



INSTITUTO DE REPRODUCCION ANIMAL CORDOBA



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

---

# **EFEECTO DEL CELO Y EL TRATAMIENTO CON GnRH SOBRE LA TASA DE CONCEPCIÓN EN PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS**

**Jofre Andrés Vera Cedeño**

Tesis  
Para obtener el Grado Académico de  
Magíster en Reproducción Bovina

Universidad Nacional de Córdoba  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Escuela para Graduados

Instituto de Reproducción Animal Córdoba  
(IRAC)

**Córdoba, agosto 2017**



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

---

## **EFFECTO DEL CELO Y EL TRATAMIENTO CON GnRH SOBRE LA TASA DE CONCEPCIÓN EN PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES BOVINOS**

Jofre Andrés Vera Cedeño

### **Comisión Asesora de Tesis**

**Director:** M.V. (Ph.D.) Gabriel A. Bó .....

**Co-Director:** M.V. (Ph.D.) Andrés Tríbulo .....

### **Tribunal Examinador de Tesis**

D. M.V. (Ph.D.) Alejo Menchaca .....

M.V. (MSc.) Pablo Chesta .....

M.V. (Ph.D.) Santiago Perez Wallace .....

**Presentación Formal Académica**

Córdoba, miércoles 2 de agosto de 2017

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

## **AGRADECIMIENTOS**

Expreso mi agradecimiento profundo y sincero a mi Tutor y amigo el Dr. Gabriel Almicar Bó, porque todo lo que hoy profesionalmente he podido aprender se lo debo a él, por su entrega sincera en cuanto a la confianza depositada en mí, por ser un pilar fundamental en mi formación como persona, por entregar todo lo que sabe sin necesidad o interés alguno, por esa gran humildad que lo caracteriza y por toda la guía y el apoyo profesional durante la realización de ésta Maestría. Gracias a todo lo antes mencionado he logrado avanzar con esta investigación. No esta demás recalcar que Gabriel Bó sin interés alguno decidió ser mi tutor, me apoyo, y en cada duda y error siempre me guio como un padre, y ha sido muy grato estar dirigido por tan buena persona que sin conocerme puso la confianza en un desconocido que hoy le agradece eternamente. También plasmo mi agradecimiento a un gran amigo, compañero de trabajo y co-director de esta tesis; al Dr. Andrés Tríbulo por su ayuda incondicional, su guía, su confianza, su apoyo moral y profesional; quien me ayudo en todo momento, confió en mí desinteresadamente y siempre tuvo gestos de una gran hermandad. Hoy por hoy le debo mucho por todo lo que he podido alcanzar.

Agradezco al Dr. Ricardo Julio Tríbulo y al Dr. Humberto Elías Tribulo, por ser pilar fundamental en mi estadía en el IRAC, gracias a ellos entre en las filas de un equipo que se entrega totalmente al trabajo, a la investigación y generación de nuevos conocimientos en el mundo de la reproducción. Ellos sin conocerme me dieron un lugar para alojarme y para desenvolverme como profesional, en este tiempo logré tantas cosas valiosas como la experiencia, los consejos de vida y formación profesional. También gracias a ellos logré realizar los trabajos de campo de esta tesis.

A mis padres Yimber y Marlín, por haberme dado los valores necesarios de ser una persona formada en Dios y con valores que hoy los llevo constantemente, sin mis queridos padres no hubiese sido posible haber llegado a Argentina, sin ellos y sin sus oraciones y apoyo incondicional lo que hoy es una realidad, no lo sería.

A mi hermano Lenin, quien con su ayuda y su entrega logro cuidar a mis padres en mi ausencia y también me apoya desinteresadamente. Gracias a mi hermano por ser un ejemplo de vida entregada a Dios. Y a mi hermana Narda, quien desde el cielo sé que ha estado conmigo en cada momento de mi vida. Gracias también al único abuelo que Dios me ha regalado, Heráclito Idelfonso Vínces quien fue un padre para mí y siempre me acompañó con sus buenos gestos de amor y cariño en la distancia que nos separó por un tiempo. A mis suegros Carlos Vera, quien me inculco ir a Argentina a hacer este sueño realidad y siempre cuido de mí en todo momento, y a mi suegra la Sra. Rosita Andrade, quien oro con mucha Fe para que cada paso que diera fuese guiado por Dios. Mi gratitud hacia ellos es profunda y sé que no habrá manera de pagarles por tanta compañía.

Así también, quedo muy agradecido por la ayuda de todo el Personal de IRAC-Biogen, gracias a mis queridos compañeros de trabajo y de estudios que a continuación menciono: Alejandra Peralta, Beatriz Beltran, Evangelina Darsie, José Luis Barajas, Jesús Ortega, Salvador Andrada, Antonio Ruíz de King, José María Oviedo, Omar Flores, José Silva, Raúl Díaz, Fabiana Moreira, y a cuantos han pasado por el IRAC desde el año 2014 hasta la actualidad. Agradezco también a mis hermanos de comunidad, coordinadores y sacerdotes (Cristóbal, Gustavo y Luis) por cuanto dieron a través de su amistad. A don Omar Candela, quien siempre estuvo en los momentos difíciles y me dio su amistad y su paternidad cuidándome y guiándome por buen camino.

Y por último y más especialmente agradezco a quien estuvo conmigo todo este tiempo desde el inicio de un sueño hasta hoy que es una realidad, dando siempre todo de sí misma, guiándome, cuidándome, respetándome, acompañando, siendo un pilar fundamental, y más que todo Amándome en Dios por encima de todas las cosas cotidianas; a mí Esposa Karlyta Vera Andrade. No abra palabras para expresar la felicidad que me da el poder llevarla como esposa hasta que la muerte nos separe.

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada a mi familia:

A mis padres Yimber y Marlín, mis hermanos Lenín y Narda, mis suegros Carlos y Rosita, a mis cuñadas Lulyta y Priscila, a mi primer sobrino Matías Adrián.

A mi Abuelo Heráclito y a mis amigos en Argentina.

Y a mi esposa Karlyta Vera Andrade y a mi Hija Alessia Vera Vera con cariño y con todo el amor del mundo.

## RESUMEN

Esta tesis tuvo como objetivo evaluar el efecto de la presentación de celos y el tratamiento con GnRH como segundo inductor de ovulación en los animales que no manifiestan celo, sobre la tasa de concepción (TC) a los programas de inseminación artificial (IATF) y de transferencia embrionaria a tiempo fijo (TETF). Se realizaron cuatro experimentos en vacas y vaquillonas de razas para carne, dos de ellos en programas de IATF y dos en programas de TETF. Para la sincronización de celos se utilizó el protocolo convencional que consiste en la inserción de un dispositivo intravaginal con progesterona por siete u ocho días, benzoato de estradiol (EB) en el Día 0 y Cipionato de estradiol (ECP) en el Día 8; o se utilizó el protocolo J-Synch, en el cual se inserta el dispositivo por seis días y se administra EB en el Día 0 y GnRH en el Día 9. En el Experimento 1, se evaluó si la IATF de vacas que mostraron celo a las 48 h del retiro del dispositivo intravaginal resultaba en una mayor TC en comparación con aquellas que no manifestaron y si el tratamiento con GnRH para aquellos animales que no expresaban celo en ese momento mejoraba la TC a la IATF realizada entre las 54 y 56 h. Tanto la presentación del celo como la GnRH en los animales que no manifestaron celo mejoraron la TC (56% vs 48% y 58% vs 34%, respectivamente;  $P=0,04$ ). El objetivo del Experimento 2 fue evaluar el efecto de la presentación de celos sobre la tasa de concepción de vacas y vaquillonas sincronizadas con el protocolo J-Synch. Las vacas y vaquillonas en celo e IATF a las 60 h de la remoción del dispositivo tuvieron una mayor TC que las que no mostraron celo y recibieron IATF cerca de las 72 h (67% vs 53%;  $P=0,04$ ). En el Experimento 3, el objetivo fue evaluar si la presentación de celos y el tratamiento con GnRH aplicada a las 48 h desde la remoción del dispositivo a las vacas que no manifiestan celo, aumenta la tasa de aprovechamiento (TA) y la TC de receptoras en programas de TETF sincronizadas con un protocolo convencional con dispositivos con progesterona y ECP como inductor de ovulación. Las receptoras que manifestaron celo, tuvieron una mayor TA y TC (99% y 48%, respectivamente) que las que no manifestaron celo (64% y 39%;  $P<0,01$ ). Así mismo, las que no manifestaron celo y recibieron GnRH lograron una TC más alta (46%) que las que no recibieron GnRH (26%,  $P<0,05$ ). En el Experimento 4 se evaluó el efecto del celo sobre la TA, TC, pérdidas embrionarias/fetales tempranas y tardías, y tasa de parición del protocolo convencional con dispositivos con progesterona y ECP comparado con el protocolo J-Synch. La TC fue del 37% para las receptoras del tratamiento convencional y 39% para las receptoras del J-Synch y no difirió

significativamente ( $P=0,43$ ), pero la TA fue mayor en las tratadas con el protocolo convencional (89% convencional vs 83% J-Synch;  $P=0,03$ ). Cuando se tuvo en cuenta el total de receptoras sin importar el tratamiento de sincronización se encontró una tendencia ( $P=0,06$ ) a una mayor TC de las receptoras que mostraron celo (39%) vs las que nunca lo hicieron (26%). Además, las pérdidas embrionarias/fetales fueron mayores ( $P=0,004$ ), y la tasa de parición fue menor ( $P=0,01$ ) en las receptoras que no mostraron celo (67% y 2,9%, respectivamente). Las conclusiones principales de esta Tesis son: 1) que la expresión del celo aumenta las TC en los programas de IATF y las TA, TC y tasa de parición en los programas de TETF. 2) que el tratamiento con GnRH a los animales que no manifiestan celo luego del retiro del dispositivo con progesterona aumentan la TC en los programas de IATF y la TA y TC en los programas de TETF.

**Palabras claves:** Celo, Cipionato de estradiol, J-Synch, Inseminación artificial, Transferencia embrionaria

## ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the effect of estrus behaviour and the treatment with GnRH, to induce ovulation non-estrus animals, on conception rate (CR) to fixed-time artificial insemination (FTAI) and embryo transfer (FTET) programs. Four experiments were carried out in beef cows and heifers, two of them in FTAI and two in FTET programs. Two treatments were used for estrus synchronization: the conventional protocol, consisting of the insertion of an intravaginal device with progesterone for 7 or 8 days, estradiol benzoate (EB) on Day 0 and estradiol cypionate (ECP) on Day 8; or the J-Synch protocol, in which the device is inserted for 6 days and EB is administered on Day 0 and GnRH on Day 9. The objective of Experiment 1 was to evaluate whether the FTAI of cows showing estrus at 48 h from device removal improved CR in comparison to those that did not showed signs of estrus and if the treatment with GnRH for those animals that did not show estrus at that time improved the CR to the FTAI performed 54 to 56 h after device removal. The presence of estrus and GnRH in non-estrus animals improved CR (56% vs 48% and 58% vs 34%, respectively,  $P=0.04$ ). The objective of Experiment 2 was to evaluate the effect of estrus expression on the CR of cows and heifers synchronized with the J-Synch protocol. Cows and heifers in estrus and FTAI at 60 h after device removal had a higher CR than those that did not show estrus and were FTAI at 72 h (67% vs 53%,  $P=0.04$ ). The objective of Experiment 3 was to evaluate whether the expression of estrus and the treatment with GnRH those animals not in estrus by 48 h after device removal increased the rate of utilization (UR) and CR of recipients synchronized with the conventional protocol and receiving embryos by FTET. The estrus expression increased the UR and CR (99% and 48%, respectively) compared to those did not show estrus (64% and 39%, respectively,  $P<0.01$ ). Likewise, those who did not show estrus and received GnRH achieved a higher CR (46%) than those who did not receive GnRH (26%,  $P<0.05$ ). Experiment 4 evaluated the effect of estrus expression on UR, CR and pregnancy loses in recipients synchronized with the conventional de J-Synch protocols. Although were no differences among groups in CR (conventional: 37% and J-Synch: 39%,  $P=0.43$ ), the UR was higher in recipients in the conventional group (89%) than in those in the J-Synch group (83%,  $P=0.03$ ). In addition, when the total number of recipients was taken into account regardless of the synchronization treatment, there was a tendency ( $P=0.06$ ) for a higher CR of the recipients that showed estrus (39%) vs those who never did (26%). Furthermore, embryo/fetal loses were higher ( $P=0.004$ )



and the final calving rate was lower ( $P=0.01$ ) in recipients that did not show estrus (67% and 2.9%, respectively). The main conclusions of this thesis are: 1) the expression of estrus plays a fundamental role for the CR in the synchronization programs for FTAI and for UR, CR and calving rate in FTET programs for generating pregnancies. 2) GnRH treatment in animals that do not show estrus after the removal of the progesterone device increases the CR in FTAI programs and the UR, CR in FTET programs.

