, además inicia la secreción de la hormona sexual femenina (estrógenos). Aunque por sí sola no causa la secreción de estrógeno del ovario, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno (Prieto-Gómez *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008).

Hormona Luteinizante (LH). La Hormona luteinizante es una glucoproteína compuesta de una subunidad alfa y una beta con un peso molecular de 30.000 daltons y una actividad biológica de 30 minutos. Los niveles tónicos o basales de LH actúan conjuntamente con FSH para inducir la secreción de estrógeno del folículo ovárico grande (Hafez *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008). Su mecanismo de acción se efectúa a través de receptores de membrana, con el AMPc como segundo mensajero. Bioquímicamente, la LH produce en primer lugar aumento de pregnenolona y secundariamente de testosterona y estradiol, vía progesterona (Brandan, 2002).

La LH produce la ruptura del folículo y así se produce la ovulación y el folículo que nutrió por algún tiempo al óvulo, por efecto de esta hormona, crece y da origen al cuerpo lúteo, mismo que empieza a secretar progesterona, hormona indispensable en el embarazo (Prieto-Gómez *et al.*, 2002).

2.3.6. Hormonas esteroideas

Los ovarios y los testículos secretan primordialmente hormonas esteroideas gonadales. Las hormonas esteroideas secretadas por el ovario, los testículos, la placenta y la corteza suprarrenal tienen un núcleo básico o común llamado núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Este consiste en tres anillos fenantrenos, denominados A, B, C, con seis miembros totalmente hidrogenados (perhidro) y un anillo ciclopentano denominado D, con cinco miembros (Hafez *et al.*, 2002).

El E_2 y la P_4 son hormonas esteroideas derivadas de un precursor común, el colesterol; el cual, en los folículos mayores, es catalizado y convertido a pregnenolona por la enzima P450 (P450_{scc}), localizada en el interior de la membrana mitocondrial celular. La pregnenolona posee dos residuos hidrofílicos, haciéndola más móvil a través de la célula que el colesterol. Lo anterior permite que la pregnenolona se difunda fuera de la mitocondria hacia el retículo endoplasmático, donde es convertida a P_4 por la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β HSD). La unión de la LH con sus receptores en las células de la teca conduce a la conversión de la P_4 a andrógenos, a través de una serie de reacciones catalíticas. Luego, los andrógenos se difunden a las células de la granulosa y son convertidos a estrona y E_2 por la acción de la enzima aromatasa (Franco *et al.*, 2012).

Estrógeno. Esteroide de 18 carbonos, secretado por la teca interna del folículo ovárico es responsable del comportamiento sexual, características sexuales secundarias y posee un efecto anabólico. Los estrógenos derivan del ciclo-pentano-perhidro-fenantreno, poseen un núcleo esteroideal formado de tres anillos con seis carbonos cada uno y un ciclo pentano (Hafez *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2008).

Los estrógenos ejercen retroalimentación negativa sobre el centro tónico y positivo sobre el centro cíclico; así, el estrógeno en ausencia de progesterona, estimula la síntesis para receptores de GnRH en la hipófisis que, la vuelve más sensible a la GnRH estimulando la síntesis del pico de LH, que permiten la ovulación del folículo terciario o de Graaf, algunos autores refieren que la progesterona es producida en el cuerpo lúteo por acción de la LH y ejerce su acción después de que los órganos diana han sido estimulados por los estrógenos, preparando el útero principalmente para la gestación (Motta *et al.*, 2011).

El folículo más grande se describe como el folículo dominante y es el responsable de las mayores concentraciones circulantes de estradiol durante la fase folicular del ciclo estral. El incremento en la secreción de estradiol, durante la fase folicular del ciclo estral, es el resultado de una mayor liberación de gonadotropinas hipofisarias LH y FSH y un reflejo de la madurez del folículo preovulatorio que está asociada a un incremento en el contenido de receptores para LH en las células de la teca y granulosa (Atuesta *et al.*, 2011).

La secreción de estradiol resulta de la unión de la LH a su receptor en las células de la teca, que estimula la síntesis de andrógenos y de la FSH induciendo la aromatización de este sustrato a estradiol en las células de la granulosa. Elevados niveles de estradiol, junto con bajos niveles de progesterona, inducen profundos cambios comportamentales en la hembra; durante la fase folicular la hembra es sexualmente receptiva y la cópula ocurre; así mismo la descarga preovulatoria de LH es principalmente inducida y sostenida por la caída en las concentraciones de progesterona y el incremento en la secreción de estradiol; los estrógenos ejercen un efecto de feedback positivo sobre la secreción de LH aumentando la secreción de GnRH a nivel hipotalámico e incrementando la sensibilidad de los gonadotrofos a la GnRH a nivel hipofisario (Atuesta *et al.*, 2011).

Progesterona. La progesterona es el progestágeno natural más prevalente, y es secretada por células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal. La progesterona es transportada en la sangre por una globulina de enlace (Hafez *et al.*, 2002).

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria, cuya principal secreción es la progesterona que es necesaria para el establecimiento y mantenimiento de la preñez. La formación de cuerpo lúteo es iniciada por una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las células de la teca interna y las células de la granulosa del folículo preovulatorio. Estos cambios llamados “luteinización” ocurren después del pico preovulatorio de LH. La diferenciación en células capaces de producir progesterona en altas tasas es acompañado por el incremento en la expresión de enzimas necesarias para la conversión de colesterol a progesterona, es decir, el citocromo P450_{scc}, y la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -hsd) y una disminución de la expresión de enzimas que convierten progesterona a estrógenos, es decir, la 17 α -hidroxilasa y la enzima aromatasa.

Hay evidencia de que las células luteales de la granulosa producen el 80% de la progesterona, aunque poseen un menor número de receptores para LH que las células de la teca interna (Atuesta *et al.*, 2011).

Al igual que el estradiol, el principal sustrato para la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo es el colesterol. En condiciones normales, la mayoría del colesterol es sintetizado en el hígado y transportado a los tejidos esteroidogénicos (corteza adrenal, folículo, cuerpo lúteo) en forma de lipoproteínas. Las lipoproteínas de alta y baja densidad son las fuentes más comunes de colesterol para la producción de hormonas esteroideas por el cuerpo lúteo. El consumo de lipoproteínas de baja densidad por las células luteales ocurre por endocitosis mediada por receptores; sin embargo, el mecanismo por el cual las células luteales captan lipoproteínas de alta densidad no es conocido (Atuesta *et al.*, 2011).

2.3.7. Hormonas derivadas de ácidos grasos no saturados

Prostaglandinas. Las prostaglandinas se aislaron primero de líquidos de glándulas sexuales accesorias y se denominaron prostaglandinas por su asociación con la próstata. Todas las prostaglandinas son ácidos hidroxiinsaturados de 20 carbonos con un anillo ciclopentano. El ácido araquidónico, que es un ácido graso esencial, es el precursor de las prostaglandinas relacionadas más estrechamente con la reproducción, principalmente $\text{PGF}_{2\alpha}$ y prostaglandina E_2 (Hafez *et al.*, 2002).

Las prostaglandinas y en especial la prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ interviene en la regulación del ciclo estral mediante su efecto de luteólisis o regresión del cuerpo lúteo (Cabrera y Giménez, 2012; Rippe, 2009). Y es que alrededor del día 16 después de la ovulación, el endometrio no gestante liberará prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$). La $\text{PGF}_{2\alpha}$ es luteolítica, lo que significa que inicia la regresión del cuerpo lúteo. Esto trae como consecuencia que la concentración de la progesterona en la sangre descienda como resultado de la regresión del cuerpo lúteo, desapareciendo el bloqueo ejercido por la progesterona sobre la liberación de la GnRH. Ello dará lugar al inicio de una nueva fase de desarrollo folicular que finalizará con la formación de un folículo preovulatorio (Gutiérrez, 2008).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ se produce en el endometrio, siendo transportada por un mecanismo de contracorriente desde la vena uterina hasta la arteria ovárica, ejerciendo su acción específica o luteólisis sobre el cuerpo lúteo del ovario (Gutiérrez, 2008; Atuesta *et al.*, 2011).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ es sintetizada utilizando fosfolípidos de membrana como sustrato en una serie de reacciones que comprenden tres pasos, llamada ruta de las cicloxigenasas. La fosfolipasa A2 y C, localizadas en la membrana plasmática, hidrolizan los fosfolípidos de membrana, liberando ácido araquidónico que puede ser utilizado como sustrato para la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Posteriormente, la ciclooxigenasa (prostaglandina G/H sintetasa) cataliza el paso limitante en la biosíntesis de prostaglandinas, que es la conversión de ácido araquidónico a PGH_2 . Finalmente, la PGH_2 es convertida rápidamente a $\text{PGF}_{2\alpha}$ por la prostaglandina F sintetasa; la $\text{PGF}_{2\alpha}$ es liberada en una serie de 5 a 8 pulsos; aunque hay variabilidad entre especies en la duración y magnitud de los pulsos, típicamente ocurren a intervalos de 6 a 8 horas (Atuesta *et al.*, 2011).

2.4. Ciclo estral

El ciclo estral es el tiempo que ocurre entre dos periodos estrales, y varía normalmente entre 17 a 24 días, considerándose 21 días como el tiempo promedio. El ciclo estral está regulado por la interacción de varios órganos: entre ellos están el eje hipotálamo-hipófisis, gónadas (Rippe, 2009; Andrade *et al.*, 2011; Forde *et al.*, 2011). Los eventos endocrinos presentes durante el ciclo son regulados por el hipotálamo (mediante la secreción de GnRH), la hipófisis (secreción de LH y FSH), el folículo (secreta estrógenos e inhibina), el cuerpo lúteo (secreta progesterona y oxitocina) y el útero (productor de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$) (Atuesta *et al.*, 2011).

El ciclo estral representa el patrón cíclico de actividad ovárica que le permite a las hembras ir desde un período de no receptividad reproductiva en última instancia a la receptividad que permite el apareamiento y posterior establecimiento de la gestación (Forde *et al.*, 2011).

2.4.1. Fases del ciclo estral

El ciclo estral consta de dos grandes etapas, dependiendo de las estructuras ováricas predominantes: la fase folicular (3-6 días) y la fase lútea (14-18 días). La fase folicular inicia con la regresión del cuerpo lúteo y finaliza con la ovulación. Durante esta fase ocurre la

maduración folicular, por lo que el esteroide gonadal dominante es el estradiol. La fase lútea se refiere a la etapa del ciclo en la cual se forma y tiene su mayor funcionalidad el cuerpo lúteo, por lo tanto, la hormona dominante es la progesterona (Hafez *et al.*, 2002; Galina *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2011).

A su vez, con estas dos etapas pueden ser subdivididas de acuerdo con las características endocrinas y conductuales que manifiestan los animales en:

- Fase folicular: proestro y estro
- Fase lútea: metaestro y diestro

Proestro: Esta fase comienza cuando ocurre la regresión del cuerpo lúteo (CL) del ciclo anterior, y las concentraciones de progesterona disminuyen. Durante el proestro las concentraciones de FSH son bajas. Contrariamente, la LH por efecto del estradiol ha comenzado a incrementar la frecuencia de secreción y a disminuir la amplitud de sus pulsos, lo que acentúa la producción de andrógenos por las células de la teca y la capacidad aromática de la célula de la granulosa con el consecuente incremento en la producción de estradiol (Galina *et al.*, 2008). Durante esta fase las concentraciones plasmáticas de progesterona han disminuido notablemente a menos de 1 ng/ml como consecuencia de la luteólisis (Rathbone *et al.*, 1998).