**Key words:** Estrus, Estradiol Cypionate, J-Synch, Artificial insemination, Embryo transfer.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
Capítulo 1.	
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
Programas de Sincronización de celos e Inseminación artificial.....	1
Sincronización de sincronización de celos con PGF <sub>2</sub> $\alpha$ .....	2
Utilización de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y PGF <sub>2</sub> $\alpha$ en la sincronización de la ovulación.....	4
Estradiol y Progesterona en la sincronización del celo.....	6
Benzoato y Cipionato de estradiol en los protocolos de sincronización de celo.....	7
Transferencia embrionaria.....	9
Sincronización de receptoras utilizando PGF <sub>2</sub> $\alpha$ y detección de celos vs Sincronización de la ovulación.....	11
Utilización e importancia de la eCG en los programas de sincronización .....	12
Tratamiento de sincronización de receptoras de embriones con dispositivos con P4, Estradiol y/o GnRH.....	14
Importancia del celo en los programas de IATF y TETF.....	18
<b>HIPOTESIS</b> .....	21
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	21
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS: Experimento 1 y 2</b> .....	21
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS: Experimento 3 y 4</b> .....	22
Capítulo 2. <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	23
Experimento 1.....	23
Experimento 2.....	25
Experimento 3.....	26
Experimento 4.....	27
Ultrasonografías.....	28
Análisis estadístico.....	28

Capítulo 3. <b>RESULTADOS</b> .....	30
Experimento 1.....	30
Experimento 2.....	34
Experimento 3.....	37
Experimento 4.....	45
Capítulo 4. <b>DISCUSIÓN</b> .....	48
Capítulo 5. <b>CONCLUSIONES</b> .....	63
Capítulo 6. <b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	65

## LISTA DE TABLAS

Página

<b>Tabla 2.1.</b> Categorización de animales con o sin celo de acuerdo al porcentaje de pérdida de pintura (pp) medido a través del diagnóstico visual.....	24
<b>Tabla 3.1.</b> Tasa de concepción en función de la presentación del celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo y porcentaje de vacas en celo.....	30
<b>Tabla 3.2.</b> Impacto de la pérdida de los dispositivos con P4 durante el tratamiento de sincronización de vacas y vaquillonas sobre la tasa de concepción a la IATF.....	31
<b>Tabla 3.3.</b> Tasa de concepción en función de la estructura ovárica al inicio del tratamiento (Día 0) de sincronización a la IATF.....	33
<b>Tabla 3.4.</b> Tasa de concepción en función de la presentación del celo y porcentaje de vacas en celo a las 60 h desde la remoción del dispositivo con P4.....	34
<b>Tabla 3.5.</b> Tasa de concepción en función de la categoría animal. Resultados generales.....	35
<b>Tabla 3.6.</b> Tasa de concepción en función de la adición de eCG en vaquillonas que recibieron IATF.....	35
<b>Tabla 3.7.</b> Tasa de concepción en función de la presentación del celo a la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h en los animales que no estaban en celo a las 60 h.....	36
<b>Tabla 3.8.</b> Tasa de concepción en función de la presentación del celo a la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h en los animales que no estaban en celo a las 60 h .....	36
<b>Tabla 3.9.</b> Tasa de concepción en función de la estructura ovárica al inicio del tratamiento (Día 0) de sincronización de vacas que recibieron IATF.....	36
<b>Tabla 3.10.</b> Tasa de concepción en función de la condición corporal al inicio del tratamiento de sincronización.....	36
<b>Tabla 3.11.</b> Tasa de aprovechamiento y tasa de concepción alcanzada con el protocolo de sincronización para receptoras de carne.....	36
<b>Tabla 3.12.</b> Tasa de concepción en función de la manifestación del celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo de P4 en receptoras de embriones que recibieron TETF.....	37
<b>Tabla 3.13.</b> Tasa de concepción en función del grado del CL y la expresión de celos a las 48 h de la remoción de los dispositivos con P4.....	38

<b>Tabla 3.14.</b> Tasa de aprovechamiento en receptoras de embriones sincronizadas con dispositivos con P4 en relación a la manifestación de celos a las 48 h y al tratamiento con GnRH en las que no manifestaron celo .....	42
<b>Tabla 3.15.</b> Tasa de aprovechamiento en receptoras de embriones sincronizadas con dispositivos con P4 en relación a la manifestación de celos a las 56 h desde la remoción.....	42
<b>Tabla 3.16.</b> Tasa de concepción en función del lugar de siembra de los embriones.....	43
<b>Tabla 3.17.</b> Factores relacionados con el tipo de embrión y el estadio embrionario.....	43
<b>Tabla 3.18.</b> Tasa de aprovechamiento, tasa de concepción y de preñez en receptoras de embriones que son sincronizadas con dos protocolos para recibir TETF.....	45
<b>Tabla 3.19.</b> Tasa de concepción en función de la manifestación de celo a las 48 h en las receptoras del grupo Convencional y 60 h en las del grupo J-Synch.....	46
<b>Tabla 3.20.</b> Tasa de concepción en función de la manifestación de celo correspondiente a las 54 h en las del grupo convencional y 60 h en las del grupo J-Synch.....	46
<b>Tabla 3.21</b> Tasa de concepción en función de la manifestación de celo y efecto del total de celo sin considerar los tratamientos de sincronización.....	47
<b>Tabla 3.22.</b> Tasa de mortalidad embrionaria/fetal temprana, tasa de mortalidad fetal, tasa de concepción y tasa final de parición en función de la manifestación del celo.....	47

## LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 2.1.** Esquema de sincronización de celo e IATF para vacas y vaquillonas de carne según expresen o no celo a las 48 h de la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. Las hembras que no manifestaron celo a las 48 h se dividieron aleatoriamente para recibir o no GnRH a las 48 h y ser IATF entre las 54 y 56 h.....24
- Figura 2.2.** Esquema de sincronización y tratamientos utilizados sobre hembras que recibieron un embrión in vivo o in vitro en el día de la TETF. Todos los animales sin celo a las 48 h de remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> fueron divididos aleatoriamente para recibir o no GnRH.....27
- Figura 3.1.** Tasa de concepción en función de la condición corporal al momento de la IATF y de la presentación del celo a las 48 h desde el retiro de los dispositivos de P<sub>4</sub> ( $\bar{T}$ =DE). \*Las columnas difieren significativamente (P<0,02). Vacas con condición corporal < 2 y ≥ 4 son significativamente distintas debido a la manifestación o no del celo.....30
- Figura 3.2.** Tasa de concepción en función de la categoría animal. Los porcentajes no difieren significativamente (P>0,05).....31
- Figura 3.3.** Tasa de concepción en función de la expresión del celo entre las 48 y 56 h en las vacas que no estaban en celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Superíndices distintos dentro de las columnas indican diferencias significativas (P< 0,01).....32
- Figura 3.4.** Tasa de concepción en función de la aplicación de GnRH en animales que no expresaron celo a las 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Superíndices distintos dentro de los cuadrados indican diferencias significativas (P<0,004).....32
- Figura 3.5.** Tasa de concepción luego de la aplicación de GnRH según presencia o ausencia de celo a las 60 h. <sup>abc</sup> Letras distintas a la derecha de cada columna indican diferencias significativas (P<0,01).....32
- Figura 3.6.** Curvas suavizadas del efecto del diámetro del CL (mm) al momento de la TETF y la interacción con el celo a los 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. Se encontró una interacción significativa entre el tamaño del CL y el celo (P<0,01), debido a diferencias en las vacas con o sin celo.....38
- Figura 3.7.** Tasa de concepción en función del tratamiento con GnRH en receptoras sin celo a las 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0,05).....39

- Figura 3.8.** Tasa de concepción en función de la manifestación del celo entre las 49 y 56 h de retirado los dispositivos con P<sub>4</sub> en vacas que recibieron TETF. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0,05).....40
- Figura 3.9.** Tasa de concepción en función del tratamiento con GnRH y la manifestación de celo entre las 56 y 58 h desde la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0,05).....40
- Figura 3.10.** Efecto de la estructura ovárica en el Día 0 del protocolo de la sincronización sobre las tasas de aprovechamiento y concepción en receptoras TETF ( $\bar{T} \pm IC$ ).....41
- Figura 3.11.** Efecto de la categoría de la receptora y la condición corporal sobre la tasa de concepción y la tasa de aprovechamiento. ( $\bar{T} \pm I.C$ ). Línea de color verde: Datos de tasa de aprovechamiento, las columnas por debajo de la línea verde indican diferencias significativas (P=0,0001). Línea de color rojo: Datos de tasa de concepción, columnas por debajo de la línea indican diferencias significativas (P=0,05). VS=vacas multíparas secas; VSS=vacas de segundo servicio.....44
- Figura 3.12.** Tasa de aprovechamiento y tasa de concepción por replica de trabajo. ( $\bar{T} \pm IC$ ). Línea horizontal de color negro: Las columnas por debajo de la línea de corte indican diferencias significativas para datos de tasa de aprovechamiento (P=0,0001). Las columnas blancas no difieren significativamente (P=0,13).....45

## LISTA DE ABREVIATURAS

CC.....	Condición Corporal
CL.....	Cuerpo Lúteo
Da.....	Dalton
E-17 $\beta$ .....	Estradiol 17 Beta
EB.....	Benzoato de estradiol
eCG.....	Gonadotrofina coriónica equina
ECP.....	Cipionato de estradiol
FD.....	Folículo Dominante
GnRH.....	Hormona liberadora de gonadotrofinas
h.....	Horas
IA.....	Inseminación Artificial
IATF.....	Inseminación Artificial a Tiempo Fijo
IC.....	Intervalo de confianza
i.m.....	Intramuscular
Kg.....	Kilogramos
LH.....	Hormona Luteinizante
mg.....	Miligramos
MHz.....	Mega Hertz
ml.....	Mililitros
mm.....	Milímetros
PGF <sub>2</sub> $\alpha$ .....	Prostaglandina
TE.....	Transferencia embrionaria
TETF.....	Transferencia embrionaria a Tiempo Fijo
UI.....	Unidades Internacionales
US.....	Ultrasonografías



### INTRODUCCIÓN

En la actualidad los protocolos de sincronización de celos a tiempo fijo para realizar la inseminación artificial (IA) o la transferencia de embriones (TE) pueden aplicarse rutinariamente en los distintos programas de reproducción en campos comerciales. El control de la emergencia de las ondas foliculares y la inducción de la ovulación en un tiempo predeterminado ha facilitado la aplicación de tales biotecnologías a gran escala, aumentando la eficiencia reproductiva y productiva (Nasser et al., 2011). La importancia del conocimiento de las ondas foliculares (Adams, 1994) y los mecanismos para la sincronización de la emergencia de la onda folicular (Bó et al., 1995; 2002c) han simplificado de gran manera la aplicación de estos protocolos de sincronización de celo para IA y TE.

Una de las grandes ventajas de la aplicación de estas biotecnologías es que una vez que son insertadas en el manejo reproductivo de un campo resultan en un aumento de la eficiencia reproductiva y en un progreso genético del ganado bovino. Para el buen funcionamiento de este tipo de sistemas se requiere del desarrollo de programas de sincronización que puedan ser prácticos y fáciles de aplicar a gran escala, con una disminución en la cantidad de tratamientos hormonales y en una menor manipulación del animal (Nasser et al., 2011).

#### **Programas de Sincronización de celos e Inseminación artificial**

La optimización de la eficiencia reproductiva es uno de los principales factores que contribuyen a mejorar el retorno económico de una explotación ganadera. La tasa de preñez y su distribución, tienen un impacto económico muy importante en un establecimiento dedicado a la cría. Lograr un ternero por vaca y por año en un sistema de producción, significa que, restando a los 365 días del año, 283 del periodo de gestación, las hembras deberían estar nuevamente preñadas a los 82 días de paridas (Bó et al., 2005).

Para que se logre con éxito la concepción en el ganado bovino es importante tener en cuenta algunos factores como la manifestación del estro, lo que demuestra que fisiológicamente la hembra ovula; y el buen estado de los gametos, junto con un entorno uterino adecuado para que se logre una fusión de las mismas. Por lo tanto, la eficacia de los métodos de reproducción se deriva del porcentaje de hembras en celo y principalmente de la tasa de fertilización. La fertilización puede ocurrir como producto de una monta o por IA (Moraes et al., 2008).

El principal objetivo de la implementación de la IA en establecimientos de cría de ganado para carne es el de producir un progreso genético en el rodeo. La sincronización del estro es una biotecnología que busca facilitar el uso de la IA tratando de enfocar la ovulación en un período predeterminado. Para ello, utiliza hormonas o asociaciones de hormonas que se anticipan o prolongan el ciclo estral. En este sentido, el objetivo es poner en práctica el proceso de sincronización de celo y de la ovulación, con el fin de mejorar las tasas de concepción actuales en el ganado. Los protocolos que sincronizan la ovulación son llamados comúnmente protocolos de IA a Tiempo Fijo (IATF). Esos protocolos permiten la IA de vacas con y sin cría al pie y no sólo reducir la IA a las vaquillas, como ocurría en la mayoría de los países ganaderos hasta el año 2000 (Bó et al., 2014).

### **Sincronización de celos con Prostaglandinas (PGF<sub>2α</sub>)**

A lo largo del tiempo los protocolos de sincronización de celos utilizando PGF<sub>2α</sub> y también sus análogos han sido pilar fundamental en el desarrollo de los programas de sincronización del celo y la ovulación para la IATF (Wiltbank y Pursley, 2014) y además han sido frecuentemente utilizados en los programas de IA en vaquillonas, siendo la detección de celos el mayor problema para lograr una buena eficiencia reproductiva (Larson y Ball, 1992).

La PGF<sub>2α</sub> es producida por el endometrio y es la responsable de la luteólisis, o degradación del cuerpo lúteo (CL) en el ganado vacuno (Adams, 2001). Los ciclos estrales bovinos se han dividido en dos fases, la fase folicular y la fase luteal. La primera se caracteriza por un crecimiento folicular que culmina en la selección de un folículo

dominante y posterior ovulación, mientras que la fase luteal es la más larga del ciclo (aproximadamente 6 a 16 días; Twagiramungu, 1995 y Bó et al., 1996) y se caracteriza por el funcionamiento del CL secretando progesterona (P<sub>4</sub>).

Durante la fase luteal tardía (día 16 - 18 del ciclo) la PGF<sub>2</sub>α se libera del útero y se une al CL causando la regresión luteal y puede utilizarse en el ganado bovino para sincronizar el ciclo estral (Lauderdale et al., 1974). A pesar de todos los avances en cuanto a la acción y subsecuente utilización de la PGF<sub>2</sub>α, su uso está limitado a hembras cíclicas y con un CL que sea funcional. Es así que la PGF<sub>2</sub>α no es efectiva en aquellos CL nuevos o inmaduros (Día 5 del ciclo estral; Gnemmi et al., 2014).

Hace más de 40 años de que ha sido estudiada la PGF<sub>2</sub>α, y los primeros estudios sirvieron para mostrar que la madurez del CL en el momento del tratamiento con PGF<sub>2</sub>α influenciaba la respuesta luteolítica y que la PGF<sub>2</sub>α no inducía la luteólisis de manera efectiva durante los primeros 5 a 6 días después del celo, el cual se produciría de manera distribuida por 6 días de ser efectiva ésta luteólisis (Macmillan et al., 1984). Con la incorporación de la ecografía en tiempo real se logró revelar que el intervalo desde el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α hasta la manifestación del celo y la ovulación está determinado por la fase de desarrollo del folículo dominante en el momento del tratamiento (Kastelic et al., 1991; Perry y Cushman, 2016). Si se administra PGF<sub>2</sub>α cuando el folículo dominante de una onda se encuentra en la última fase de crecimiento o en la fase estática temprana, la ovulación se producirá entre 3 y 4 días posteriores. Por el contrario, si el folículo dominante está en la fase estática tardía o de regresión, el folículo dominante de la próxima onda folicular será el folículo ovulatorio y esta ocurrirá entre 5 a 7 días después de la PGF<sub>2</sub>α (Kastelic et al., 1991). La razón por la cual la PGF<sub>2</sub>α en la actualidad no es usada para realizar la IATF es debido a que el intervalo antes mencionado reflejó el tiempo necesario para que el folículo dominante de la nueva onda crezca y se desarrolle con un tamaño preovulatorio, dependiendo de la detección eficaz del celo, de la exactitud en la detección y de escoger el mejor momento para la inseminación (Gnemmi y Maraboli, 2014). Debido a esto, su uso en la IA sigue siendo una práctica con limitantes para obtener aceptables tasas de preñez en programas de sincronización en el ganado de carne (Bó et al., 2009).

## **Utilización de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) y PGF<sub>2</sub>α en la sincronización de la ovulación**

La GnRH sintética ha estado disponible desde hace muchos años para el tratamiento de los quistes foliculares ováricos (Drost y Thatcher, 1992). En el ganado bovino, el tratamiento con ésta hormona induce la ovulación de un folículo dominante en crecimiento o en la fase estática temprana (>10 mm de diámetro) y la emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 2 días después del tratamiento (Martínez et al., 1999).

La inyección de GnRH por vía intramuscular (i.m.) produce la liberación de LH en un pico preovulatorio aproximadamente a las 2 h de su administración (Thatcher et al., 1989). Eso se debe ya que el folículo dominante tiene inicialmente receptores de LH en las células de la teca interna y a partir del Día 3 de su desarrollo adquiere receptores de LH en las células de la granulosa. Por lo tanto, esta hormona ha sido utilizada tanto para inducir ovulación del folículo presente, como para controlar el desarrollo de una nueva onda folicular. Desde hace muchos años se ha logrado evidenciar que el uso de la GnRH tiene una respuesta diferencial entre vacas y vaquillonas obteniendo como resultado el 90,0% de ovulaciones en vacas en lactancia, pero solamente el 54,0% en vaquillonas (Pursley et al., 1995). Es por esto que el tratamiento con GnRH funciona bien en vacas y no tanto en vaquillonas y su explicación ha estado enfocada a las diferencias entre las características foliculares de ambas categorías.

En los trabajos de Martínez et al. (1999) corroboraron que, en las vaquillonas la respuesta de los folículos a la GnRH o LH y el comienzo de la onda folicular varía de acuerdo al estadio del folículo dominante y por ende resulta en bajas tasas de preñez luego de la IATF. Está evidenciado también que la sincronía del estro funciona mejor si 6 o 7 días después de la aplicación de GnRH se aplica una dosis de PGF<sub>2</sub>α para inducir la luteólisis (Twagiramungu et al., 1992). Esta combinación de hormonas resulta de manera más efectiva para sincronizar el celo en el ganado *Bos taurus* (Burke et al., 1996), pero menos eficaz en el ganado *Bos indicus* (Lemaster et al., 2001). Las razones de esta

variabilidad no son claras, pero se especula que puede ser debido a diferencias en la dinámica folicular.

Por otro lado, las combinaciones de GnRH y PGF<sub>2</sub> $\alpha$  han permitido desarrollar protocolos de IATF (Bó et al., 2013). Dentro de los protocolos de IATF que utilizan como base combinaciones de GnRH y PGF<sub>2</sub> $\alpha$  se encuentran los llamados protocolos Ovsynch (Pursley et al., 1995). El protocolo Ovsynch ha sido muy utilizado en vacas de leche resultando en una fertilidad aceptable para este tipo de hembras (Pursley et al., 1997). Sin embargo, los resultados de su aplicación en campos de cría en sistemas pastoriles no han sido satisfactorios, los cuales han estado ligado a bajos porcentajes de concepción que se obtienen en vacas en anestro (Baruselli et al., 2004).

El protocolo Ovsynch se efectúa aplicando una primera dosis de GnRH con objetivo de ovulación del folículo dominante y de sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular (en promedio 1,6 días después), luego al Día 7 una dosis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  y 48 h posteriores una segunda inyección de GnRH con efecto de lograr una ovulación sincrónica para realizar la IATF 16 h posteriores. Pero este protocolo no ha sido tan favorable para sincronizar la ovulación en vaquillonas (Pursley et al., 1997) y se cree que es debido a una menor tasa ovulatoria a la primera GnRH, a un recambio folicular más rápido y a la presencia de mayor cantidad de ciclos de tres ondas en vaquillonas que en vacas en lactancia. Además, otro problema con el Ovsynch en vacas en anestro es que mientras que la primera GnRH es capaz de inducir la ovulación en una gran proporción de los animales tratados, la vida útil del CL inducido es corta en algunas vacas (revisado en Bó et al., 2013).

Una de las formas con la que se mejoró toda esta problemática para este tipo de tratamiento fue con la aparición de los dispositivos intravaginales con P<sub>4</sub>, los cuales permitieron un mejor control de la sincronía de la ovulación de vaquillonas durante los protocolos de IATF. La inclusión de estos dispositivos con P<sub>4</sub> ejerció un efecto en la supresión de la ovulación durante los 7 días de presencia del mismo, permitiendo de ésta forma que todos los animales tratados pudieran ser destinados a la IATF sin afectar la fertilidad (Rivera et al., 2005).

Otro protocolo que utiliza como base la GnRH, PGF<sub>2</sub>α y además la P<sub>4</sub> es el Co-Synch de 7 días con una IATF que se realiza sobre las 60 h. Este protocolo es comúnmente utilizado en EEUU y por lo general la tasa de preñez lograda llega al 50,0% (Bridges et al., 2008). Estudios donde compararon este protocolo de 7 días contra una variante de Co-Synch, con 5 días de P<sub>4</sub> e IATF a las 72 h en vacas de carne, lograron 10,5% más de preñez cuando se utilizó el dispositivo por menos días de permanencia (Bridges et al., 2008). Otros investigadores lograron resultados por encima del 60,0% en vaquillonas de carne (Perry et al., 2012) y otros lograron una mayor tasa de preñez con el Co-Synch 5 días de P<sub>4</sub> (58,1%) que con el Co-Synch de 7 días de P<sub>4</sub> (55,1%; P<0,05) en vacas Bos taurus de carne (Whittier et al., 2013).

### **Estradiol y Progesterona en la sincronización del celo**

Los tratamientos combinados de estradiol y P<sub>4</sub> han sido ampliamente utilizados en los últimos 20 años en programas de sincronización de celo en el ganado bovino (Macmillan y Burke, 1996; Bó y Baruselli, 2002) y son el tratamiento preferido para realizar IATF en el ganado de carne de América Sur (Bó et al., 2016).

Los tratamientos consisten en la inserción de un dispositivo intravaginal con liberación de P<sub>4</sub> y la administración de benzoato de estradiol (EB) en el Día 0 (para sincronizar una nueva onda de crecimiento folicular), en el Día 7, 8 ó 9 se retiran los dispositivos de P<sub>4</sub> y conjuntamente a esto se realiza la aplicación de PGF<sub>2</sub>α (para asegurar la luteólisis) y la posterior aplicación de una dosis menor de EB 24 horas (h) más tarde o de GnRH/LH a las 48-54 h, para dentro 72 a 84 h posteriores a la remoción del dispositivo tener una ovulación sincronizada (Bó et al., 2002a, 2002b y Martínez et al., 2002a). Los resultados reportados con estos protocolos (vacas preñadas/vacas inseminadas x 100) han sido entre 40,0 y 50,0%, oscilando entre el 27,8 y 75,0% (Cutaia et al., 2003). Además, dentro de un sin número de factores que afectan estos resultados, el de mayor relevancia es sin duda la condición corporal de las vacas y la ciclicidad de las mismas (Bó et al., 2002b y 2007; Nasser et al., 2011).

Bó et al. (1994a) demostraron que la combinación de estradiol y progesterona (P<sub>4</sub>) tiene un efecto aditivo sobre la supresión de la secreción de FSH. Entonces, cuando se administran ambos esteroides en forma conjunta se logra un mayor control sobre la secreción de gonadotrofinas y subsecuentemente una manipulación más precisa de la dinámica folicular. Por otra parte, la segunda administración de EB es fundamental para sincronizar la ovulación, en promedio a las 66 h de retirado el dispositivo (Cutaia et al., 2001) y obtener resultados óptimos de preñez a la IATF (Nasser et al., 2011).

### **Benzoato y Cipionato de estradiol en los protocolos de sincronización de celo**

Una de las alternativas que se tuvieron en cuenta para sincronizar la ovulación en los programas de IATF es la utilización de EB en el momento de la remoción de los dispositivos de P<sub>4</sub>. Algunos autores lo han utilizado en el momento de la remoción del dispositivo sin encontrar diferencias en la tasa de preñez alcanzada cuando se comparó con la aplicación de EB 24 h posteriores al retiro de los dispositivos de P<sub>4</sub> (Cesaroni et al., 2000) y otros han reportado diferencias a favor de una mayor tasa de preñez cuando se realiza una aplicación posterior (Cutaia et al., 2000; 2001; Sorroarain et al., 2005).

En otros trabajos (Cutaia et al., 2001) utilizando vacas Angus cíclicas se demostró una mayor sincronía de las ovulaciones cuando se administró 1 mg de EB a las 24 h (rango de ovulaciones: 66 a 84 h) en lugar de administrarlo al retiro del dispositivo (rango de ovulaciones: 48 a 96 h; P<0,05). En razas cebuinas se han reportado resultados similares en las cuales la aplicación de EB junto con la remoción de los dispositivos intravaginales disminuye la tasa de preñez (Bó et al., 2007), por lo tanto, esta alternativa de adelantar la segunda inyección de EB en el día del retiro de los dispositivos intravaginales no es recomendada en los programas de IATF.

Otra alternativa que surgió fue la de utilizar la GnRH administrada a las 48 h luego del retiro del dispositivo con la finalidad de lograr un encierro menos, es decir en la mañana del mismo día de la IATF. Esto permitiría evitar el encierro necesario para el EB, quedando el rodeo cerca de las instalaciones para recibir la IATF en la tarde. En estos trabajos la GnRH logró ser una alternativa eficaz evitando el encierro de las 24 h luego de

retirar el dispositivo y permitiendo una tasa de preñez mayor en vaquillonas (Menchaca et al., 2013) o similar al EB en vacas con cría al pie y en vaquillonas cuando la GnRH se administró directamente en el momento de la IATF (Bó et al., 2002a y 2014; Martínez et al., 2002a).

Entre las alternativas para tratar de simplificar aún más los tratamientos de sincronización y hacer de la IATF una tecnología para trabajar a mayor escala se puede utilizar el cipionato de estradiol (ECP). El ECP es una sal del estradiol que tiene una mayor vida media que el EB (Colazo et al., 2003, Mapletoft et al., 2003) y tiene una baja solubilidad en agua y con baja liberación desde el momento de su aplicación, pero lo más importante es que tarda más tiempo en hidrolizarse en sangre lo que hace que se prolonguen las concentraciones plasmáticas de estradiol-17 $\beta$  durante 98-170 h después de la administración de dosis altas (5-10 mg; Burton et al. 1990, Vynckier et al., 1990, Mapletoft et al., 2003). Comparado con la administración i.m. de EB, el ECP produce un pico de estradiol-17 $\beta$  plasmático de menor magnitud con una mayor amplitud, la cual es más prolongada en el tiempo (Vynckier et al., 1990). Debido a este patrón fisiológico el ECP ha sido utilizado como inductor de ovulación aplicado en el momento de la remoción de los dispositivos de P<sub>4</sub> evitando de esta manera tener que volver a pasar los animales por la manga a las 24 h de retirado el dispositivo.