Estro: El estro, también conocido como calor, es uno de los signos más visuales durante el ciclo estral. Es la etapa de receptividad sexual o calor donde la hembra busca activamente al macho, como acepta la monta y el apareamiento (USDA, 2004; Galina *et al.*, 2008). En el ganado bovino generalmente dura alrededor de 15 h, pero puede variar desde menos de 6 h a cerca de 24 h. En el ganado vacuno, es el período de tiempo en el que permite la monta por otros animales y es el período donde la hembra es sexualmente receptiva (USDA, 2004).

En esta etapa, en el ovario, el o los folículos en desarrollo alcanzan su madurez y tamaño preovulatorio, induciéndose las máximas concentraciones de estradiol. Durante este periodo se ejerce una retroalimentación positiva entre el estradiol y la LH, de modo que se produce el pico preovulatorio de LH que será responsable de la ovulación.

Los estrógenos inducen la secreción de GnRH y por lo tanto el pico preovulatorio de LH activando neuronas que contienen receptores a estradiol fuera de los centros productores de GnRH (Galina *et al.*, 2008).

Metaestro: Esta etapa principia cuando ha terminado la receptividad sexual y concluye en el momento en que hay un CL funcional bien establecido. Durante esta fase, el ovario contiene al CL que se desarrolla, llamado cuerpo hemorrágico, principalmente bajo influencia de LH.

Diestro: Esta se considera la etapa más larga del ciclo estral y se caracteriza por la plena funcionalidad del CL, abarcando desde que esta estructura es funcional hasta la destrucción del mismo. Durante esta fase, la progesterona alcanza sus máximas concentraciones y ejerce un efecto negativo en la liberación de LH debido a que inhibe la formación de receptores hipofisarios a GnRH, así como la secreción de GnRH (Galina *et al.*, 2008)

2.5. Desarrollo folicular

Los folículos ováricos en vacas crecen en oleadas. Una ola folicular se ha descrito como la aparición sincrónica de un grupo de folículos antrales de 4 a 5 mm de diámetro; un folículo se selecciona para llegar a ser dominante mientras que los restantes (subordinados) se convierten en atrésicos. Los ciclos estrales en el ganado se componen principalmente de dos o tres ondas foliculares; sin embargo, los ciclos de 4 ondas se han observado ocasionalmente en ganado *Bos indicus*. En los ciclos de 2 y 3 ondas, la aparición de la primera onda folicular se ha demostrado que puede ocurrir en el día de la ovulación.

Sin embargo, más estudios recientes sugieren que la emergencia de la onda folicular puede ocurrir 2 días antes de la ovulación, cuando los folículos son de 1 a 2 mm de diámetro. Basado en la aparición de folículos de 4 a 5 mm de diámetro, la segunda ola emerge en los días 9 y 10 en ciclos de 2 ondas, y en los días 8 o 9 en ciclos de 3 ondas, con la tercera ola emergente en los días 15 o 16 (Mapletoft *et al.*, 2009).

El reclutamiento de las ondas foliculares y selección del folículo dominante se basa en la capacidad de respuesta diferencial a la FSH y LH. En cada ciclo, el folículo dominante adquiere receptores de LH y continúa creciendo mientras que los subordinados (que siguen dependiendo de FSH) sufren atresia (Mapletoft *et al.*, 2009).

La supresión de LH, como consecuencia de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo (CL), hace que el folículo dominante finalmente cese las funciones metabólicas y se dé el retroceso; esto lleva a una nueva oleada de FSH y la emergencia de una nueva onda folicular. La regresión del cuerpo lúteo permite que la frecuencia del pulso de LH aumente, y el folículo dominante presente en ese momento aumenta su crecimiento; las concentraciones elevadas de estradiol resultan en una respuesta positiva sobre el eje hipotálamo-hipófisis, se da una oleada de LH y por lo tanto la ovulación (Mapletoft *et al.*, 2009).

2.6. Ovulación

Los folículos preovulatorios experimentan tres cambios principales durante el proceso ovulatorio: a) maduración citoplasmática y nuclear del oocito, b) pérdida de la cohesividad de las células del montículo ovárico entre las células de la capa granulosa y c) adelgazamiento y rotura de la pared folicular externa (Hafez *et al.*, 2002). La ovulación se produce como resultado de una interacción dinámica entre el pico de LH y factores locales, incluyendo esteroides, $\text{PGF}_{2\alpha}$ y péptidos de una manera dependiente del tiempo. El pico de LH provoca cambios estructurales y bioquímicos que conducen a la ruptura del folículo de Graaf, lo que resulta en la expulsión del ovocito y el desarrollo subsiguiente del CL. Además este evento está controlado por una compleja interacción de factores, incluidos los mecanismos endocrinos, mensajeros celulares, proteasas, cinasas y enzimas que activan y se ha comparado con una respuesta inflamatoria (Acosta *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 2011).

La oleada preovulatoria de gonadotropina inicialmente induce un incremento inmediato y temporal en las concentraciones de esteroides debido a un aumento en la secreción de progesterona y progestinas relacionadas. Más tarde, la secreción de estradiol y $\text{PGF}_{2\alpha}$ también aumenta (Hafez *et al.*, 2002).

El proceso de ovulación se inicia por el aumento de estradiol (E_2) a una concentración suficiente durante un tiempo determinado, en ausencia de circulación de progesterona (P_4), para inducir la liberación de GnRH desde el hipotálamo, que induce un aumento inmediato de LH (pico de LH) de la pituitaria, durante un tiempo aproximado de 10 h en el periodo preovulatorio. En respuesta al pico de LH, el folículo próximo a ovular, comenzará a experimentar cambios; se da el reinicio de la meiosis en el ovocito, ruptura folicular y, después de un retraso de aproximadamente 28 h en la vaca se da la ovulación (Kawate *et al.*, 2001; Wiltbank *et al.*, 2014; Soliman, 2014).

Durante la ovulación la FSH actúa como activador del plasminógeno, compuesto semejante a la colagenasa, el cual forma plasmina para degradar la teca y células foliculares. En este momento la $PGF_{2\alpha}$ estimula al músculo liso por fuera del folículo para que expulse al ovulo. Durante la ovulación puede ocurrir la rotura de un pequeño vaso, y entonces el folículo se llena de sangre, a lo cual se le denomina cuerpo hemorrágico (Frandsen *et al.*, 1995).

2.7. Cuerpo lúteo

La función principal del CL es producir concentraciones suficientes de progesterona durante toda la fase lútea del ciclo estral para apoyar la implantación, mantener la gestación y durante el embarazo, para disminuir la secreción de gonadotropinas y evitar que se dé el estro. En las vacas preñadas, el CL persiste y es compatible con el embarazo durante unos 280 días hasta el parto (Miyamoto *et al.*, 2009; Forde *et al.*, 2011; Miyamoto *et al.*, 2013).

El CL se origina en las células del folículo ovulatorio, la LH la principal hormona luteotrófica en el ganado, es responsable de estimular la luteinización de las células de la teca y de la granulosa del folículo preovulatorio en células lúteas (Forde *et al.*, 2011). La conversión de células foliculares en células lútea requiere cambios severos en la expresión de enzimas esteroidogénicas y el tipo de esteroide producido. El movimiento del colesterol desde el exterior a la membrana mitocondrial interna es un paso limitante de la velocidad en la síntesis de la progesterona en el ovario. Esta translocación es mediada por la proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR), una fosfoproteína expresada en las células esteroidogénicas (Khodadadi *et al.*, 2013).

La intensidad del proceso angiogénico dentro del CL alcanza su pico 2-3 días después de la ovulación. Por lo tanto, la mayoría de las células esteroidogénicas establecen contacto con uno o más capilares y el CL madurado se compone de muchas células vasculares endoteliales, que representan hasta el 50% de todas las células del CL (Acosta *et al.*, 2004; Miyamoto *et al.*, 2009). El desarrollo normal del cuerpo lúteo y su capacidad para producir progesterona, factores de crecimiento, factores angiogénicos, y sustancias vasoactivas es dependiente de su vascularización (suministro de flujo sanguíneo) (Acosta *et al.*, 2004).

Cuando la gestación no se produce, el útero comienza a liberar, de una manera pulsátil, la prostaglandina F_{2a} (PGF_{2α}) para inducir la regresión del cuerpo lúteo alrededor de los días 17-19 en la vaca. Esto induce directamente una disminución de P4 circulante. La PGF_{2α} al ser un agente luteolítico induce una disminución drástica en el volumen del CL y además reduce el flujo sanguíneo, permitiendo de esta manera que se dé la lisis del cuerpo lúteo (Miyamoto *et al.*, 2009; Miyamoto *et al.*, 2013).

2.8. Balance energético negativo

El aumento de la capacidad genética para la producción de leche, junto con cambios en el manejo nutricional y mayor tamaño de los rebaños se han asociado con una disminución de la fertilidad de las vacas lactantes en los EE.UU, Europa y otros países. Después del parto los requerimientos nutricionales cambian abruptamente, así como la producción de leche aumenta rápidamente, y por lo consiguiente las vacas sufren un balance energético negativo (BEN), ya que la ingesta dietética es insuficiente y no cumple con la demanda de nutrientes para la alta producción de leche (Butler, 2003; Nishany *et al.*, 2013). Este BEN se puede definir como la diferencia entre la energía consumida (Ec) por el animal y la energía requerida (Er) por el animal y se puede definir sobre una base diaria (Grummer, 2006).

El balance energético negativo en vacas lecheras después del parto se caracteriza por una baja concentración en la sangre de glucosa, insulina y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (Butler, 2003; Lomander, 2012); provocando una estimulación en la movilización de grasa que resulta en un aumento en los ácidos grasos no esterificados (AGNE) en sangre que son utilizados por el hígado. Estos ácidos grasos se utilizan como fuente de energía, pero

cuando la movilización de los AGNE es excesiva, se saturan las vías de metabolización de lípidos, y se generan vías hepáticas alternativas, entre las que se tiene la formación y exportación de cuerpos cetónicos y la formación y almacenamiento hepático de triglicéridos predisponiendo al desarrollo del síndrome cetosis-hígado-graso (Fernández, 2009; Lomander, 2012).

Las vacas en BEN están en alto riesgo de presentar anestro anovulatorio debido a que a pesar de que se desarrolla un folículo dominante este no ovula; los aumentos recurrentes de FSH cada 7 a 10 días después del parto permiten la aparición de ondas foliculares que dan desarrollo al folículo dominante; pero este no produce la concentración suficiente de estradiol para inducir un aumento en la GnRH, lo cual no solo suprime la secreción pulsátil de LH, sino que también reduce la capacidad de respuesta ovárica a la estimulación de LH, evitando que se presente la ovulación (Roche *et al.*, 2000; Butler, 2003).

Otro factor que afecta el proceso reproductivo debido al BEN es la reducción en la concentración de progesterona en el posparto temprano, siendo esta hormona necesaria en ese momento para la regulación de los cambios en el ambiente uterino haciéndolo propicio para el crecimiento y desarrollo del embrión (Roche *et al.*, 2000).