Con el fin de evaluar el efecto del ECP dentro de la dinámica folicular, ovulación y tasa de preñez Colazo et al. (2003) realizaron 2 experimentos en Canadá. Los investigadores encontraron que el ECP aplicado en el momento de la remoción de los dispositivos intravaginales actuó de manera efectiva para sincronizar la ovulación y obtener tasas de concepción comparables a la aplicación de EB, sólo cuando se utilizaron 5 mg de estradiol 17 $\beta$  y 100 mg de P<sub>4</sub> en el momento de la inserción del CIDR-B para sincronizar el desarrollo folicular. Cuando se utilizaron otros agentes que inducen un comienzo de onda más variable, como la GnRH o 1 mg de ECP y 50 mg de P<sub>4</sub>, la tasa de preñez fue mayor en las vaquillonas que recibieron ECP 24 h después de quitar el CIDR (65,0%) que al momento de quitar el CIDR (52,0%) o GnRH al momento de la IA (51,0%; Colazo et al., 2004). Asimismo, en trabajos realizados por Cutaia et al. (2005), se demostró



que las tasas de preñez fueron mayores cuando se utilizaron 2 mg EB en el momento de la inserción del dispositivo comparado con 1 mg de ECP al inicio del tratamiento de IATF.

Otros trabajos realizados (Bó et al., 2005 y Baruselli et al., 2007) demostraron que la administración de ECP en el momento del retiro de los dispositivos de P<sub>4</sub> resultaron en similares tasas de preñez que la administración de EB a las 24 h en vacas y vaquillonas tratadas con dispositivos con P<sub>4</sub> y 2 mg de EB en el momento de la inserción del dispositivo para sincronizar el desarrollo folicular. A su vez, Baruselli et al. (2007) propusieron utilizar una dosis de 0,5 mg en vaquillonas y 1 mg de ECP en vacas con cría al pie que son IATF a las 48 o 54 h desde la remoción de los dispositivos de P<sub>4</sub>.

### **Transferencia embrionaria**

La técnica de la transferencia embrionaria es una de las técnicas más difundidas en el mundo para multiplicar rápidamente la genética de elite (Tríbulo et al., 2000), y a pesar de que la industria de las transferencias de embriones ha sufrido grandes cambios favorables en un corto tiempo (Mapletoft et al., 1996) la necesidad de reproducir y conseguir animales de alto valor genético ha hecho que se lleve a cabo un desarrollo continuo de difusión de las biotecnologías reproductivas (García Guerra et al., 2016).

Los programas de transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF) constituyen una parte importante para multiplicar rápidamente la genética de animales superiores y por lo tanto mejorar la producción ganadera (Frade et al., 2014). A nivel mundial alrededor de 1 millón de embriones son producidos mediante dos tipos de técnicas: la superovulación de donantes para la producción *in vivo* de embriones y la técnica de aspiración folicular ovocitaria guiada por ultrasonografía (OPU, de sus siglas en inglés “ovum pick-up”) de donantes para la producción *in vitro* (PIV). La superovulación de donantes para producir embriones bovinos *in vivo* se realizan por lo general con una frecuencia de 30 días y estos embriones pueden ser criopreservados y transferidos de forma directa con tasas de concepción del 45,0 al 55,0% (Mapletoft, 2015).

A partir de 1970 la producción y la industria de la transferencia embrionaria a la actualidad creció de manera muy rápida (Mapletoft, 2015). Más en la actualidad, Perry (2015) reportó que en el 2013 un total de 573,970 embriones obtenidos de la producción *in vivo* de todo el mundo fueron transferidos, de los cuales el 60 % de estos fueron embriones criopreservados y transferidos posterior a la descongelación.

En cuanto a la PIV, Perry (2015) reportó un total de 546,628 embriones producidos por esta técnica y de los cuales el 70,8% de las transferencias fueron realizadas en Brasil. La PIV es en la actualidad un procedimiento eficaz (Brackett y Zuelke, 1993). La forma y la frecuencia en la técnica de la OPU y la fertilización *in vitro* (FIV) ha hecho que las producciones de embriones de las donantes sometidas a estas sesiones tengan un mayor rendimiento (García y Salaheddine, 1998) con tasas de concepción aceptables desde el 40,0 hasta el 45,0% (García Guerra et al., 2016; Tríbulo et al., 2017).

Existen varios factores que pueden influir en el éxito de las preñeces en un programa de transferencia de embriones (Hasler et al, 1987; Looney et al, 2006; Baruselli et al, 2009; Bó et al, 2012; Martins et al, 2012). En los trabajos reportados por Hasler et al. (1987) los investigadores analizaron retrospectivamente datos obtenidos de 6 años y medio de trabajos comerciales, e indicaron que los factores que influyen son: la producción de embriones a partir de donantes más longevas ( $\geq 15$  años de edad), la sincronía entre la donante y las receptoras, el intervalo entre el estro de la receptora y la transferencia de los embriones, la calidad morfológica y la etapa de desarrollo de los embriones y el intervalo del celo de la donante y la colecta de los embriones. Además, encontraron interacciones entre el día de la colecta y la calidad embrionaria, el día de la colecta y la etapa de desarrollo del embrión, la calidad embrionaria y la sincronía estral, el estadio embrionario y el intervalo del estro de la receptora a transferir, y el estadio embrionario y la sincronía estral que afectaron la concepción a la transferencia embrionaria.

Los factores que afectan la tasa de concepción en los programas comerciales de PIV también han sido reportados por Tríbulo et al. (2017), siendo los más importantes los factores relacionados con las receptoras (diámetro del CL) y el ambiente (campo). El campo donde se realiza la transferencia embrionaria también ha sido reportado como un

factor que influye sobre la tasa de concepción de embriones producidos *in vivo* (Hasler, 2001) e *in vitro* (Pellizzari et al., 2015; Sala et al., 2015).

El crecimiento sostenido de la producción de embriones, ha estimulado la necesidad de trabajar sobre los protocolos de sincronización y de su fertilidad, así como también de tratar de atenuar todos los factores que afectan los mismos, generando de esta forma nuevas estrategias para aumentar la eficiencia reproductiva. Por una parte, está la sincronización de las receptoras, y la tasa de aprovechamiento de las mismas que es medida por el porcentaje de receptoras que reciben un embrión sobre total de receptoras que se sincronizan (Bó et al., 2000d). Las receptoras pueden ser seleccionadas por un programa de detección de celos naturales o de celos inducidos, o mediante tratamientos hormonales que evitan la necesidad de observar si los animales entran en celo lo cual se le ha llamado transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF; Bó et al., 2002d).

### **Sincronización de receptoras utilizando $PGF_{2\alpha}$ y detección de celos vs Sincronización de la ovulación**

Independientemente del método utilizado para la sincronización de receptoras de embriones, si es efectuado por detección de celo naturales, inducidos o sincronizados es importante tener en cuenta una buena precisión en la detección o la presencia de los mismos en los animales tratados, debido a que se manifiesta como un factor clave y uno de los que más afecta el costo de manutención de una receptora desde que entra al programa hasta que queda preñada (Bó et al., 1996; Beal y Hinshaw, 2001). A esto se suma una continua necesidad de simplificar los protocolos de transferencia de embriones bovinos, incorporación de tratamientos que controlan la dinámica folicular y la ovulación (Bó et al., 1994b; Beal y Hinshaw, 2001).

La utilización de  $PGF_{2\alpha}$  ha sido uno de los pilares en el desarrollo de programas de sincronización del celo y la ovulación (Wiltbank y Pursley, 2014). Sala et al. (2015) evaluaron la tasa de utilización o aprovechamiento y la fertilidad de receptoras sincronizadas con  $PGF_{2\alpha}$  más la detección de celo vs receptoras sincronizadas con dispositivos de P<sub>4</sub> por 5 días en un tratamiento Co-Synch y transferidas a tiempo fijo,

obtuvieron como resultado que la utilización de un protocolo de TETF incrementó la tasa de aprovechamiento de receptoras (transferidas/tratadas) en un 21,7%, sin afectar los porcentajes de concepción por embrión transferido. Así mismo, el incremento de la tasa de aprovechamiento resultó en un incremento de aproximadamente el 10% en el porcentaje de preñez (preñada/tratada), aumentando de esta manera la eficiencia.

### **Utilización e importancia del uso de la eCG en los programas de sincronización**

La Gonadotropina coriónica equina (eCG), originalmente conocida como gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG), pertenece a la familia de las hormonas glicoproteicas (Murphy, 2012). Es producida por las copas endometriales del útero de la yegua entre 36 y 120 días de preñez (Murphy y Martinuk, 1991) y desempeña un papel importante en el mantenimiento de la gestación temprana en yeguas (Allen y Moor, 1972). Se caracteriza por su alto contenido de ácido siálico que es responsable de una larga vida media en la circulación sistémica (40 h) y, además, tiene la capacidad única de emular la acción de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en especies distintas de los caballos (Martinuk et al., 1991). Además, tiene un peso molecular muy alto (72.000 Dalton), con un nivel notablemente alto de glicosilación, donde más del 45,0% de las moléculas son carbohidratos, principalmente ácido siálico, galactosa y glucosamina (McKinnon et al., 2011).

A causa de esto, la eCG ha sido ampliamente utilizada para inducir la estimulación ovárica de las especies domésticas con el fin de avanzar en la pubertad, inducir la superovulación, revertir anestros y, más recientemente, sincronizar el celo para la IATF (Murphy, 2012; Bó y Baruselli, 2014) y mejorar las tasas de aprovechamiento y de preñez en receptoras sometidas a protocolos de TETF (Bó et al., 2002c). Se ha demostrado que el uso de eCG en programas de TETF resultan en un mayor porcentaje de preñez general (receptoras tratadas/ receptoras preñadas) que con los protocolos tradicionales con  $\text{PGF}_2\alpha$  (Baruselli et al., 2001; Bó et al., 2002c).

De esta manera, el incremento de las tasas de aprovechamiento y de concepción de receptoras es fundamental para maximizar varios aspectos como la tasa de preñez y un

retorno productivo y económico de la TE más elevado. Han sido reportados varios efectos positivos del uso de eCG en receptoras de embriones tratadas con protocolos de TETF, como la formación de un CL que produce más progesterona en el día de la transferencia (Baruselli et al., 2000 y Bó et al., 2002c), pero probablemente el efecto más importante de la eCG es la estimulación del desarrollo de un folículo dominante que desencadena en la ovulación de un folículo dominante de mayor tamaño (Bó et al., 2004) y una tasa ovulatoria más alta (Sá Filho et al., 2010; Núñez et al., 2014). Su efecto parece ser más pronunciado en vacas con cría al pie en anestro y con baja condición corporal (Sá Filho et al., 2010, Sales et al., 2011). Además, como consecuencia de la actividad de la eCG en el folículo ovulatorio, se ha demostrado un aumento en el nivel de P<sub>4</sub> circulante en la fase luteal posterior (Baruselli et al., 2004, Barreiros et al., 2014).

Randi et al. (2017) evaluaron la suplementación de 400 UI de eCG sobre la tasa de preñez de 1410 vacas con cría al pie de 61 campos diferentes que recibieron un Co-Synch + P<sub>4</sub> por 7 días, en los servicios por IATF de primavera y otoño en Irlanda. Los investigadores encontraron un efecto positivo del uso de eCG sobre la tasa de concepción en las vacas que carecían de un CL al inicio del tratamiento. En las vacas con baja condición corporal ( $\leq 2.25$ ), la suplementación de eCG (colocada en el Día 7) tendió a mejorar la tasa de concepción en comparación con las que no recibieron eCG. En primavera, la tasa de concepción fue 14,5% mayor en las vacas con eCG ( $P < 0,05$ ).

En programas de sincronización de receptoras, su uso ha sido orientado a un aumento en el tamaño del folículo ovulatorio, a un mayor número de folículos ovulatorios, y una mayor cantidad de receptoras aptas para realizar la TETF y con mayores niveles circulante de P<sub>4</sub> en ese momento. Fuente y De la Fuente (1997) reportaron datos en vaquillonas Holstein tratadas o no con eCG. En este trabajo (Fuente y de la Fuente, 1997) compararon las receptoras sincronizadas con dispositivos de P<sub>4</sub> y estradiol más eCG en comparación con otros 3 grupos las cuales fueron seleccionadas por presencia de celo natural, celo sincronizado con PGF  $2\alpha$ , y celo sincronizado con dispositivos de P<sub>4</sub> y estradiol sin eCG. En todos los grupos se realizó detección de celo y la SE TE realizó 7 días después, el número de receptoras seleccionadas para ser transferidas fue mayor ( $P=0,0001$ ) en las vaquillonas del grupo de recibieron eCG que en las seleccionadas con

celo natural 50,0%, celo con  $\text{PGF}_2\alpha$  45,0% y que las sincronizadas con dispositivos de  $\text{P}_4$  más estradiol y sin eCG 49,0%. Además, esto resultó en una mayor tasa de preñez final (preñadas/tratadas) en las receptoras que recibieron eCG que en los otros grupos (29,0%, 19,0%, y 22,0%, respectivamente). Baruselli et al. (2001) en un trabajo efectuado en Brasil con receptoras cruzas cebú obtuvieron resultados similares a los antes mencionado. En este trabajo las vaquillonas sincronizadas con un dispositivo de  $\text{P}_4$  por 7 días más 800 UI de eCG en el día 5 lograron una mayor tasa de preñez y una mayor cantidad de receptoras con más de una ovulación que las que fueron sincronizadas de la misma manera, pero sin eCG.