El BEN durante el principio de la lactación puede afectar negativamente el desarrollo folicular. Si las vacas presentan un balance energético negativo, la secreción de LH disminuye y estos folículos en desarrollo no evolucionan y terminan en atresia. La disminución de LH es consecuencia directa de una disminución en la secreción de GnRH (Bach, 2005).

Durante el balance energético negativo posparto la dinámica folicular se altera. El número de folículos grandes y la concentración de estradiol durante el periodo de anestro posparto son menores en vacas alimentadas con dietas deficientes en energía que en las que reciben alimento balanceado. En las vacas subnutridas el nivel de estradiol producido por los folículos de cada onda folicular es menor que el de las vacas que reciben dietas balanceadas (Henao, 2001).

En condiciones normales el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), es una hormona folicular que estimula los receptores de FSH en las células de la granulosa para aumentar la síntesis de estradiol y contribuir con el proceso de selección folicular; pero en vacas subnutridas las concentraciones de I (IGF-I) son bajas, contribuyendo a una menor síntesis de estradiol folicular y a la prolongación del tiempo parto a la primera ovulación (Hena, 2001).

2.9. Sincronización del ciclo estral

Una de las formas de disminuir el intervalo parto-concepción es sincronizando y/o induciendo los celos y las ovulaciones (Rodríguez, 2003). La sincronización del ciclo estral con tratamientos hormonales permite que un determinado número de hembras agrupe su actividad reproductiva en un tiempo determinado con el fin de darles servicio, ya sea por monta natural o inseminación artificial (Blanquet, 2003; Rodríguez, 2003; Molina *et al.*, 2005).

Programas de sincronización de estro exitosos deben ser capaces de controlar tanto la luteólisis y la emergencia de la onda folicular con el fin de proporcionar una baja variación en la respuesta del estro sin comprometer la fertilidad. Para ser prácticos, el programa debe ser simple, corto y rentable con un mínimo de estrés para el animal de una manipulación excesiva (Niasari-Naslaji *et al.*, 2001).

En la sincronización del ciclo estral de los bovinos, se utilizan diversos tratamientos a base de progestágenos, los cuales han mostrado resultados satisfactorios, respecto al uso de otros hormonales en cuanto a la respuesta reproductiva, entre estos progestágenos se encuentran los dispositivos intravaginales impregnados con progesterona, implantes subcutáneos de norgestomet y progestágenos de administración oral como (MGA) acetato de melengestrol (Bó *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2008; Martemucci *et al.*, 2011).

Entre los dispositivos intravaginales se encuentra el CIDR, el cual se aplica de forma intravaginal durante 7-9 días y al momento de retiro del dispositivo se aplica una inyección de $PGF_{2\alpha}$ mas una de gonadotropina coriónica equina (eCG). Además en estos tratamientos con P_4 exógeno (CIDR) es necesario utilizar estradiol (EB o ECP) al momento de inserción del dispositivo y de esta forma se suprime la liberación de FSH y el crecimiento folicular,

provocando atresia en los folículos en crecimiento y resulte, de esta manera, el desarrollo de una nueva onda folicular. El intervalo entre la aplicación de tratamiento y comienzo de una nueva onda folicular varía de 3 a 6 días (Bó *et al.*, 2002; Martemucci *et al.*, 2011; Vasconcelos *et al.*, 2014).

En una serie de experimentos se demostró que el tratamiento con progestágenos y estradiol-17 β (E-17 β) o benzoato de estradiol (BE), administrados en cualquier momento del ciclo estral, inducen el crecimiento sincrónico de una nueva onda folicular, aproximadamente 4 días después. El tratamiento con dispositivos intravaginales CIDR-B (InterAg, New Zeland; Boehringer-Ingelheim, Argentina) combinados con E-17 β y P₄, administrados por vía intramuscular (im), resultó en el comienzo sincrónico de una nueva onda folicular 3 a 5 días después, dando como resultado que todas las vaquillonas tuvieran un folículo dominante en la fase de crecimiento en el momento de la remoción del CIDR-B en el Día 7. En otros trabajos también se observó que para tener mayores índices de preñez en programas de IATF había que inducir la ovulación utilizando una segunda dosis de estradiol (Bó *et al.*, 2002)

Los progestágenos naturales o sintéticos son una estrategia flexible, ya que pueden ser utilizados durante el anestro o la estación reproductiva, además son muy utilizados para el control de la reproducción cuando se tienen programas de inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones (ET). Inicialmente, los métodos utilizados para controlar el ciclo estral mediante progestágenos involucraron la extensión del período de diestro por un tiempo suficiente para permitir la ocurrencia espontánea de la luteólisis durante el período de tratamiento. Los tratamientos resultan en un alto porcentaje de animales demostrando comportamiento estral, pero la fertilidad es menor que durante un celo espontáneo (Viñoles, 2011; Fleisch *et al.*, 2012)

El objetivo de la administración de gonadotropinas al finalizar el tratamiento es asegurar la sincronía de la ovulación. El más utilizado de estos tratamientos es la gonadotropina coriónica equina (eCG), aplicada en dosis de entre 200 y 500 UI (Viñoles, 2011). En cuanto a las prostaglandinas estas se utilizan con el propósito de provocar la lisis de posibles cuerpos lúteos presentes después de retirado el dispositivo. Una sola administración de PGF_{2 α} es capaz de inducir luteólisis (Holm *et al.*, 2008; Martemucci *et al.*, 2011).

Trabajos realizados por Sales *et al.*, (2012), en los cuales utilizaron vacas de carne *Bos indicus*, sometidas a un protocolo de sincronización: Día 0, CIDR+2 mg de benzoato de estradiol (BE); día 8 se retiró el dispositivo y se aplicó 1 mg de cipionato de estradiol (ECP) + 300 UI de eCG y 500 microgramos de PGF_{2α}. Obtuvieron una tasa de ovulación de 82.8% y un porcentaje de fertilidad del 61.8%. Otro trabajo realizado por Pereira *et al.*, (2014), los cuales trataron vacas de la raza Holstein aplicando el día 0 un CIDR+2 mg de benzoato de estradiol, al día 7 se aplicó 25 mg de dinoprost trometamina y al día 8 se retiró el dispositivo y se aplicó 1 mg de cipionato de estradiol. El diagnóstico de gestación se realizó al día 32 después de inseminadas y se obtuvo un porcentaje de gestación de 43.9%.

2.10. Medición de la concentración hormonal en la sangre

La cantidad de la mayoría de las hormonas en la sangre es minúscula y a veces se detectan concentraciones de tan solo un millardo de miligramo (1 picogramo) por mililitro. Por consiguiente, resulta muy complicado medir estas concentraciones con los medios químicos tradicionales. No obstante, hará unos 35 años se desarrolló un método sumamente sensible que revolucionó la medición de las hormonas, de sus precursores y de los productos finales de su metabolismo. Se trata del radioinmunoanálisis (RIA) (Guyton *et al.*, 2001).

El radioinmunoanálisis se basa en el siguiente principio. En primer lugar, se produce un anticuerpo con gran especificidad por la hormona que se desea medir. En segundo lugar, se toma una pequeña cantidad de este anticuerpo, que 1) se mezcla con cierta cantidad de líquido extraído del anticuerpo que contiene la hormona objeto de la medición y 2) se mezcla de forma simultánea con una cantidad adecuada de la hormona patrón purificada que se ha marcado con un isótopo radiactivo.

Sin embargo, es preciso que se cumpla un requisito específico: la cantidad de anticuerpo debe ser lo bastante reducida para que no se produzca su unión completa a la hormona marcada radiactivamente y a la hormona contenida en el líquido que se va a analizar. Por consiguiente, la hormona natural del líquido analizado y la hormona patrón radiactivo compiten por los lugares de unión del anticuerpo.

Durante esta competencia, la cantidad de las dos hormonas (natural y radiactiva) que se une al anticuerpo será proporcional a su concentración en el líquido evaluado (Guyton *et al.*, 2001).

En tercer lugar, cuando la unión ha alcanzado su equilibrio, se separa el complejo anticuerpo hormona del resto de la solución, y se mide con técnicas de recuento radiactivo la cantidad de hormona marcada que se ha unido al complejo. Si la cantidad de hormona radiactiva ligada al anticuerpo es elevada, no cabe duda de que solo existía una pequeña porción de la hormona natural para competir con la radiactiva y, por lo tanto, la concentración de la hormona natural en el líquido estudiado era pequeña. Por el contrario, si sólo se une una pequeña cantidad de hormona radiactiva, la cantidad de hormona natural que competía por los lugares de unión era elevada (Guyton *et al.*, 2001).

3. HIPÓTESIS

El protocolo de sincronización del estro sin la administración de cipionato de estradiol (ECP), mejorará el desempeño reproductivo y disminuirá los costos de concepción por vaca, en comparación al protocolo ECP.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el desempeño reproductivo y los costos de concepción por vaca de dos protocolos de sincronización del estro en bovinos productores de leche.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar de cada protocolo de sincronización el tiempo de presentación del estro, duración del estro y porcentaje de hembras en estro.
- Determinar de cada protocolo de sincronización el porcentaje de concepción al primer servicio.
- Determinar mediante la medición de los niveles de progesterona en la sangre, el porcentaje de ovulación de las vacas tratadas con cada protocolo de sincronización.
- Determinar los costos de concepción al primer servicio por tratamiento.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del área de estudio

La investigación se desarrolló en la unidad de producción bovina intensiva “Potrero Verde”, ubicada en el Municipio de Álvaro Obregón, al norte del estado de Michoacán, región de clima templado con lluvias en verano (Cwb) a una altura promedio de 1800 m.s.n.m., precipitación pluvial anual de 918.8 milímetros cúbicos y una temperatura promedio de 26°C. Se localiza en la coordenadas de 19°48' latitud norte y 101°02" longitud (INAFED, 2015).

El “Rancho Potrero Verde” tiene como finalidad el rubro de ganado bovino productor de leche de la raza Holstein, contando con una cantidad de 146 animales en total, divididos de acuerdo a su estado reproductivo en: 80 vacas en producción, 40 terneras y 26 becerras. La producción promedio de leche en el rancho es de 23 litros/vaca/día. La alimentación base de las vacas en producción fue mediante el suministro de alfalfa fresca (*Medicago sativa*), ensilaje de maíz (*Zea mays*), más una suplementación de 1kg de concentrado por cada 3 litros de leche producido, esta suplementación se suministró distribuida 4 veces al día en comederos individuales. El rancho utiliza la técnica de inseminación artificial y sólo se dirige monta natural a vacas con problemas reproductivos.