### **Tratamiento de sincronización de receptoras de embriones que utilizan dispositivos con $\text{P}_4$ más Estradiol y/o GnRH**

Desde hace muchos años se han utilizado los mismos tratamientos de IA para realizar la TE. El tratamiento más utilizado en Sudamérica para realizar la TETF consiste en administrar 2 mg de EB por vía i.m. junto con la inserción de un dispositivo con  $\text{P}_4$ , en lo que se denomina el Día 0. En el Día 5 se coloca una dosis luteolítica de  $\text{PGF}_2\alpha$  y se aplican 400 IU de eCG por vía i.m. En el Día 8 se extrae el dispositivo y 24 h después se administra 1 mg de EB por vía i.m. En el Día 17, se realiza TETF a todas las receptoras que tienen un CL. Este protocolo resulta en una tasa de aprovechamiento del 85% y una tasa de concepción del 50% con embriones producidos *in vivo*, por lo que se aprovecha al máximo el uso de las receptoras de que se disponen en un establecimiento y sin afectar las tasas de preñez (Bó et al., 2002c y 2004).

Como la aplicación del protocolo de sincronización para realizar la TE necesita de varios tratamientos (Día 0, Día 5, Día 8 y Día 9), se desarrollaron trabajos para simplificar estos protocolos (Bó et al., 2012b). El protocolo que es más usado actualmente consiste en administrar 2 mg de EB i.m. junto con la inserción de un dispositivo con  $\text{P}_4$ , en lo que se denomina el Día 0. En el Día 8 se realiza la remoción del dispositivo con  $\text{P}_4$  y se colocan tres inyecciones por vía i.m.: una dosis luteolítica de  $\text{PGF}_2\alpha$ ; 400 UI de eCG y 0.5 mg de ECP (Bó et al., 2012b).

La utilización de ECP en el momento de la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub> en lugar del EB a las 24 h ha disminuido la necesidad de tratar a las vacas una vez más y simplificado el protocolo de sincronización de celos para IATF y TETF. La administración de 2 mg i.m. de ECP ha demostrado que es suficiente para que vaquillonas ovariectomizadas muestren celo (Lefebvre y Block, 1992). Souza et al., (2009) describieron que el ECP incrementó el porcentaje de vacas lecheras en celo dentro de las 48 h, las cuales ovularon antes y son menos sincronizadas comparadas con vacas sin celo prematuro, y además reportaron que existe una mayor variabilidad al momento de pico de LH en vacas tratadas con ECP en relación con las tratadas con GnRH. Uslenghi et al., (2014) encontraron una mayor variabilidad en el momento de la ovulación en vacas de carne tratadas con ECP que las tratadas con EB a las 24 h de la remoción del dispositivo.

Stevenson et al. (2004) en un experimento realizado sobre 119 vacas de leche obtuvieron una mayor cantidad de vacas en celo tratadas con ECP que en aquellas que fueron tratadas con GnRH y reportaron que los intervalos entre el estro y ovulación y el intervalo desde el inicio del pico preovulatorio de LH hasta la ovulación son similares después de la aplicación GnRH o de ECP, lo que sugiere que el inicio del celo y el aumento de LH son eventos casi simultáneos. De hecho, con los programas de inseminación artificial el diámetro del folículo dominante, la suplementación con ECP y la manifestación del comportamiento del celo se han correlacionado positivamente con el éxito de las preñeces (Sá Filho et al., 2010, 2011). Estos autores encontraron que las vacas que mostraron celo tenían una mayor tasa de preñez (58,5%; 203/347; P<0,0001) que las vacas que no mostraron celo (32,1%; 62/193). Además, encontraron una mayor presencia de celo (P<0,0001) en las vacas que recibieron el tratamiento con ECP en el momento del retiro del dispositivo (ECP=78,7%; 140/178 y ECP+GnRH=72,7%; 125/172) comparado con aquellas vacas que recibieron sólo el tratamiento con GnRH en el momento de la IATF (43,2%; 82/190). Las vacas que fueron tratadas con ECP (56,2%; 100/178) o ECP más GnRH (52,9%; 91/172), también tuvieron mayor tasa de preñez a la IATF que las vacas tratadas sólo con GnRH (39,0%; 74/190).

Otros trabajos incorporaron protocolos de sincronización que utilizan la GnRH para sincronizar la onda folicular y/o sincronizar la ovulación. En estos programas el rol de

mayor importancia acerca de esta hormona ha sido la de sincronizar la ovulación (Hinshaw et al., 1999). Estos tratamientos que incorporan la GnRH se efectúan insertando un dispositivo con P<sub>4</sub> entre los Días 0 y 7; se coloca GnRH en los Días 0 y 9 y las vacas reciben una dosis luteolítica de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  cuando se remueve el dispositivo con P<sub>4</sub>. Luego todos los animales que generan un CL en el Día 16 (7 días después de la segunda GnRH) son utilizados para recibir un embrión producido *in vivo* o *in vitro*. Además, también en estos protocolos se puede utilizar eCG para estimular el desarrollo folicular (Mayor et al., 2008).

Otro tratamiento de TETF también utilizado ha sido el de la reducción del período de dominancia del folículo ovulatorio (retirando el dispositivo con progesterona 5 días después de la inserción) y el aumento del tiempo de proestro (periodo entre la remoción del dispositivo y la ovulación) y que ha mejorado la preñez por IATF (Bridges et al., 2008). Este tratamiento denominado Co-Synch de 5 días ha resultado en una proporción comparable de receptoras de embriones aptas para ser transferidas y similares tasas de concepción que los protocolos que utilizan estradiol y dispositivos de P<sub>4</sub> por 7 u 8 días (Bó et al., 2012b).

En un trabajo reportado por Sala et al. (2015) utilizaron el protocolo de sincronización Co-Synch en 520 vaquillonas Holstein como receptoras las cuales recibieron un embrión *in vitro* el día de la TETF y lograron una tasa de aprovechamiento que alcanzo el 87,3% (309/354) y una tasa de preñez del 43,4%. Este protocolo incremento la tasa de utilización de las receptoras (transferidas/tratadas) sin afectar los porcentajes de preñez por embrión transferido cuando se comparó con un programa de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  mas detección de celo. Además, con este tratamiento el incremento en la tasa de utilización resulto en un aumento en el porcentaje de preñez por animal tratado (+20,0%).

Un beneficio importante de este protocolo es que tiene la misma duración que el protocolo de superovulación, por ende, se pueden iniciar receptoras y donantes de embriones *in vivo* al mismo tiempo. En este tratamiento se inician las vacas con un dispositivo de P<sub>4</sub> y GnRH, en el Día 5 se retira el dispositivo y se colocan dos dosis de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  con intervalo de 12 h y 400 UI de eCG en el momento del retiro del dispositivo.



Luego, 72 h más tarde desde el retiro de los dispositivos, se coloca otra dosis de GnRH. Todos animales que tienen un CL en la Día 15 (7 días después de la segunda GnRH) son transferidos con embriones producidos *in vivo o in vitro* (Bó et al., 2015a). Además, otra variable con este protocolo de sincronización para realizar TETF con embriones *in vitro* es la de no colocar GnRH en el Día 0 y de esta forma se evita un encierre menos de los animales, ya que la dosis luteolítica que se requiere sería solo efectuada en el momento de la remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> (Sala et al., 2016).

Desde hace algunos años de la Mata y Bó (2012) reportaron un nuevo tratamiento de sincronización para vaquillonas de carne en programas de IATF, con resultados muy favorables y con tasas de preñez más altas que con las obtenidas en los protocolos tradicionales con ECP (Bó et al., 2016). A este protocolo se le denominó J-Synch y el mismo utiliza 2 mg de EB y un dispositivo con P<sub>4</sub> en un período de 6 días, reduciendo de esta manera el período de dominancia del folículo. Luego se administra GnRH para inducir la ovulación a las 72 h desde la remoción, y priorizando el proestro. Los resultados demostraron que el protocolo J-Synch es un tratamiento eficiente para sincronizar la ovulación en vaquillonas para carne de manera similar al protocolo Co-Synch de 5 días (de la Mata y Bó 2012; Ré et al., 2014; de la Mata et al., 2015).

Menchaca et al. (2015) reportaron la utilización con éxito del protocolo J-Synch con la adición de 400 UI de eCG en la sincronización de vacas receptoras cruza Hereford que recibieron embriones sexados producidos *in vitro*. En este trabajo las receptoras fueron tratadas con el tratamiento J-Synch + 400 UI de eCG y con un tratamiento convencional con dispositivos con P<sub>4</sub> y EB al inicio y PGF<sub>2α</sub> más ECP y 400 UI de eCG de forma aleatoria. Los embriones fueron transferidos en fresco en el Día 16 o 17, resultando en una tasa de preñez mayor ( $P < 0,05$ ) el grupo J-Synch (49,3%) que en el grupo convencional (40,9%).

Este aumento en la tasa de preñez se cree que podría estar asociada a una exposición más prolongada al estradiol endógeno producido por el folículo dominante. Este aumento de estradiol preovulatorio ha sido asociado por Perry et al. (2005 y 2007) y Bridges et al. (2010) a un mayor éxito a las tasas de preñez. Si bien el estradiol

preovulatorio coordina varios procesos fisiológicos que contribuyen al establecimiento y mantenimiento de la preñez, los cuales incluyen efectos sobre las células foliculares, el ovocito, el transporte de gametos, la preparación del medio uterino y dentro del folículo aumenta la mitosis de las células de la granulosa (Goldenberg et al., 1972); la administración exógena de estradiol en hembras 24 h antes de la ovulación inducida, también mejora las tasas de preñez de las hembras que ovulan folículos pequeños (es decir, <12,2 mm de diámetro) pero no de folículos grandes (Jinks et al., 2013).

En los trabajos realizados por Jinks et al. (2013) demostraron que la ovulación inducida con GnRH a partir de pequeños folículos dominantes está asociada con una menor concentración de estradiol en la fase peri estral del ciclo, el cual tiene un impacto negativo en el establecimiento de la preñez de receptoras de embriones cuando son comparadas con hembras a las cuales se les administra ECP durante el período preovulatorio. Esta administración exógena de estradiol aumentó la tasa de concepción en hembras que fueron inducidas para ovular folículos dominantes más pequeños (45,0% vs 65,0% de preñez, respectivamente).

### **Importancia del celo en los programas de IATF y TETF**

Para los protocolos de IATF, el momento de la inseminación está programado para dar lugar a una superposición entre el período de viabilidad del ovocito después de la ovulación y la disponibilidad de espermatozoides capacitados en la ampolla del oviducto. Sin embargo, en el momento de IATF, hay una población mixta de vacas o vaquillonas que expresan o no signos de celo (Dickinson et al., 2016). La expresión de celo después de la aplicación de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  o de la remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> y antes de la IATF ha sido investigada por Richardson et al. (2016) quienes han reportado que la expresión de celos aumenta el número de espermatozoides accesorios y mejora las tasas de fertilización y de supervivencia del embrión. Por lo tanto, es así como la expresión del celo puede impactar fuertemente en el éxito de la preñez.

Si bien se ha reportado que la incorporación de los tratamientos que controlan la dinámica folicular y la ovulación reducen el problema de la detección de celos y ofrecen

posibilidades para la aplicación de las biotecnologías reproductivas (IATF y TETF; Bó et al., 2015b); actualmente se conoce que hay una correlación positiva entre la manifestación del comportamiento estral tanto en vacas de leche (Tschopp y Bó, 2015; Lima et al., 2016) como en vacas de carne (Sá Filho et al., 2011; Frade et al., 2014) sobre la tasa de concepción. Estos resultados sugieren que la identificación de estos animales con comportamiento estral después de la remoción del dispositivo intravaginal puede ser una herramienta útil al momento de inseminar animales. Además, también podría ser utilizada en el proceso de selección de receptoras que tengan mayor probabilidad de quedar preñadas después de una TE (Frade et al., 2014).

Sá Filho et al. (2011) determinaron que la manifestación del comportamiento estral antes de la IA estaba asociada con folículos ováricos mayores, mayores concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> durante la fase luteal y mayores tasas de concepción. Así mismo Frade et al. (2014) evidenciaron que a pesar de no encontrar diferencias entre los tamaños de los CL de las vacas cruza *Bos taurus* por *Bos indicus* utilizadas como receptoras, la tasa de concepción fue mayor en aquellas que fueron observadas en celo que en aquellas que no lo mostraron (62,4% vs 47,0%, respectivamente).

Una manera de facilitar la detección de celos es mediante el empleo de dispositivos detectores de monta o de pintura aplicada en la base de la cola al momento del retiro de los dispositivos intravaginales (Cuatrín et al., 2011; Stahringer et al., 2011; de la Mata et al., 2013). La pintura o la tiza en la cola son menos costosos comparados con otros mecanismos para la detección del celo. La interpretación de las marcas de pintura que se colocan en la grupa es clave para que estos métodos sean una parte importante del programa de detección de celo. La pérdida de la pintura desde el último control del celo indica que la vaca fue montada varias veces y esto su vez indica la presencia del celo en las hembras (Stevenson et al., 2001). Esta medida permite tener identificados a aquellos animales que no muestran celo y a los cuales se les puede inducir ovulación del folículo dominante. Este folículo dominante (>9 mm de diámetro) responde a la aplicación de GnRH y su ovulación ocurre entre las 24 y 32 h posteriores (Pursley et al., 1995 y 1998; Martínez et al., 1999 y 2002a).

Hipotéticamente se creería que estos animales que no han expresado celo antes de la IA requerirían de una inyección con GnRH o estradiol para inducir una oleada preovulatoria de LH y la ovulación. Las hembras que exhiben estro antes o en el momento de la IATF normalmente tienen un aumento espontáneo de la LH y experimentan mayores tasas de concepción en comparación con aquellas que no exhiben estro (Perry et al., 2005; Larson et al., 2006). Por lo tanto, un desafío para las biotecnologías reproductivas es manipular el ciclo estral o la inducción de la ovulación de tal manera que el microambiente folicular sea óptimo para la adquisición de la competencia ovocitaria y la programación del entorno materno para el establecimiento y mantenimiento del embrión gestante.

# **HIPÓTESIS**

## **HIPOTESIS I**

Los animales que manifiestan celo en protocolos de sincronización luego del retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub> tienen una mayor tasa de concepción que los que no manifiestan celo en programas de inseminación artificial y transferencia embrionaria a tiempo fijo.

## **HIPOTESIS II**

La aplicación de GnRH en animales que no manifiestan celo en protocolos de sincronización aumenta la tasa de concepción en programas de inseminación artificial y transferencia embrionaria a tiempo fijo.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la presentación de celos en protocolos de sincronización y el tratamiento con GnRH como segundo inductor de ovulación en los animales que no manifiestan celo, sobre la tasa de concepción a los programas de inseminación artificial y de transferencia embrionaria a tiempo fijo.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Evaluar si la presentación de celos y el tratamiento con GnRH aplicada a las 48 h desde la remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> a los animales que no manifiestan celo aumenta la tasa de concepción en las hembras que no manifiestan celo en programas de IATF en un protocolo de sincronización convencional con dispositivos con P<sub>4</sub> y ECP como inductor de ovulación (Experimento 1).

Evaluar el efecto de la presentación de celos sobre la tasa de concepción de vacas y vaquillonas sincronizadas con el protocolo J-Synch (Experimento 2).

Evaluar si la presentación de celos y el tratamiento con GnRH aplicada a las 48 h desde la remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> a las vacas que no manifiestan celo, aumenta la tasa de aprovechamiento y de concepción de receptoras en programas de TETF sincronizadas con un protocolo convencional con dispositivos con progesterona y ECP como inductor de ovulación (Experimento 3).

Comparar la tasa de aprovechamiento, la tasa de concepción, las pérdidas embrionarias/fetales tempranas y tardías y el efecto de la manifestación del celo de receptoras que son sincronizadas con un protocolo convencional con ECP como inductor de ovulación vs las que reciben un protocolo de proestro prolongado sin suplementación de ECP (J-Synch; Experimento 4).

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Lugar de Trabajo

Los Experimentos 1 y 2 de esta tesis fueron realizados en la Estancia el Mangrullo, ubicada en la localidad de Lavalle, provincia Santiago del Estero, Argentina y en la Estancia Santo Domingo ubicada en la localidad de Rio Ceballos, provincia de Córdoba. Los Experimentos 3 y 4 fueron realizados en las Estancias y cabañas del norte de Argentina que se mencionan: Estancia el Mangrullo, Estancia La Colonia ubicada en la localidad de Malbrán provincia de Santiago del Estero, Estancia La Cruz ubicada en el km 901 de la ruta N9 en la localidad de Rio Seco provincia de Córdoba, Estancia Tres Quebrachos ubicada en la localidad de Quilino provincia de Córdoba, Cabaña el Porvenir localizada en Quilino provincia de Córdoba, Estancia A.G.D ubicada en la localidad El Espinillo provincia de Formosa y Estancia Las Pencas ubicada en la localidad de Rio Seco, provincia de Córdoba. Estos campos se caracterizan por encontrarse con una altitud media de 464 msnm con temperaturas máximas de 40 °C en verano y mínimas de -5 °C en invierno (Laura, 2007).

#### EXPERIMENTO 1

Se utilizaron 868 animales (530 vacas secas y 255 vaquillonas) cruza cebú por Bonsmara, cebú por Brangus y cebú por Braford, y vacas con cría (n=83) cebú por Brangus que fueron sincronizadas en 3 réplicas (Réplica 1; n=586. Réplica 2: n=103 y Réplica 3: n=179). Al inicio de cada replica se realizó ultrasonografía transrectal (Mindray DP 30 Vet, 7.5 MHz, China) y el criterio de inclusión de estos animales fue que tuvieran un CL o por lo menos un folículo  $\geq 8$  mm de diámetro, una condición corporal entre 2,5 y 4 (escala 1 al 5) y ninguna patología uterina detectable con ultrasonografía. En el Día 0, todos los animales recibieron un dispositivo intravaginal con 0,5 g de P<sub>4</sub> (DIB 0,5; Zoetis, Argentina) y 2 mg de EB (Von Franken S.A. Argentina). Los dispositivos fueron

removidos a los 7 u 8 días. En el momento del retiro todos los animales recibieron 0,5 mg de ECP (Cipiosyn, Zoetis) más  $PGF_{2\alpha}$  (0,150 mg de D+Cloprostenol; Prostaglandina, Lab. Rio de Janeiro, Argentina) y fueron además pintados en la zona sacrocoxígea con 10 a 15 cm de pintura de largo por 5 cm de ancho (CeloTest, Biotay S.A., Argentina). Todos los animales fueron observados en la manga entre las 47 y 51 h desde la remoción del dispositivo y se determinó la expresión del celo de acuerdo al porcentaje de pérdida pintura. Los animales que mostraron celo (pérdida de la pintura  $>30,0\%$ ) recibieron IATF en ese momento y las que no mostraron celo (pérdida de la pintura  $\leq 30,0\%$ ; Tabla 2.1) fueron divididas al azar para suministrarle o no GnRH (100  $\mu\text{g}$  de acetato de gonadorelina; Gonasyn gdr, Zoetis) y luego recibir IATF entre las 54 y 58 h de la remoción del dispositivo. A su vez, se volvió a observar el porcentaje de pérdida de pintura de estos animales en el momento de la IATF, para determinar si habían sido montados o no entre las 48 y las 54 h. Se realizó el diagnóstico de gestación por ultrasonografía a los 45 días de la IATF. El diseño experimental se muestra en la Figura 2.1.

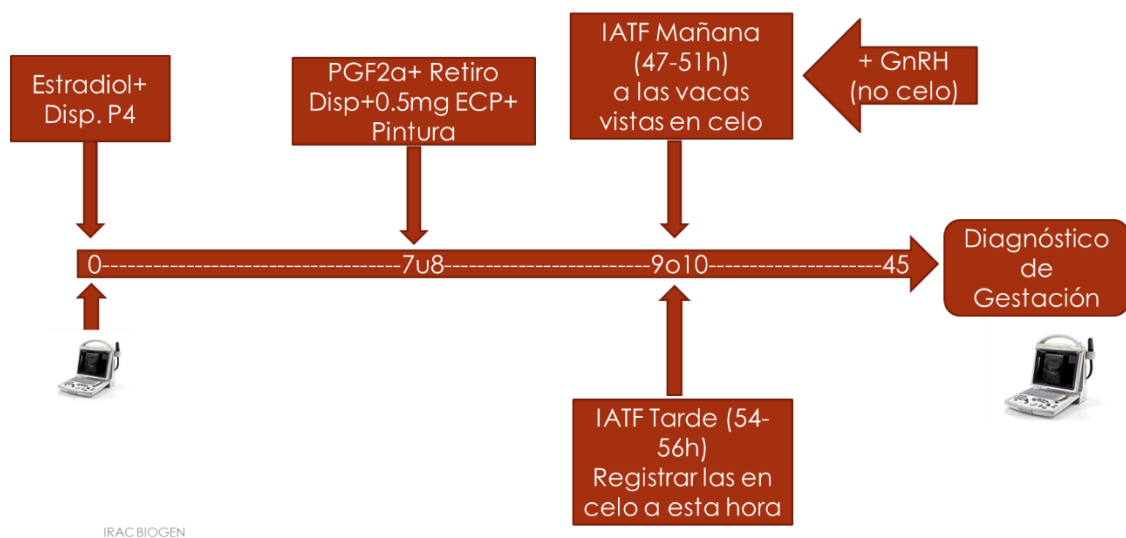


Figura 2.1. Esquema de sincronización de celo e IATF para vacas y vaquillonas de carne según expresen o no celo a las 48 h de la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. Las hembras que no manifestaron celo a las 48 h se dividieron aleatoriamente para recibir o no GnRH a las 48 h y ser IATF entre las 54 y 56 h.



Tabla 2.1. Categorización de animales con o sin celo de acuerdo al porcentaje de pérdida de pintura (pp) medido a través del diagnóstico visual.

Observación	Porcentaje	Celo
Despintadas	>30,0% pp	Si celo
Pintadas	≤30,0% pp	No celo

## EXPERIMENTO 2

En este experimento se utilizaron un total de 253 animales cruce cebú por Bonsmara y Bonsmara puras, que fueron bloqueadas por categoría (vacas secas cruce Bonsmara n=139, vacas secas Bonsmara puras n=32 y vaquillonas cruce Bonsmara; n=82). Al inicio del Experimento se realizó ultrasonografía transrectal y el criterio de inclusión de estos animales fue que tuvieran un CL o por lo menos un folículo  $\geq 8$  mm de diámetro, una condición corporal entre 2 y 4 (escala 1 al 5) y ninguna patología uterina detectable con ultrasonografía. Se utilizó un protocolo de sincronización conocido como J-Synch. Para ello los animales fueron examinados en el Día 0 por ultrasonografía y recibieron la aplicación de dispositivos intravaginales con 0,5 g de P<sub>4</sub> (Procrear Synkro<sup>xy</sup> 0,5 g, Proagro S.A., Argentina) y 2 mg de EB (Benzoato de Estradiol, Synkro<sup>xy</sup>). Los dispositivos fueron removidos 6 días después y recibieron la aplicación de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (0,150 mg de D+Cloprostenol, Synkro<sup>xy</sup>). En ese momento todos los animales fueron pintados (10 a 15 cm de largo por 5 cm de ancho) sobre la zona sacrocoxígea como en el Experimento 1. Luego de 72 h desde la remoción desde dispositivo todos los animales recibieron GnRH (10,5  $\mu$ g de acetato de Buserelina; Synkro<sup>xy</sup>). El diagnóstico del celo fue realizado igual que en el Experimento 1. Los animales despintados fueron IATF entre las 61 y 66 h y los animales que no mostraron celo recibieron IATF entre los 69 y 72 h. Las vaquillonas (n=82) en el Día 6 fueron además subdivididas para recibir o no 300 UI de eCG (Novormón 5000, Zoetis S.A., Argentina).

### EXPERIMENTO 3

Se utilizaron un total de 729 animales (vacas secas cruza cebú por Bonsmara n=144 y cruza Brangus y Braford n=585) que fueron sincronizadas en 7 réplicas (Réplica 1: n=144. Réplica 2: n=55. Réplica 3: n=53. Réplica 4: n=200. Réplica 5: n=78. Réplica 6: n=135. Réplica 7: n=64). Como en los experimentos anteriores, al inicio de cada réplica se realizó ultrasonografía transrectal y el criterio de inclusión de estos animales fue que tuvieran un CL o por lo menos un folículo  $\geq 8$  mm de diámetro, una condición corporal entre 2,5 y 4 (escala 1 al 5) y ninguna patología uterina detectable con ultrasonografía. En el Día 0 todos los animales recibieron un dispositivo con 0,5 de P<sub>4</sub> (DIB 0,5 g, Zoetis S.A., Argentina) más 2 mg de EB (Gonadiol, Zoetis). En el Día 8 se efectuó el retiro de los dispositivos y se administró 400 UI de eCG (Novormon 5000, Zoetis) más 0,5 mg de ECP (Cipiosyn, Zoetis) y 500  $\mu$ g de Cloprostenol (Ciclase, Zoetis). Además, todas las vacas fueron pintadas con una línea de 12 a 15 cm de largo por 5 cm de ancho sobre la zona sacrocoxígea como en los experimentos anteriores. A las 48 h desde la remoción de los dispositivos se pasaron todas las vacas por la manga y se realizó el diagnóstico del celo igual que los experimentos anteriores. Los animales que mostraron celo fueron registrados y los que no mostraron celo fueron divididos al azar para recibir o no GnRH (100  $\mu$ g de acetato de gonadorelina, Gonasyn gdr, Zoetis), y entre las 56 y 58 h se volvió a controlar la manifestación del celo. Luego de 7 días se realizó ultrasonografía para diagnosticar y seleccionar animales con CL  $\geq 18$  mm de diámetro (Grado 1),  $\geq 16$  a 17.9 mm de diámetro (Grado 2) y  $\leq 15.9$  mm hasta 14 mm de diámetro (Grado 3) que recibieron TETF con embriones producidos *in vivo* y congelados/descongelados en etilenglicol 1.5 M o con embriones producidos *in vitro* frescos (Figura 2.2) y además se controló la condición corporal en ese momento.