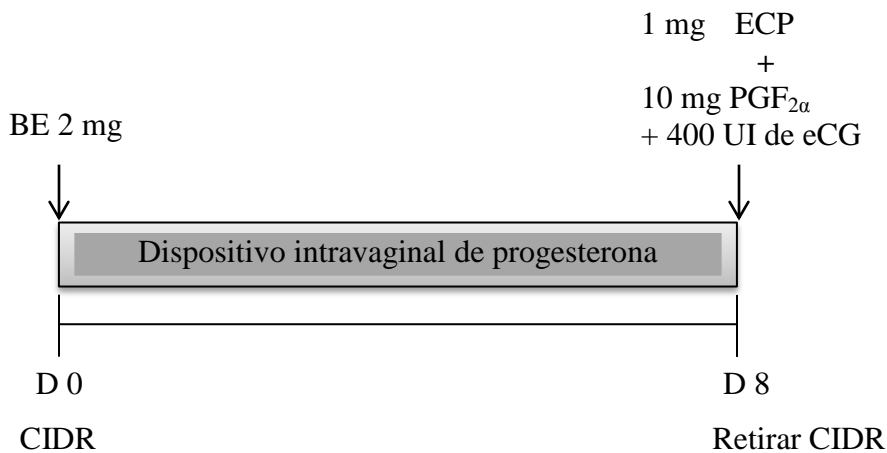
5.2. Manejo de las vacas

Se seleccionaron 21 hembras de la raza Holstein con una edad promedio de 4 años, un peso promedio de 500 kg, condición corporal (CC) ≥ 3.5 puntos (en la escala de 1-5 según Ruegg *et al.*, (1995), 45-80 días posparto, sin anomalías posparto y clínicamente sanas. Se llevó a cabo un diagnóstico con ultrasonografía, con el objetivo de determinar el estado reproductivo de las hembras. El total de las hembras se dividieron aleatoriamente en un protocolo con cipionato de estradiol (ECP) y otro sin ECP.

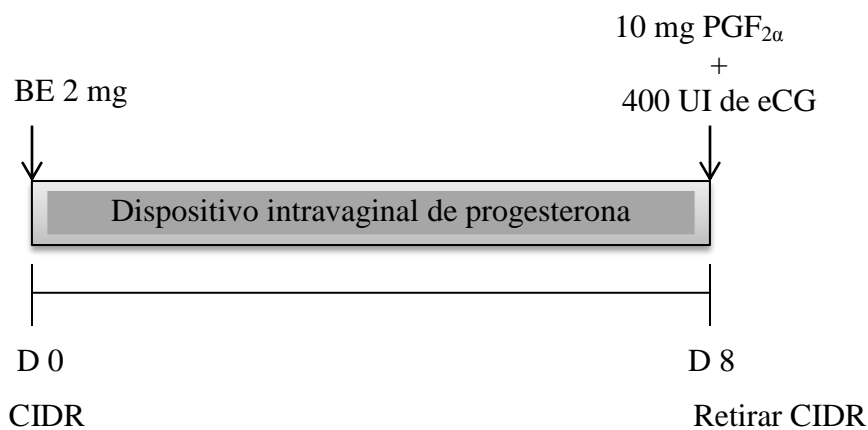
5.3. Protocolos de sincronización

Los protocolos de sincronización del estro implementados fueron:

Protocolo ECP (n=10): Cada vaca de este grupo se le aplicó al día 0 un CIDR impregnado con 1.9 g. de progesterona natural colocado intravaginalmente, más una dosis de 2mg de benzoato de estradiol (Benzoato de estradiol Virbac, México) vía intramuscular (i.m). Los dispositivos se retiraron el día 8 y se aplicó vía i.m., 10 mg de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Lutalyse Pfizer, México), 400 UI de Gonadotropina Coriónica equina (Folligon Intervet, México).y 1 mg de cipionato de estradiol (ECP Zoetis, México).



Protocolo sin ECP (n=11): Cada vaca fue tratada como se describe en el protocolo ECP, únicamente sin la aplicación de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis, México) al retiro del dispositivo.



5.4. Detección de estros

Ocho horas después de retirar el dispositivo se procedió a detectar el estro, con un intervalo de 4 h hasta las 96 h, esto con el objetivo de determinar el tiempo de presentación del estro (TPE), duración del estro (DEs) y porcentaje de hembras en estro (%HE). El criterio de estro manifiesto fue la inmovilidad de las vacas al recibir la monta por otro animal.

5.5. Inseminación y diagnóstico de gestación

La inseminación de las vacas se realizó por un mismo técnico 12 h post inicio del estro, en hembras que no exhibieron estro se realizó a las 72 h post retiro del CIDR.

El diagnóstico de gestación se realizó a los 45 días después de inseminadas, mediante ecografía en tiempo real por vía transrectal a 7.5 Mhz (EMP 820Plus Vet)

5.6. Variables evaluadas

a). Tiempo de presentación del estro (TPE)

El TPE se consideró como el tiempo (h) que transcurrió entre el momento de retiro del CIDR y aparición del estro.

b). Duración del estro (DEs)

La DE se definió como el tiempo (h) que transcurrió entre el inicio y final del estro

c). Porcentaje de hembras en estro (% HE)

El % HE se determinó mediante la siguiente formula:

$$\%HE = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hembras en estro}}{\text{N}^\circ \text{ de hembras tratadas}} \times 100$$

d). Porcentaje de concepción al primer servicio (% CPS)

El porcentaje de concepción a primer servicio (% CPS) se estimó por medio de la siguiente formula:

$$\%CPS = + \frac{\text{N}^\circ \text{ de vacas gestantes al primer servicio}}{\text{N}^\circ \text{ de vacas inseminadas}} \times 100$$

e). Porcentaje de ovulación

La tasa de ovulación se determinó en 7 hembras del protocolo ECP y 8 del protocolo sin ECP, mediante la medición directa de niveles de progesterona en plasma sanguíneo. Esta variable se determinó con la intención de ver que si algunas vacas muestran celos silenciosos y llegan a ovular, así como también vacas que muestran comportamiento estral y no ovulan. Se tomó como referencia que concentraciones de progesterona ≥ 1 ng/ml después del día 5 del ciclo estral, indican presencia de un cuerpo lúteo funcional y en consecuencia ovulación (Crane *et al.*, 2006).

Para determinar el nivel de progesterona de cada vaca, se tomaron muestras sanguíneas. Los muestreos a cada vaca se realizaron el día 0, 5, 10, 15 y 20. Para las que presentaron estro el día 0 se consideró como el inicio del estro, y para las que no mostraron signo conductual el inicio de los muestreos fue a las 72 h post retiro del CIDR. Las muestras se colectaron de la vena coccígea en tubos vacutainer estériles con anticoagulante (K_3 EDTA), previamente identificados, se centrifugaron a 2500 rpm por 15 minutos en una centrifuga marca Precisión, modelo Durafuge 300R, para separar el plasma de los elementos formes, el plasma se almacenó en viales identificados y se mantuvieron en congelación (-20°C) hasta la cuantificación de los niveles de progesterona por la técnica de radioinmunoanálisis en fase sólida (RIA), para la cual se utilizó un Kits PROGESTERONE PROG-CTRIA, Cisbio Bloayssays-Janvier 2014-Modelo 19.

f). Costos de concepción al primer servicio por tratamiento

Para calcular los costos de concepción por tratamiento se tomó en cuenta, hormonas utilizadas, costo de los dispositivos (CIDR), costo de la pajilla de semen, costos del técnico encargado de realizar la técnica de sincronización del estro e inseminación artificial.

Tabla 1. Determinación de los costos de concepción al primer servicio por tratamiento.

Tratamiento	Vacas inseminadas	Vacas gestantes al primer servicio	Costo total (MN\$)	Costo (MN\$)/concepción por tratamiento
Protocolo ECP				
Protocolo sin ECP				

Protocolo CE= (CIDR+BE+ PGF_{2α} + eCG + ECP)

Protocolo sin CE= (CIDR+BE+ PGF_{2α} + eCG)

5.7. Análisis estadístico

Los resultados de las variables expresadas en porcentaje como: % de hembras en estro (%HE) y % de concepción al primer servicio (%CPS) fueron analizadas estadísticamente mediante una prueba de Chi-cuadrada (X^2). Y para las variables como: tiempo de presentación del estro (TPE) y duración del estro (DEs), se analizaron mediante la prueba de t-Student. Todas estas variables fueron analizadas con el paquete estadístico SAS 9.0 (2011). Para la variable económica (costos de concepción al primer servicio por tratamiento) se realizó una comparación observacional entre los costos totales a la concepción por vaca de cada protocolo de sincronización.

6. RESULTADOS

Tiempo de presentación del estro

El tiempo transcurrido entre el retiro del CIDR al tiempo de presentación del estro presentó diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre los dos tratamientos, donde las vacas que fueron tratadas con el protocolo de sincronización utilizando cipionato de estradiol (ECP) presentaron el estro en un menor tiempo, con relación al protocolo de sincronización que no se administró ECP en el cual las vacas mostraron el estro en un tiempo más prolongado (Tabla 2).

Duración del estro

En la tabla 2 se puede observar que la administración de cipionato de estradiol (ECP) al momento de retirar el CIDR no tuvo efecto sobre la duración del estro, encontrándose resultados similares ($P > 0.05$) para el protocolo ECP y sin ECP respectivamente.

Porcentaje de hembras en estro

Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en el % HE, donde las vacas que fueron tratadas con el protocolo ECP presentaron un 37% más de estro (10/10) en comparación a las que no recibieron ECP (7/11) (Tabla 2).

Porcentaje de concepción al primer servicio

No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos, ya que ambos grupos mostraron resultados similares (Tabla 2).

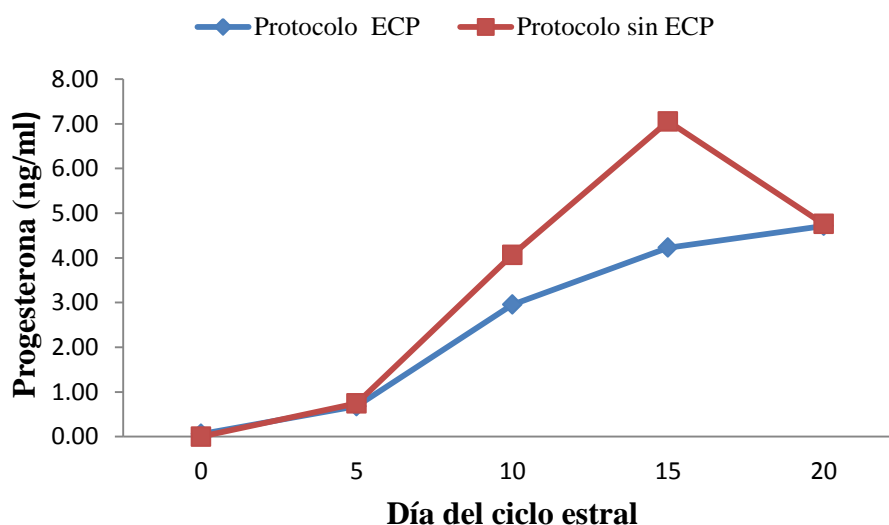
Tabla 2. Respuesta reproductiva a protocolos de sincronización de estros con progestágenos (CIDR) en vacas Holstein.