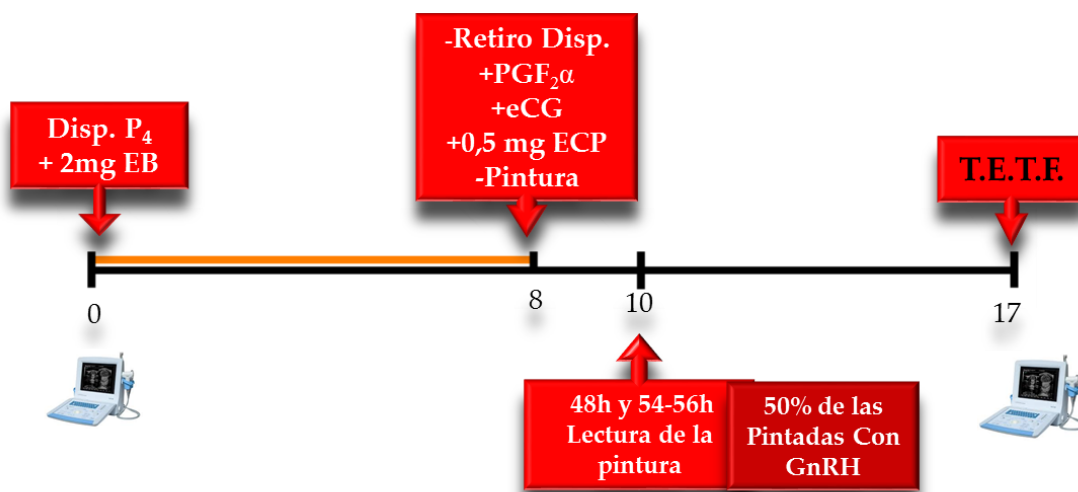


Figura 2.2. Esquema de sincronización y tratamientos utilizados sobre hembras que recibieron un embrión *in vivo* o *in vitro* en el día de la TETF. Todos los animales sin celo a las 48 h de remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> fueron divididos aleatoriamente para recibir o no GnRH.

## EXPERIMENTO 4

Se utilizaron un total de 403 vacas primíparas secas cruce cebú por Brangus (n=205) y Braford (n=198). Como en los experimentos anteriores, al inicio del experimento se realizó ultrasonografía transrectal y el criterio de inclusión de estos animales fue que tuvieran un CL o por lo menos un folículo  $\geq 8$  mm de diámetro, una condición corporal entre 2,5 y 4 (escala 1 al 5) y ninguna patología uterina detectable con ultrasonografía. En el Día 0 todos los animales recibieron un dispositivo con 0,5 g de P<sub>4</sub> (DIB 0,5 g, Zoetis) más 2 mg de EB (Gonadiol, Zoetis). El total de receptoras fue dividido en forma aleatoria para recibir uno de dos tratamientos de sincronización. El Grupo 1 recibió un tratamiento de sincronización igual que en el Experimento 3; en el cual al Día 8 se removieron los dispositivos intravaginales y se aplicó 500  $\mu$ g de Cloprostenol, 0,5 mg ECP, 400 UI eCG y pintura sobre la zona sacrocoxígea. Los animales del Grupo 2 recibieron un tratamiento de sincronización J-Synch similar al Experimento 2; en el cual al Día 6 se removieron los dispositivos intravaginales y se aplicó 500  $\mu$ g de Cloprostenol, 400 UI eCG y pintura. Todas las vacas sin celo al Día 10 (48 h) en el Grupo 1 y al Día 9 (62 h) en el Grupo 2 recibieron GnRH (100  $\mu$ g de acetato de gonadorelina, Ovurelin, Bayer, Nueva Zelanda). Posterior al tratamiento con GnRH se controló la manifestación del celo igual que en los experimentos anteriores, entre las 54 y 56 h para el Grupo 1 y entre

las 70 y 72 h en el Grupo 2. Además, todas las vacas recibieron un embrión producido *in vitro* mediante TETF 7 días posterior a la manifestación del celo para ambos grupos.

## **ULTRASONOGRAFÍA**

Al inicio de cada experimento se realizó ultrasonografía transrectal de tiempo real con transductor lineal 7.5 MHz (Mindray® DP 30 Vet, Shenzhen, China), con el fin de determinar que animales en ese momento se encontraban aptos para el inicio de las sincronizaciones, verificación de estructuras ováricas y descartar animales con problemas reproductivos (solo folículos <8 mm de diámetro, úteros caídos, cervicitis). Por tal efecto, para el desarrollo de los Experimentos se utilizaron animales con presencia de CL o folículos grandes (FG)  $\geq 8$  mm de diámetro. Para los Experimentos 1 y 2 se realizó ultrasonografía para diagnóstico de gestación a los 30 días post IATF. Para los Experimentos 3 y 4 se realizó ultrasonografía para diagnóstico de gestación a los 23 días de la siembra de los embriones, considerando los 7 días de vida con el que el embrión fue transferido. Además, en los Experimentos 3 y 4 las receptoras fueron examinadas por ultrasonografía a los 7 días posteriores al celo o de la administración de GnRH en las que no tuvieron celo. En ese momento se midieron los CL presentes, tomando el promedio del ancho y el largo del CL en mm (Perry and Cushman, 2016). Todas las receptoras con CL  $\geq 14$  mm de diámetro recibieron un embrión en el cuerno ipsilateral al mismo. Los CL fueron clasificados de acuerdo a su diámetro en CL grado 1  $\geq 18$  mm, grado 2  $< 18$  y  $> 16$  mm y grado 3  $\geq 14$  mm (Pelizzari et al., 2015). La cantidad de receptoras que respondieron al tratamiento de sincronización con un CL  $\geq 14$  mm fue dividida por el total de receptoras sincronizadas y con eso se obtuvo la tasa de aprovechamiento (TA).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento de modelos lineales generalizados y mixtos (MLGM) para familia de datos binarios (0 vacía y 1 preñada) con enlace logit, para determinar la influencia de las distintas variables y sus interacciones sobre la tasa de concepción. Se utilizó un alfa 0,05 para determinar diferencias

significativas y 0,10 como valor de tendencia. Todos los datos se analizaron con el paquete estadístico de InfoStat (Di Rienzo et al., 2017). Para los Experimentos 1 y 2 fue considerada como variable dependiente o regresora la concepción (1=preñada, 0=vacía), como efecto fijo se consideró al Celo, GnRH, condición corporal, categoría del animal (Vaca, vaca con cría y vaquillona), raza animal, estructura ovárica en el Día 0 (CL o Fol > 8 mm de diámetro) y sus interacciones. Como efectos aleatorios se consideraron las réplicas, la identificación animal y los operarios. Para verificar que modelo fue el más adecuado se tuvo en cuenta los valores de AIC y BIC. El modelo escogido en cada experimento fue aquel que tuviera AIC y BIC menores para todos los experimentos. AIC hace referencia al criterio de Akaike y BIC al Criterio Bayesiano de Información (Di Rienzo et al., 2017). Cuando las diferencias fueron significativas se procedió a realizar comparaciones mediante LSD Fisher. Para los Experimentos 3 y 4 la variable respuesta fue la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción. Se consideró como una covariable a la medida de los CL y como efectos fijos a: Celo, GnRH, condición corporal, categoría del animal, estructura ovárica en el Día 0, grado del CL, lado de la de la transferencia embrionaria, calidad de la transferencia, tipo de embrión y sus debidas interacciones. Se tuvo en consideración como efectos aleatorios a las réplicas, la identificación animal y los operarios. Cuando las diferencias fueron significativas se procedió a realizar comparaciones mediante LSD Fisher.

## RESULTADOS

## EXPERIMENTO 1

La tasa de concepción en este experimento fue del 54,0% (467/868). Los resultados analizados demuestran que se encontraron diferencias significativas entre los animales que estaban despintados (en celo) a las 48 h desde la remoción en comparación con los que no mostraron celo en ese momento (P=0,04; Tabla 3.1).

Además, se encontró también una interacción entre la condición corporal de los animales y la presencia o no del celo a las 48 h del retiro de los dispositivos intravaginales sobre la tasa de concepción (Figura 3.1; P=0,02). Esta interacción fue atribuida a que cuando se inseminaron animales con condición corporal  $<2$  y  $\geq 4$ ; el celo, tuvo un efecto significativo sobre la tasa de concepción.

Tabla 3.1. Tasa de concepción en función de la presentación del celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo y porcentaje de vacas en celo.

Celo	n	Preñadas	Concepción	Tasa de celo
Si celo	666	371	56,0% <sup>a</sup>	77,0%
No celo	202	96	48,0% <sup>b</sup>	23,0%

<sup>ab</sup> Los porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente (P=0,04)

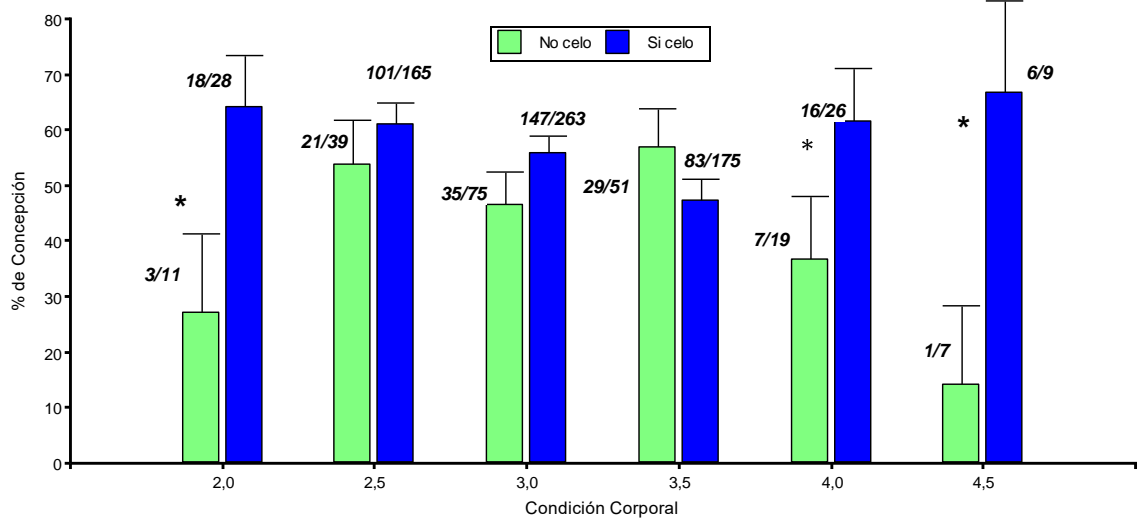


Figura 3.1. Tasa de concepción en función de la condición corporal al momento de la IATF y de la presentación del celo a las 48 h desde el retiro de los dispositivos de P<sub>4</sub> (T=DE). \*Las columnas difieren significativamente (P<0,02). Vacas con condición corporal < 2 y ≥ 4 son significativamente distintas debido a la manifestación o no del celo.

No se encontraron diferencias entre las categorías vacas secas, vacas con cría y vaquillonas (P=0,45; Figura 3.2), y tampoco hubo diferencias significativas entre duración de tratamiento (7 u 8 días de dispositivos de P<sub>4</sub>), condición corporal, operario, réplicas y toros utilizados (P≥0,22).

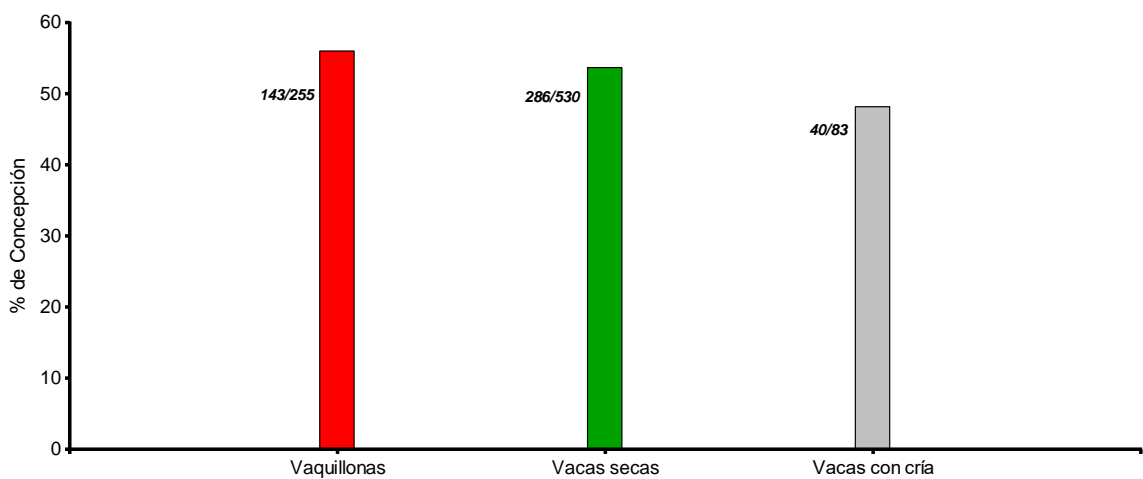


Figura 3.2. Tasa de concepción en función de la categoría animal. Los porcentajes no difieren significativamente (P>0,05).

Considerando solo los animales que no manifestaron celo (pintadas) a las 48 h, la tasa de concepción fue mayor ( $P < 0,01$ ) en las que se despintaron entre las 48 y 56 h (71/124; 57,2%) que las que no se despintaron en ese periodo de tiempo (25/78; 32,0%; Figura 3.3).