Tratamientos	Vacas				
	Tiempo de presentación del estro en horas	Duración del estro en horas	Porcentaje de hembras en estro (% HE)	Porcentaje de concepción al primer servicio (% CPS)	Porcentaje de ovulación
Protocolo ECP	24.6 ± 5.3 ^a (n=10)	12.2 ± 1.69 ^a (n=10)	100 (10/10) ^a	50 (5/10) ^a	100 (7/7) ^a
Protocolo sin ECP	54.71 ± 24.26 ^b (n=7)	12.3 ± 2.06 ^a (n=7)	63.64 (7/11) ^b	71.43 (5/7) ^a	100 (8/8) ^a

Nota: Literales distintas (a, b) en la misma columna indican que hay diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

Porcentaje de ovulación

La administración de ECP al momento de retirar el CIDR no tuvo efecto sobre el porcentaje de ovulación (Figura 1), obteniéndose resultados de un 100% de ovulación en ambos protocolos, ya que tanto las vacas del protocolo ECP, como las del protocolo sin ECP mostraron una concentración > 1 ng/ml de progesterona a partir del día 10 del ciclo estral.

**Figura 1.** Concentración promedio de progesterona (ng/ml) en plasma sanguíneo en diferentes días del ciclo estral para vacas Holstein tratadas con el protocolo ECP y sin ECP.

Costos de concepción al primer servicio por tratamiento

En la tabla 3 se puede observar que los costos de concepción al primer servicio por tratamiento fueron superiores en el protocolo donde se administró ECP al momento de retirar el CIDR, en comparación al protocolo sin ECP que resultó ser más económico, existiendo una diferencia de 503.60 MN\$ por concepción al primer servicio entre el protocolo ECP y sin ECP.

Tabla 3. Costos de concepción al primer servicio por tratamiento.

Tratamiento	Vacas inseminadas	Vacas gestantes al primer servicio	Costo total(MN\$)	Costo (MN\$)/concepción por tratamiento
Protocolo ECP	10	5	8,160.00	1,632.00
Protocolo sin ECP	7	5	5,642.00	1,128.40

Dónde:

Costo/concepción por tratamiento= Costo total /vacas gestantes al primer servicio

7. DISCUSIÓN

Tiempo de presentación del estro

El intervalo de tiempo en que se presentó el estro después de retirado el CIDR fue menor y con una mejor sincronía (24.6 ± 5.3 h) en las vacas que fueron tratadas con el protocolo donde se les administró cipionato de estradiol (ECP), en comparación a las vacas que no se les administró ECP que presentaron el estro en un tiempo más prolongado y con una mayor variabilidad (54.71 ± 24.26 h) ($P < 0.05$). Estos resultados evidencian que la administración de cipionato de estradiol reduce el tiempo en que aparecen los signos del estro, lo cual se debe a que los estrógenos son responsables del comportamiento sexual de la hembra (Hafez *et al.*, 2002; Mapletoft *et al.*, 2003). El mecanismo por el cual los estrógenos ejercen su efecto sobre el comportamiento sexual es mediante la unión a receptores en el área preóptica septal o neuronas neoestriatal en el hipotálamo (Wehling, 1997; Baki, 2013).

Resultados similares encontraron Thatcher *et al.* (2004) aplicando ECP al momento de retirar un dispositivo intravaginal, observando que las vacas presentaron el celo entre las 29.0 ± 1.8 h después de aplicar el ECP. Mientras que en un trabajo realizado por Martínez *et al.* (2002) encontraron que no hubo diferencia en el TPE entre las novillas tratadas con BE 24 h después de retirado el CIDR y el grupo que no recibió BE (47.3 ± 3.8 vs 47.1 ± 8.2 h), respectivamente; pero existiendo una mayor variabilidad en el TPE en las novillas que no fueron tratadas con BE, esto coincide con los resultados encontrados en el presente trabajo, donde las vacas que no fueron sometidas a la dosis de ECP al momento de retirar el CIDR mostraron una mayor variabilidad en el TPE (54.71 ± 24.26 h), esto Martínez *et al.* (2005) lo atribuyen a que las vacas que son tratadas con estradiol el celo puede ser inducido y por lo tanto el TPE después de retirado el CIDR es menor y de una forma más sincronizada. Sin embargo, Alnimer *et al.* (2007) reportan que al tratar vacas Holstein con y sin estradiol al momento de retirar el CIDR no hay diferencia en el TPE (49.44 ± 0.15 vs 48.7 ± 0.14 h). Otros autores como Martínez *et al.* (2000) reportan que al sincronizar vacas mestizas con un CIDR+BE al día 0, y aplicando una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al momento de retiro del dispositivo al día 7 + una inyección de 1 mg de BE 24 h después de aplicada la $\text{PGF}_{2\alpha}$, las vacas presentan el estro en un promedio de 48.6 h.

Duración del estro

No se encontró diferencia estadísticamente significativa para la duración del estro entre las vacas tratadas con cada protocolo, ya que el promedio de DE fue similar. López *et al.* (2004) mencionan que la producción de leche es uno de los factores que afectan la duración del estro en vacas Holstein, vacas con mayor producción de leche presentan una menor duración e intensidad del estro, y esto se relaciona con la menor concentración de estrógenos circulantes; por lo tanto los resultados de este trabajo no difirieron entre los tratamientos, ya que las vacas tratadas se encontraban en una producción láctea similar ($27.5 \text{ Lvaca}^{-1}\text{día}^{-1}$); Por otra parte, White *et al.* (2002) encontraron que la duración del estro también está influenciada por la temporada del año (verano, invierno y primavera), lo cual no fue factor que influyera sobre la duración del estro en el presente trabajo, ya que las vacas de ambos tratamientos fueron tratadas en la misma temporada.

Pero Cavalieri *et al.* (2004) encontraron resultados diferentes a los del presente trabajo al sincronizar vacas Holstein no lactantes, y utilizando un protocolo de sincronización con un CIDR+2 mg de BE al día 0, el dispositivo fue retirado a los días 5, 7, 8 y 9; al momento del retiro del CIDR todas las vacas de cada tratamiento recibieron 0.5 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (cloprestenol) y 24 h más tarde una dosis de 1 mg de BE, obteniéndose resultados de duración del celo de 10.5, 6.4, 10.4 y 5.9 h para cada tiempo de retiro del CIDR respectivamente.

Porcentaje de hembras en estro

El porcentaje de hembras en estro observado en el presente estudio fue afectado por la administración de ECP, donde el 100% de las vacas tratadas con cipionato de estradiol al momento de retiro del CIDR mostraron estro, lo cual Allrich, (1994) y Cesaroni *et al.* (2007) lo atribuyen a que cuando se administra cipionato de estradiol al momento de retirar el CIDR se encuentran buenos resultados en cuanto al número de hembras en estro, ya que los estrógenos actúan sobre el hipotálamo para inducir el comportamiento estral. Por otra parte, el menor %HE encontrado en protocolo sin ECP en el presente estudio pudo haberse debido a que las vacas no recibieron la dosis de ECP, lo que posiblemente influyó para que las vacas no presentaran estro. Los resultados de este trabajo coinciden con los encontrados por Peralta *et al.* (2010) donde también observaron diferencia en el porcentaje de hembras en estro entre las

vacas tratadas con ECP y el grupo control (72 y 35%); respectivamente; pero mostrando resultados más bajos a los del presente experimento (100 y 63.64%). Resultados similares a los observados por Peralta *et al.* (2010) encontraron Sá *et al.* (2011) al trabajar con vacas *Bos indicus* y utilizando un protocolo con y sin ECP al momento de retirar el CIDR, ya que si se encuentra diferencia en el porcentaje de hembras en estro (78.7 vs 43.2%). Otros trabajos realizados por Laljibhai *et al.* (2012) demuestran también que administrando estradiol (valerato de estradiol) al momento de retirar el CIDR en vacas cebú se encuentran resultados de un 100% de hembras en estro.

Se puede demostrar que la administración de estradiol (ECP o BE) al momento de retirar un CIDR o 24 h después se obtiene un mayor porcentaje de hembras en estro; Martínez *et al.* (2002) encontraron que al tratar vacas Angus-Simental con un CIDR insertado durante 7 d y aplicando una dosis de PGF_{2α} el mismo día a todas las vacas + 2mg de BE o 100 mg de GnRH 24 h después de retirar el dispositivo se obtiene un %HE de 92 y 65%, respectivamente. En un trabajo realizado por Alnimer *et al.* (2007) donde sincronizaron vacas multíparas de la raza Holstein y utilizaron dos tratamientos: en el T1 las vacas fueron sometidas a un protocolo con CIDR + 2 mg de BE al día 0, el dispositivo se retiró al día 7 y se administró una dosis de PGF_{2α} al momento de retirar el CIDR, 24 h más tarde se aplicó 1mg de BE, en el T2 las vacas fueron inducidas al mismo protocolo con la excepción de que en lugar de aplicar BE se administró GnRH 48 h después de aplicar la PGF_{2α}, obteniéndose resultados de un 100% de HE en ambos protocolos, estos resultados no coinciden con los encontrados en el presente experimento, ya que las vacas que no recibieron estradiol mostraron un %HE menor (63.64%) en comparación a las que se trataron con ECP (100%), lo cual era de esperar, ya que cuando se administra estradiol al final de un protocolo de sincronización con progestágenos se obtienen porcentajes de hembras en estro superiores al 90% (Cesaroni, 2007).

Porcentaje de concepción al primer servicio

Se encontró que la administración de ECP al momento de retirar el CIDR no tuvo ningún efecto positivo sobre el porcentaje de concepción al primer servicio, ya que ambos grupos mostraron resultados similares. La similitud de los resultados en el presente estudio entre las vacas de ambos protocolos, puede atribuirse a que todas las vacas se encontraban ciclando, tenían una producción láctea/día similar (27.5 Lvaca⁻¹día⁻¹ en promedio), recibían la misma

alimentación, y además de que todas ovularon. Resultados similares encontró Alnimer *et al.* (2007) al tratar vacas Holstein que tenían una producción láctea que oscilaba entre 23 y 38 L vaca⁻¹día⁻¹ y administrando BE 24 h post retiro del CIDR, encontrando un porcentaje de fertilidad del 44%. Así mismo los resultados del presente estudio coinciden con los encontrados por Sakase *et al.* (2005) y Sik *et al.* (2013) al tratar vacas de carne con un protocolo sin administrar ECP al momento de retiro del dispositivo, ya que obtuvieron resultados desde un 60 a un 73.2% de % CPS. Además Colazo *et al.* (2004) y Uslenghi *et al.* (2014) también encontraron resultados similares al presente estudio cuando trataron vacas de carne con ECP al momento de retirar el dispositivo, ya que se presentó un % CPS de 48%. Por otra parte, Colazo *et al.* (2007) trabajando con vacas de la raza Angus y utilizando un protocolo con CIDR+1 mg de ECP al día 0, retirando el dispositivo al día 9 + una dosis de PGF_{2α}, y 24 h más tarde administrar 0.5 mg de ECP, encontraron porcentajes de fertilidad del 48.3%. Sin embargo, otros autores como Souza *et al.* (2009) encontraron resultados inferiores a los del presente estudio al tratar vacas Holstein lactando con y sin ECP al momento de retiro del CIDR, ya que obtuvieron un % CPS del 29.1 y 33.8 % para el grupo con ECP y control, respectivamente. Por otra parte, Rudolph *et al.* (2011) también observaron resultados menores a los actuales al tratar vacas multíparas de la raza suizo sin aplicar ECP al retiro del CIDR, ya que encontraron un porcentaje de concepción al primer servicio de 50.4%. Contrario a los resultados de este trabajo, Sá *et al.* (2011) observaron que la administración de ECP al momento de retirar el CIDR mejoró el % CPS (56.2%) en comparación a las vacas que no se les inyectó ECP que mostraron un % CPS menor (39%). Ambrose *et al.* (2005) también encontraron resultados superiores a los del presente trabajo al sincronizar vaquillas Holstein con un CIDR y administrar ECP 24 h post retiro del dispositivo, ya que se presentó un % CPS de 66.1 %. Laljibhai *et al.* (2012), encontraron que al tratar vacas cebú en anestro con un CIDR + 1 mg de valerato de estradiol al día 0, retirando el dispositivo al día 6 después de insertado y aplicando una dosis de 500g de PGF_{2α} + 0.75 mg de valerato de estradiol 24 h después de retirar el CIDR, se obtienen tasas de gestación del 66.66% al primer servicio.

Algunos autores (Vijayarajan *et al.*, 2013; Whittier *et al.*, 2013), mencionan que sincronizar vacas lecheras y no administrar ECP al momento de retiro del CIDR, no disminuye el % CPS, ya que se encuentran resultados que oscilan entre 55.1 y 77.77% de fertilidad; sin embargo Kim *et al.* (2005) encontraron resultados inferiores (35%) a los observados por Vijayarajan *et*

al., 2013 y Whittier *et al.* (2013), al tratar vacas Holstein en producción y aplicando un protocolo de sincronización similar.

Aunque en varios trabajos se han encontrado efectos positivos sobre la fertilidad, administrando estrógenos en el periodo proestro en vacas sincronizadas con CIDR. Sin embargo otros estudios realizados por Hillegass *et al.* (2008); Souza *et al.* (2009), incluyendo los resultados actuales, no se detecta un efecto positivo de los estrógenos (ECP) sobre el porcentaje de concepción. Estas diferencias de resultados pueden estar influenciadas por el momento de aplicación del estrógeno, dosis, o el tipo de estrógeno, así como la raza y ambiente experimental.

Porcentaje de ovulación

El porcentaje de ovulación no fue estadísticamente afectado por la administración de ECP, ya que se obtuvo un 100% de ovulación, tanto para el protocolo ECP como para el protocolo sin ECP, estos resultados indican que todas las vacas presentaron estro; pero que en el protocolo de sincronización sin ECP algunas vacas no demostraron signos de comportamiento del estro, por lo que se atribuye que estas vacas mostraron un celo silencioso (Grajales *et al.*, 2010). La similitud de resultados puede deberse a que el folículo dominante de todas las vacas tenían la concentración suficiente de estradiol capaz de inducir una retroalimentación positiva sobre el hipotálamo, generando a su vez la liberación de GnRH desde el hipotálamo, la cual provoca un aumento inmediato de LH (pico de LH) de la pituitaria y como consecuencia la ovulación (Kawate *et al.*, 2001; Colazo *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2004; Peralta *et al.*, 2010; Wiltbank *et al.*, 2014; Soliman, 2014).

Ambrose *et al.* (2005), encontraron resultados similares a los del presente trabajo cuando trataron vaquillas Holstein y utilizando los mismos protocolos de sincronización con la excepción de que en el grupo donde administraron ECP, este se administró 24 h después de retirado el CIDR, y en el protocolo sin ECP se aplicó GnRH en lugar de eCG, encontrándose un porcentaje de ovulación del 100% para ambos protocolos. Por su parte, Sales *et al.* (2012), al tratar vacas *Bos indicus* y aplicando una dosis de ECP al retiro del dispositivo (día 8), encontraron una tasa de ovulación del 82.8%; coincidiendo con Aali *et al.* (2008) que sincronizaron vacas lecheras y utilizando un protocolo de sincronización mediante un CIDR+

5mg de E₂ al día 0, 25mg de PGF_{2α} al día 6 y retirando el dispositivo al día 7+ una segunda dosis de E₂ al día 8, obteniendo un porcentaje de ovulación del 75%. Kim *et al.* (2006), mencionan que al tratar vacas Holstein lactantes con un CIDR + GnRH al día 0, y una inyección de PGF_{2α} en el momento de retiro del dispositivo al día 7 + una dosis de GnRH en el día 9, se obtienen porcentajes de ovulación del 100%. Por otra parte, Peralta *et al.* (2010) muestran que al trabajar con vacas *Bos indicus* en anestro y utilizando un tratamiento con un dispositivo intravaginal (CIDR) insertado al día 0+ una dosis de EB, removiendo el CIDR al día 9 y administrando una dosis de 25 mg de PGF_{2α} + 0.5 mg de ECP, las vacas muestran porcentajes de ovulación de un 73%.

Las concentraciones de progesterona > 1 ng/ml en el presente trabajo se presentaron después del día 5 posterior a la presentación del estro, lo cual es normal cuando se emplean protocolos de sincronización del estro con CIDR y comenzando unos días antes de la luteólisis, ya que impide la ovulación prematura antes de la inseminación, presentándose la ovulación hasta 4 días después de retirado el dispositivo (Kim *et al.*, 2006; Sakase *et al.*, 2007). Trabajos realizados por Aali *et al.* (2008), encontraron resultados muy similares al presente trabajo, ya que al analizar muestras de leche durante diferentes días del ciclo estral en vacas productoras de leche la mayor concentración de progesterona (> 1 ng/ml) se presentó a partir del día 7 del ciclo estral, mostrando su pico en el día 14 (9 ng/ml).

Costos de concepción al primer servicio por tratamiento

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede observar que los costos de concepción por tratamiento resultaron ser más bajos (1,128.40 MN\$) para el protocolo de sincronización sin ECP, en relación con el protocolo de sincronización con ECP que mostró un costo superior (1,632 MN\$) por vaca gestante. Se puede mostrar que este mayor costo para el protocolo ECP fue influenciado por el mayor porcentaje de hembras en estro, ya que al presentarse un mayor % HE conllevó a que se inseminaran más vacas, y de esta manera incrementando los costos en dicho tratamiento. Mientras que en el protocolo sin ECP se encontró un menor % HE, y por lo tanto se inseminaron menos vacas, pero quedando un igual número de vacas gestantes al primer servicio que en el protocolo ECP, es por esto que los costos de concepción en este tratamiento fueron menores, en comparación al protocolo ECP que mostró un incremento de 503.60 MN\$ por vaca gestante al primer servicio.

Resultados superiores a los observados en presente trabajo al tratar vacas Holstein sin ECP encontró Romero (2006), cuando trabajó con vacas cebú, y utilizando un protocolo de sincronización de celos mediante un CIDR+ ECP al día 0 y una dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ al momento de retiro del dispositivo al día 7, ya que por gestar una vaca se presentó un costo de 1,773 MN\$, por otro parte, Rojas (2012) trabajando con vacas Holstein e implementando un protocolo de sincronización similar al utilizado en la presente investigación administrando ECP al momento de retiro del CIDR, con la única excepción de que el estradiol se inyectó 24 h después de retirar el CIDR; también encontró resultados superiores a los de nuestra investigación, ya que por vaca gestante se gastó un total de 2,119 MN\$ y en nuestro protocolo el costo de concepción por vaca fue de 1,632 MN\$.

8. CONCLUSIONES

El mayor porcentaje de hembras en estro y el menor intervalo de tiempo de presentación del estro se encontró en el protocolo con ECP. Sin embargo, la administración de ECP no tuvo influencia sobre variables de mayor importancia reproductiva como la duración del estro, porcentaje de concepción al primer servicio y porcentaje de vacas que ovularon.

Los resultados similares en cuanto al porcentaje de concepción al primer servicio indican que la decisión de seleccionar uno de los dos protocolos dependerá de los costos de concepción por tratamiento, resultando el protocolo sin ECP la mejor opción.

En ambos protocolos de sincronización el 100% de las vacas mostraron concentraciones de progesterona ≥ 1 ng/ml después del día 5 post inicio del estro, y además los niveles máximos de progesterona se presentaron al día 15 del ciclo estral.

9. LITERATURA CITADA

- Aali**, M., Pretheeban, T., Giritharan, G., Rajamahendran, R. 2008. Pregnancy rates and peripheral progesterone levels following Ovsynch or CIDR ovulation synchronization/ timed artificial insemination protocols in postpartum dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 6: 457-461.
- Acosta**, T.J., Miyamoto, A. 2004. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science* 82(83):127-140.
- Alnimer**, M.A., Husein, M.Q. 2007. The effect of progesterone and oestradiol benzoate on fertility of artificially inseminated repeat-breeder dairy cows during summer. *Reproduction in Domestic Animals* 42: 363-369.
- Allrich**, R.D. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77: 2738-2744.
- Ambrose**, J.D., Kastelic, J.P., Rajamahendran, M., Aali, M., Dinn, N. 2005. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 64: 1457-1474.
- Andrade**, S.F., Pérez, O.J., Oliveira, S.A., Ribeiro, V.V., Marc, H., Chacón, L., Arias, S.A. 2011. Foliculogénesis y ovulación en la especie equina. *Revista Médica Veterinaria* 22: 43-50.
- Atuesta** J.E., Gonella D.A.M. 2011. Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista Spei Domus* 7(14): 15-25.
- Baki**, C.H. 2013. Estrogen and growth hormone and their roles in reproductive function. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 5(1): 21-28.
- Ball**, P.J.H., Peters, A.R. 2004. *Reproduction in cattle. The importance of good reproductive efficiency. Third Edition.* Ed. por T.J. International Ltd, Padstow. Gran Bretaña. 5 pp.
- Blanquet**, J.B.R. 2003. Métodos de uso de prostaglandina $F_{2\alpha}$ para sincronizar celos y ovulaciones en bovinos para carne. *Agrociencia* 7(1): 92-104.

- Bó, G.A.,** Cutaia, L., Tribulo, R. 2002. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: Algunas experiencias realizadas en Argentina. Sitio argentino de Producción Animal. pp. 1-14.
- Brandan, N.** 2002. Hormonas hipotálamo-hipofisarias. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Cátedra de bioquímica. pp. 1-11.
- Butler, W.R.** 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 83: 211–218.
- Cabrera, Q.J.E.,** Jiménez, R.C.A. 2012. Evaluación de prostaglandina natural (DINOPROST) y prostaglandina sintética (CICLOPROSTENOL) en el porcentaje de preñez con protocolo de sincronización (CIDR) a tiempo fijo en vacas Holstein. Cantón Nabón-Provincia del Azuay. Tesis de Licenciatura Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca, Ecuador. 96 pp.
- Carvajal, H.R.** 2009. Efecto de la aplicación de ECP o GnRH sobre la fertilidad de bovinos de doble propósito. Tesis, Licenciado en Zootecnia, Universidad del Papaloapan. México. 51. pp.
- Casares, A.D.R.,** Retamoza, M.E.R. 2003. Evaluación de la eficiencia reproductiva en ganado bovino del sistema doble propósito, en condiciones de semiestabulación en la granja Santiago del municipio de Santiago de Tolú-Sucre. Tesis, Licenciado Zootecnista. Universidad de Sucre. Sincelejo. Colombia. 67 pp.
- Castillo, S.P.,** Gutiérrez, J.F., Lucero, F.A., Briones, F., Martínez, J.C. 2012. Reproductive performance in an Angus herd from mexican Bajío. *Avances en Investigación Agropecuaria* 16: 63-73.
- Cavaliere, J.,** Hepworth, G., Macmillan, K.L. 2004. Ovarian follicular development in Holstein cows following synchronisation of oestrus with oestradiol benzoate and an intravaginal progesterone releasing insert for 5–9 days and duration of the oestrous cycle and concentrations of progesterone following ovulation. *Animal Reproduction Science* 81: 177-193.
- Cesaroni, G.,** Butler, H.M., Durand, M.J. 2007. Evaluación del uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. *Sincrovac* 6 pp.
- Comisión de Desarrollo Ganadero para América Latina y el Caribe (CODEGALAC).** 2013. XII reunión anual. México.

- Colazo** MG., Kastelic JP., 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., Kastelic, J. P., Martinez, M. F., Whittaker, P. R., Wilde, R., Ambrose, J. D., Corbett, R., Mapletoft, R. J. 2004. Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. *Theriogenology* 61: 1115–1124.
- Colazo**, M.G., Kastelic, J.P., Whittaker, P.R., Gavaga, Q.A., Wilde, R., Mapletoft, R.J. 2004. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Animal Reproduction Science* 81: 25-34.
- Colazo**, M.G., Mapletoft, R.J., Martinez, M.F., Kastelic, J.P. 2007. El uso de tratamientos hormonales para sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas. *Ciencia veterinaria* 9: 1-16.
- Comité Nacional del Sistema Producto Bovinos Leche (SPBL)**. 2011. Población ganadera bovinos. *Boletín ganadero*. pp. 1-4.
- Córdova**, I. A., Córdova, M.M.S., Córdova-Jiménez, C.A., Guerra-Liera, J.E. 2008. Procedimiento para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Revista Veterinaria* 19 (1): 67-79.
- Cortes**, C.P. 2006. Utilización de dos protocolos hormonales (CIDR Y CRESTAR) para la sincronización del estro en ganado bovino de carne en el municipio de Tazantla, Michoacán. Tesis, Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 53 pp.
- Crane**, M. B., Bartolome, J., Melendez, P., de Vries, A., Risco, C., Archbald, L.F. 2006. Comparison of synchronization of ovulation with timed insemination and exogenous progesterone as therapeutic strategies for ovarian cysts in lactating dairy cows. *Theriogenology* 65: 1563-1574.
- Espinoza**, J.L., Ortega, R., Palacios, A., Guillen, A. 2010. Effect of fat supplementation on productive traits, pregnancy rates and some lipid metabolites in beef cows on range. *Archivo Médico Veterinario* 42: 25-32.
- Fernández**, I. G. 2009. El periodo de transición en la vaca lechera. Revisión bibliográfica. Seminario avanzado de investigación-Cajamarca. Universidad Nacional de Cajamarca. pp. 1-6.

- Fleisch, A.,** Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R., Janett, F. 2012. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research* 107: 141-146.
- Flores, E.,** Vega, J., Tello, V. 2007. Efectos del uso de un progestágeno (CIDR-B), tempranamente post - inseminación a tiempo fijo en la fertilidad de vacas lecheras alta productoras. Sitio Argentino de Producción Animal. APPA-ALPA, Curso. Perú. pp.1-4.
- Forde, N.,** Beltman, M.E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J.F., Crowe, M.A. 2011. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science* 124: 163-169.
- Franco, J.,** Uribe, V.L.F. 2012. Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domesticas rumiantes. *Biosalud* 11(1): 41-56.
- Frandsen, R. D.,** Spurgeon, T. L. 1995. Endocrinología. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. 5° ed. McGraw-Hill. 496 pp.
- Freitas, I.G.,** Tonello, J., Minozzo, S.A., Gutierrez, K., Velho, G.C.C., Marchesan de Oliveira, S., Ferreira, J., Dias, G.P.B., Coelho de Oliveira, J.F. 2011. Characterization of the kallikrein–kinin system during the bovine ovulation process. *Peptides* 32: 2122-2126.
- Galina, C.,** Valencia, J. 2008. Pubertad, Ciclo Estral y Estacionalidad. Reproducción de animales domésticos. México. 3ra ed. Limusa. pp. 91-99.
- Grajales, L. H.,** Hernández, V. A., Prieto, E. 2010. Progesterone levels during the normal and silent cycle in cattle in the colombian tropic. *Revista MVZ Córdoba* 15(2): 2060-2069.
- Granja, S.Y.T.,** Cerquera, G.J., Fernández, B.O. 2012. Factores nutricionales que interfieren en el desempeño reproductivo de la hembra bovina. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 4(2): 458-472.
- Grummer, R.R.** 2006. Optimization of transition period energy status for improved health and reproduction. XXIV World Buiatrics Congress. France. pp. 1-12.
- Gutiérrez, A. J.C.** 2008. Cap. XLII. Hormonas de la reproducción bovina. Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito. México. pp. 516-530.
- Guyton, A. C.,** Hall, J. E. 2001. Endocrinología y Reproducción. Tratado de Fisiología Medica. 10ª ed. Mc Graw Hill. pp. 1005-1163.

- Hafez**, E.S.E., Hafez, B. 2002. Cap. 3. Hormonas, factores de crecimiento y reproducción. Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7° ed. McGrawHill. México. pp. 33-40, 70-82.
- Henao Restrepo**, G. 2001. Reactivación ovárica posparto en bovinos. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 54(1): 1285-1302.
- Hernández**, C.W.S., Mendoza, J.H., Hidalgo, C.G., Godoy, A.V., Ávila, H.R.V., García, S.R. 2008. Reutilización de un dispositivo liberador de progesterona (CIDR-B) para sincronizar el estro en un programa de transferencia de embriones bovinos. Revista Técnica Pecuaria México 46(2): 119-135.
- Herrera**, J., Tinoco, J., Orozco, K. 2012. Suplementación grasa y su efecto sobre la reproducción en rumiantes. Reunión bianual sobre reproducción animal. Universidad Autónoma del Estado de México. pp. 17-36
- Hillegass**, J., Lima, F.S., Sá, F.M.F., Santos, J.E. 2008. Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 91: 4226-4237.
- Holm**, D.E., Thompson, P.N., Irons, P.C. 2008. The economic effects of an estrus synchronization protocol using prostaglandin in beef heifers. Theriogenology 70: 1507-1515.
- IICA-COFUPRO**. 2010. Estrategia regional del modelo del consenso silvopastoril intensivo para la ganadería sostenible del trópico michoacano .Programa elaboración de casos de éxito de innovación en el sector agroalimentario. Fundación produce Michoacán A.C. 82 pp.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED)**. 2015. Localización y condiciones climáticas del Municipio de Alvaro Obregón. (En línea). Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM16michoacan/municipios/16003a.html> (Consultado el día 08 de Junio de 2015).
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)**. 2004. Manejo reproductivo y sincronización de celos en vacas de leche ciclando y en anestro. Resultados experimentales de lechería. Número de difusión 361.
- Kawate**, N., Akiyama, M., Suga, T., Inaba, T., Tamada, H., Sawa, T., Mori, J. 2001. Change in concentrations of luteinizing hormone subunit messenger ribonucleic acids in the estrous cycle of beef cattle. Animal Reproduction Science 68: 13-21.

- Khodadadi, M., Ansari, P.Z.** 2013. Disrupting effects of lithium chloride in the rat ovary: Involves impaired formation and function of corpus luteum. *Middle East Fertility Society Journal* 18: 18–23.
- Kim, U. H., Suh, G.H., Nam, H.W., Kang, H.G., Kom, I.H.** 2005. Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in a CIDR-treated, lactating Holstein cows. *Theriogenology* 63: 260–268.
- Kim, I. H., Suh, G.H., Kim, U.H., Kang, H.G.** 2006. A CIDR-based timed AI protocol can be effectively used for dairy cows with follicular cysts. *Animal Reproduction Science* 95: 206-213.
- Laljibhai, B.H., Dhami, A.J., Naikoo, M., Parmar, B., Sarvaiya, N.** 2012. Effect of estrus synchronization protocols on plasma progesterone profile and fertility in postpartum anestrous Kankrej cows. *Tropical Animal Health and Production* 44: 1191-1197.
- Lomander, H.** 2012. Energy status related to production and reproduction in dairy cows. prevention of decreased fertility and detection of cows at risk. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Sweden. pp. 17-19.
- Lopez, H., Satter, L.D., Wiltbank, M.C.** 2004. A brief report on the relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* 88: 359–363.
- 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., Billings H.J., Butler W.R., Ehnis, L.R. Fields M.J., Kesler D.J., Kinders, J.E. Mattos, R.C., Short R. E., Thatcher W. W., Wettemann R. P., Yelich Y. J., y Davis H.D.** 2001. Efficacy of intravaginal progesterone insert and an injection of PGF₂ α for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers and dairy heifers. *Journal of Animal Science* 79: 982-995.
- Lucy, M.C., McDougall, S., Nation, D.P.** 2004. The use of treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture based management systems. *Animal Reproduction Science* 82-83, 495-512.
- Mapleoft, R.J., Martínez, M.F., Colazo, M.G., Kastelic, J.P.** 2003. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. *Journal of Animal Science* 81: 28-36.

- Mapletoft, R.J., Bó, G.A., Baruselli, P.S.** 2009. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Animal Reproduction Science* 6(1): 114-124.
- Martemucci, G.D., Alessandro, A.G.** 2011. Induction/synchronization of oestrus and ovulation in dairy goats with different short term treatments and fixed time intrauterine or exocervical insemination system. *Animal Reproduction Science* 126: 187-194.
- Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Janzen, E., McCartney, D.H., Mapletoft, R.J.** 2000. Estrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol, or GnRH. *The Canadian Veterinary Journal* 41: 786-790.
- Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., Mapletoft, R.J.** 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *Journal of Animal Science* 80: 1746-1751.
- Martínez, M.F., Kastelic, J.P., Bó, G.A., Caccia, R.J., Mapletoft.** 2005. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Animal Reproduction Science* 86: 37-52.
- McKiniss, E.N., Esterman, R.D., Woodall, S.A., Austin, B.R., Hersom, M.J., Thatcher, W.W., Yelich, J.V.** 2011. Evaluation of two progestogen-based estrous synchronization protocols in yearling heifers of *Bos indicus* _ *Bos taurus* breeding. *Theriogenology* 75: 1699-1707.
- Miyamoto, A., Shirasuna, A., Shimizu, T., Matsui, M.** 2013. Impact of angiogenic and innate immune systems on the corpus luteum function during its formation and maintenance in ruminants. *Reproductive Biology* 13: 272-278.
- Miyamoto, A., Shorasuna, K., Sasahara, K.** 2009. Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors. *Domestic Animal Endocrinology* 37: 159-169.
- Molina, M.P., Sánchez, T.E.T., García, F.E. O., Martínez, G.A., Cárdenas, L.M., Peralta, O.J., Cordero, M.J.L., Hizarza, E.A., Ortega, C.M.E.,** (2005). Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estro en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39: 11-18.
- Morales, J.T., Cavestany, D.** 2012. Postpartum Anestrus in Dairy Cows: Hormonal Treatments. *Veterinary*, Montevideo 48: 19-27.
- Morales, R.S., Hernández, C.J., Rodríguez, T.G., Peña, F.R.** 2000. Comparación del porcentaje de concepción y la función lútea en vacas de primer servicio, vacas repetidoras y vaquillas Holstein. *Veterinaria México* 31: 179-184.

- Motta**, D.P.A., Ramos, C.N., Gonzáles, S.C.M., Castro, R.E.C. 2011. Dinámica folicular en la vida reproductiva de la hembra bovina. *Revista Veterinaria Zootécnica* 5(2): 88-99.
- Mufeed**, A.A., Mohammed, M.A. 2014. Effect of estrus expression prior to ovulation synchronization protocols on reproductive efficiency of lactating dairy cow. *Livestock Science* 163: 172-180.
- Nashary**, K.B.M., Ramachandra, S., Kumara Mahipala, M.B.P., Jayawardane, V.P., Wijayagunawardane, M.P.B. 2013. Influence of energy balance on reproductive performance and milk production of dairy cows at pre-partum and early lactation periods. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 5(3): 98-102.
- Niasari-Naslaji**, A., Hosseini, S.M., Sarhaddi., F., Bolourchi, M., Birjandi, M.R. 2001. Steroid priming shortens prostaglandin-based estrus synchronization program from 14 to 7 days in cattle. *Theriogenology* 56: 735-743.
- Palomares**, R.A., Graves, W.M., Bosques, M.J.H. 2013. Programas de sincronización de Hatos. Extension Cooperative the University of Georgia. *Boletín* 1227: 1-8.
- Parraguez**, V.H., Ratto, M., Peralta, O. 2011. Animal Reproduction in Livestock. Reproductive Physiology- Endocrinology. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)* pp. 1-11.
- Peralta**, T.J.A., Aké, L.J.R., Centurión, C.F.G., Magaña, M.J.G. 2010. Comparación del cipionato de estradiol vs benzoate de estradiol sobre la respuesta a estro y tasa de gestación en protocolos de sincronización con CIDR en novillas y vacas *Bos indicus*. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo* 26 (2): 163-169.
- Peralta**, T.J., Aké, L.J., Centurión, C.F., Magaña, M.J.G. 2010. Comparison of estradiol cypionate and estradiol benzoate effects on ovaric activity, estrus and ovulation on anestrus *Bos indicus* Cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9(3): 466-470.
- Perea**, G.F., Soto, B.E., Ramirez, I.L., Gonzales, F.R., Goicochea., L.J., Ondiz, S.A. 2003. Postpartum anestrous treatment with intravaginal progesterone and eCG in suckling crossbred tropical cows. *Revista Científica, FCV-LUZ* 13(1): 38-44.
- Pereira**, M.H.C., Rodrigues, A.D.P., De Carvahlo, R.J., Wiltbank, M.C., Vasconcelos, J.L.M. 2014. Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1454-1464.

- Portillo**, M.J.E. 2008. Manejo e interpretación de registros e índices reproductivos en la ganadería de doble propósito. XIV congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad de Zulia. pp. 270-284.
- Prieto-Gomez**, B., Velazquez-Paniagua, M. 2002. Fisiología de la reproducción. Hormona liberadora de gonadotropinas. Revista de la Facultad de Medicina UNAM 45(6): 252-257.
- ProChile**. 2013. Estudio de mercado: Leche en polvo en México. (En línea) Pág. 4. Disponible en <http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.prochile.gob>. (Consultado el día 23 de enero de 2015).
- Ramírez**, L. 2006. El sistema endocrino de los animales domésticos. Mundo Pecuario 2 (1): 11-15.
- Rathbone**, M. J., Macmillan, K. L., Inskoop, K., Burggraaf, S., Bunt, C. R. 1998. Review. Fertility regulation in cattle. Journal of Controlled Release 54: 117–148.
- Rippe**, A.C. 2009. El ciclo estral. Dairy Cattle Reproduction Conference. Minneapolis, Minnesota. Estados Unidos de Norteamérica. pp. 111-116.
- Roche**, J., Mackey, D.Y., Diskin, M. 2000. Reproductive management of portpartum cows. Animal Reproduction Science 60–61: 703–712.
- Rodríguez**, B.J.B. 2003. Métodos de uso de prostaglandina F2 α para sincronizar celos y ovulaciones en bovinos para carne: una discusión crítica. Agrociencia 7(1): 92-104.
- Romero**, S.M.E. 2006. Dos fuentes de prostaglandina F2 α en respuesta al estro y fertilidad en bovinos de carne. Tesis, Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México. pp. 73.
- Romero**, S.M.E., Flores, M.A., García, M.J.A., Garay, A.A., Rodríguez, M.C., Duran, M.L.A., Jiménez, C.J.A. 2009. Bovine estrous synchronization with two prostaglandin sources. Revista Tecnociencia 3 (1): 19-26.
- Rojas**, R.C.A. 2012. Evaluación de cuatro protocolos de sincronización de celo con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en ganaderías lecheras del sector sur occidental de la Hoya de Loja. Tesis, Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Nacional de Loja. 107 pp.

- Rosas, L.E.V., Aguayo, C.F., Ordaz, R.L., Cerón, J.H.** 2011. Respuesta estral y porcentaje de concepción en vacas *Bos taurus-Bos indicus* posparto, tratadas con la hormona bovina del crecimiento en un programa de inducción de la ovulación con progestágenos y eCG. *Veterinaria México* 42(3): 245-251.
- Rudolph, J., Bruckmaier, R.M., Kasimanickam, R., Steiner, A., Hirsbrunner, G.** 2011. Comparison of the effect of a CIDR-Select Synch versus a long-term CIDR based AI protocol on reproductive performance in multiparous dairy cows in Swiss dairy farms. *Reproductive Biology and Endocrinology* 9: 151.
- Ruegg, P.L., Milton, R.L.** 1995. Body condition scores of holstein cows on Prince Edward Island, Canada: Relationship with yield, reproductive performance, and disease. *Journal of Dairy Science* 78: 552.
- Sá, F.O.G., Dias, C.C., Lamb, G.C., Vasconcelos, J.L.M.** 2010. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows. *Animal Reproduction Science* 119: 9-16.
- Sá, F.M.F., Santos, J.E.P., Ferreira, R.M., Sales, J.N.S., Baruselli, P.S.** 2011. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* 76: 455-463.
- Sakase, M., Seo, Y., Fukushima, M., Noda, M., Takeda, K., Ueno, S., Inaba, T., Tamada, H., Sawada, T., Kawate, N.** 2005. Effect of CIDR-based protocols for timed-AI on the conception rate and ovarian functions of Japanese Black beef cows in the early postpartum period. *Theriogenology* 64: 1197–1211.
- Sakase, M., Kawate, N., Nakagawa, C., Fukushima, M., Noda, M., Takeda, K., Ueno, S., Inaba, T., Kida, K., Tmada, H., Sawada, T.** 2007. Preventive effects of CIDR-based protocols on premature ovulation before timed-AI in Ovsynch in cycling beef cows. *The Veterinary Journal* 173: 691–693.
- Sales, J.N.S., Carvalho, J.B.P., Crepaldi, G.A., Cipriano, R.S., Jacomini, J.O., Maio, J.R.G., 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.
- Sánchez, R.G., Sánchez, V.A.** 2005. La ganadería bovina del estado de Michoacán. 1ra Edición. Pág. 1.

- Scanes, C.G., Jeftinija, S., Glavaski-Joksimovic, A., Proudman, J., Arámburo, C., Anderson, L.L.** 2005. The anterior pituitary gland: Lessons from livestock. *Domestic Animal Endocrinology* 29: 23-33.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).** 2005. Manejo reproductivo en las explotaciones lecheras (En línea). Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> (Consultado el 10 de Noviembre del 2013)
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).** 2004. Situación actual de la producción de leche de bovino en México. (En línea). Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> (Consultado el 12 de Noviembre del 2013)
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).** 2007. Programa nacional pecuario 2007-2012. (En línea). Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> (Consultado el 20 de Noviembre del 2013)
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).** 2013 Resúmen Nacional. Población Ganadera, Avícola y Apícola 2004-2013. (En línea). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/poblacion-ganadera/> (Consultado el 25 de Noviembre del 2013).
- Sik, L.M., Saidur, R.M., Sung, K.W., Jae, C.H., Suk, Y.B., Geol, P.M.** 2013. Efficacy of four synchronization protocols on the estrus behavior and conception in native Korean cattle (Hanwoo). *Theriogenology* 80: 855-861.
- Soliman, B.S., Siam, S.** 2014. Pregnancy rate after ovulation triggering with gonadotrophin releasing hormone agonist versus human chorionic gonadotrophin in women undergoing controlled ovarian stimulation/ intrauterine insemination. *Middle East Fertility Society Journal* 19: 262-267.
- Solórzano, H.C.W., Mendoza, J.H., Galina, H.C., Villa, G.A., Rivera, A.H., Romo, G.S.** 2008. Reuse of a progesterone releasing device (CIDR-B) for estrus synchronization within an embryo transfer program in bovines. *Técnica Pecuaria México* 46: 119-135.
- Souza, A.H., Viechnieski, S., Lima, F.A., Silva, F.F., Araújo, R., Bó, G.A., Wiltbank, M.C., Baruselli, P.S.** 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 72: 10-21.

- Stevenson, J.S., Tiffany, S.M., Lucy, M.C.** 2004. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRHM in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 87: 3298-3305.
- Thatcher, W.W., Bartolome, J.A., Sozzil, A., Silvestre, F., Santos, J.E.P.**2004. Manipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cows. *Veterinary Research Communications* 28: 111–119.
- Tinoco, M.J.C.** 2006. Reinicio de la actividad ovárica posparto y concentración de progesterona en vacas suplementadas con aceite vegetal. Tesis Médico veterinario. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 96 pp.
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).** 2004. The bovine estrous cycle. Publicación.4 pp.
- Uslenghi, G., Gonzáles, C.S., Cabodevilla, J., 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.
- Veiga, P., Montiel, J., Chayer, R., Uslenghi, G., Callejas, S.** 2011. Effect of different esters of estradiol used to synchronize ovulation on pregnancy rate to FTAI in Angus heifers. *Investigación Veterinaria* 13(2): 39-45.
- Vijayarajan, A., Meenakshisundaram, S.** 2013. Effect of CIDR and PGF_{2a} to improve the conception rate in Holstein Friesian crossbred heifers. *Indian Journal of Animal Reproduction* 34 (2): 44-45.
- Viñoles, G.C.** 2011. Avances en la sincronización de celos y ovulación en ovejas. *SPERMOVA* 1(1): 95-97.
- Wehling, M.** 1997. Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annual Review Physiology* 59: 365-393.
- 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 nonlactating beef cows. *Journal of Animal Science* 80: 3053-3059.

Whittier, W.D., Currin, J.F., Schramm, H., Holland, S., Kasimanickam, R.K. 2013. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch þ CIDR or 7-day CO-Synch þ CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology* 80: 963-969.

Wiltbank, M.C., Pursley, J.R. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 81: 70-185.

Zavala, M.N.A. 2012. Efecto del momento de la IATF (48 vs 54h) en vacas cruza cebú con cría al pie tratadas con dispositivos con 0.5 g de progesterona y cipionato de estradiol sobre los porcentajes de preñez. Tesis, Especialización en reproducción bovina. Universidad Nacional de Córdoba. Colombia. 10 pp.