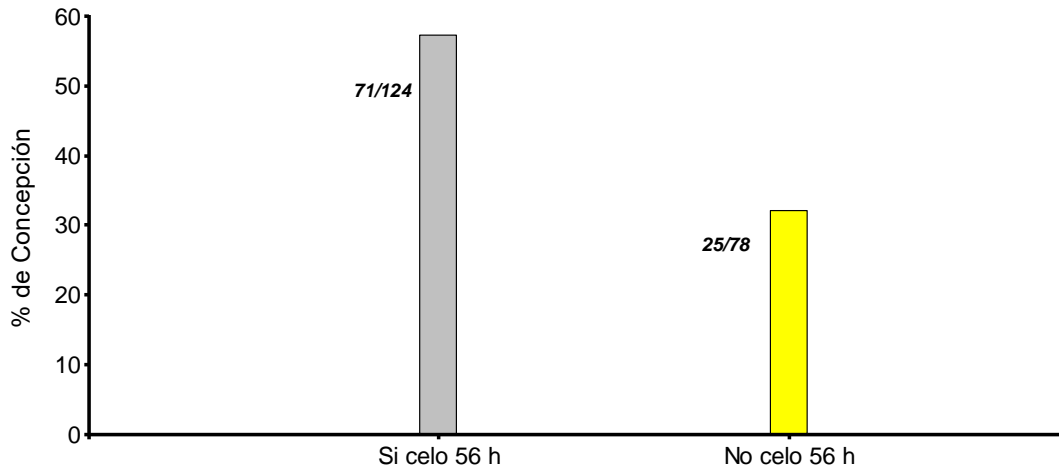


Figura 3.3. Tasa de concepción en función de la expresión del celo entre las 48 y 56 h en las vacas que no estaban en celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Superíndices distintos dentro de las columnas indican diferencias significativas ( $P < 0,01$ ).

Asimismo, en las Figuras 3.4 y 3.5 se muestra que la tasa de concepción fue mayor en los animales que recibieron GnRH (58,4%; 66/113;  $P = 0,004$ ) que en los que no recibieron (33,7%; 30/89), sin encontrar una interacción significativa entre GnRH y celo ( $P = 0,49$ ).

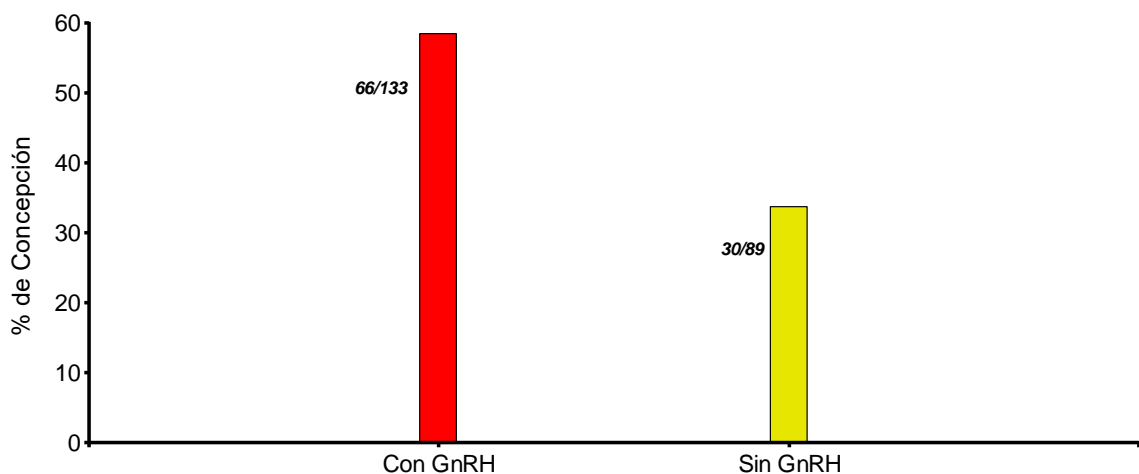


Figura 3.4. Tasa de concepción en función de la aplicación de GnRH en animales que no expresaron celo a las 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Superíndices distintos dentro de los cuadrados indican diferencias significativas ( $P < 0,004$ ).



No obstante, al analizar cada combinación posible (celo sí o no y GnRH sí o no), los animales que mostraron celo y recibieron GnRH fueron las que más se preñaron y las que no mostraron celo y no recibieron GnRH fueron las que se preñaron menos ( $P < 0,01$ ; Figura 3.5).

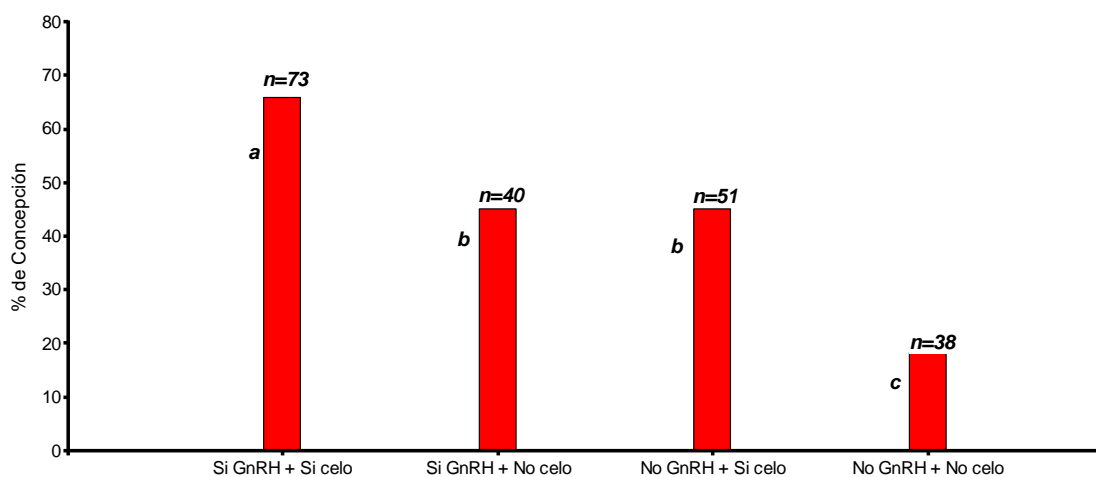


Figura 3.5. Tasa de concepción luego de la aplicación de GnRH según presencia o ausencia de celo a las 60 h  
<sup>abc</sup> Letras distintas a la derecha de cada columna indican diferencias significativas ( $P < 0,01$ ).

También se analizó el impacto que tiene la pérdida de dispositivos durante el tratamiento de sincronización (Tabla 3.2). Si durante el tratamiento de sincronización los dispositivos por algún motivo se pierden los resultados de la tasa de concepción son del 32,0% (8/25), mientras que si la aplicación de los dispositivos es exitosa los porcentajes de concepción alcanzados son del 54,4% (459/843;  $P = 0,028$ ). La tasa de pérdida de dispositivos con P<sub>4</sub> fue del 2,8%.

Tabla 3.2. Impacto de la pérdida de los dispositivos con P<sub>4</sub> durante el tratamiento de sincronización de vacas y vaquillonas sobre la tasa de concepción a la IATF.

<b>Pérdida dispositivos</b>	<b>N</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Si	25	8	32,0 <sup>a</sup>
No	843	459	54,4 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Superíndices distintos dentro de la misma columna difieren estadísticamente ( $P = 0,028$ ).

Por último, no se encontró un efecto significativo de estructura ovárica en el Día 0 (Tabla 3.3). Tampoco diferencias entre los campos y toros utilizado sobre las tasas de concepción ( $P=0,45$ ).

Tabla 3.3. Tasa de concepción en función de la estructura ovárica al inicio del tratamiento (Día 0) de sincronización a la IATF.

<b>Estructura ovárica</b>	<b>N</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Con CL	586	322	55,0%
Sin CL (Fol >8 mm)	282	145	51,4%

Los porcentajes no difieren significativamente ( $P=0,45$ )

## **EXPERIMENTO 2**

La tasa de concepción alcanzada en este experimento fue del 62,5% (158/253). Los resultados analizados demuestran que se encontraron diferencias significativas entre los animales que estaban despintados (en celo) a las 60 h en comparación con los que no mostraron celo en ese momento ( $P<0,04$ ; Tabla 3.4) y entre las categorías vacas secas, vacas secas puras y vaquillonas ( $P<0,02$ ; Tabla 3.5).

Tabla 3.4. Tasa de concepción en función de la presentación del celo y porcentaje de vacas en celo a las 60 h desde la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>.

<b>Expresión de Celos</b>	<b>N</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>	<b>Tasa de celo</b>
Si Celos	169	113	67,0% <sup>a</sup>	66,8%
No Celos	84	45	53,0% <sup>b</sup>	33,2%

<sup>ab</sup> Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ( $P<0,04$ )

Tabla 3.5. Tasa de concepción en función de la categoría animal. Resultados generales.

<b>Categoría</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Vacas secas Bonsmara puras	32	16	50,0% <sup>a</sup>
Vacas secas cruza Bonsmara	139	95	68,3% <sup>b</sup>
Vaquillonas cruza Bonsmara	82	47	57,3% <sup>b</sup>
<b>Total</b>	<b>253</b>	<b>158</b>	<b>62,5%</b>

<sup>ab</sup> Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ( $P < 0,02$ )

También se encontraron diferencias significativas cuando se analizó la utilización de la eCG en la categoría vaquillonas ( $P < 0,05$ ; Tabla 3.6). Las vaquillonas que recibieron eCG tuvieron una tasa de concepción 20,0% mayor que las que no recibieron eCG.

Tabla 3.6. Tasa de concepción en función de la adición de eCG en vaquillonas que recibieron IATF.

<b>Tratamiento</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Con eCG	39	26	66,7% <sup>a</sup>
Sin eCG	45	21	46,7% <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Porcentajes con superíndice distintos difieren significativamente ( $P < 0,05$ )

Cuando se comparó la tasa de concepción entre los animales que estaban sin celo (pintadas) a las 60 h y que, si manifestaron celo antes de la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h, las diferencias no fueron significativas en comparación con las vacas que nunca manifestaron celo durante todo el experimento ( $P = 0,19$ ; Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Tasa de concepción en función de la presentación del celo a la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h en los animales que no estaban en celo a las 60 h.

<b>Expresión de Celos</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Si celo (Despintadas)	39	24	62,0%
No celo (Pintadas)	45	21	47,0%

Los porcentajes no difieren significativamente ( $P = 0,19$ )

Cuando se sumaron las vacas que alguna vez manifestaron celo independientemente del horario, la tasa de concepción de las que nunca manifestaron celo fue significativamente menor en comparación con las que sí lo hicieron (P=0,01; Tabla 3.8)

Tabla 3.8. Tasa de concepción en función de la presentación del celo a la segunda IATF realizada entre las 68 y 72 h en los animales que no estaban en celo a las 60 h.

<b>Expresión de Celo</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Si celo (alguna vez)	208	137	66,0% <sup>a</sup>
No celo (nunca)	41	21	47,0% <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Porcentajes con distinto superíndice difieren significativamente (P=0,01)

Por último, no hubo un efecto significativo de estructura ovárica en el Día 0, condición corporal, inseminador y toro sobre las tasas de concepción (Tabla 3.9; P=0,64; Tabla 3.10; P=0,20). Además, no se encontraron interacciones entre las variables estudiadas.

Tabla 3.9. Tasa de concepción en función de la estructura ovárica al inicio del tratamiento (Día 0) de sincronización de vacas que recibieron IATF.

<b>Grupo</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Con CL	189	123	65,0%
Sin CL (Fol >8 mm)	64	35	55,0%

Los porcentajes no difieren significativamente (P=0,64)

Tabla 3.10. Tasa de concepción en función de la condición corporal al inicio del tratamiento de sincronización.

<b>Condición Corporal</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
2	8	4	44,0%
2.5	79	52	66,0%
3	107	66	62,0%
3.5	46	29	63,0%
4	13	7	54,0%

Los porcentajes no difieren significativamente (P=0,20)

### EXPERIMENTO 3

En los experimentos realizados en receptoras de embriones bovinos la tasa de aprovechamiento (Aptas/Iniciadas) lograda fue del 88,1% y la tasa de concepción (Preñadas/Transferidas) alcanzada fue del 46,0% (Tabla 3.11).

Tabla 3.11. Tasa de aprovechamiento y tasa de concepción alcanzada con el protocolo de sincronización para receptoras de carne.

<b>N</b>	<b>Aptas</b>	<b>TETF</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Tasa de aprovechamiento%</b>	<b>Tasa de Concepción%</b>
729	641	591	272	88,1	46,0

En la Tabla 3.12 se muestran los resultados del efecto del celo a las 48 h desde la remoción de los dispositivos con P<sub>4</sub>. Se encontraron diferencias significativas entre las receptoras que estaban en celo (despintadas) a las 48 h en comparación con las que no mostraron celo en ese momento (P=0,03).

Tabla 3.12. Tasa de concepción en función de la manifestación del celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo de P<sub>4</sub> en receptoras de embriones que recibieron TETF.

<b>Celo</b>	<b>N</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>	<b>Tasa de celo</b>
Si (Despintadas)	470	224	48,0% <sup>a</sup>	80,0%
No (Pintadas)	121	47	38,8% <sup>b</sup>	20,0%

<sup>ab</sup> Porcentajes con superíndices distintos difieren significativamente (P=0,03)

En la Figura 3.6 se ajustó una curva suavizada y muestra la relación entre el diámetro del CL en las receptoras que manifestaron o no celo sobre la tasa de concepción (interacción: celo 48 h x diámetro del CL; P<0,01). En las receptoras que tenían un CL >18 mm de diámetro no se encontraron diferencias en la tasa de concepción entre las que mostraron o no celo a las 48 h (odds ratio=1,08 ± 0,02; P=0,03). Sin embargo, en las receptoras con un CL <18 mm de diámetro, las que mostraron celo a las 48 h tuvieron una mayor tasa de concepción que las que no mostraron celo (odds ratio=1,40 ± 0,07; P=0,03).

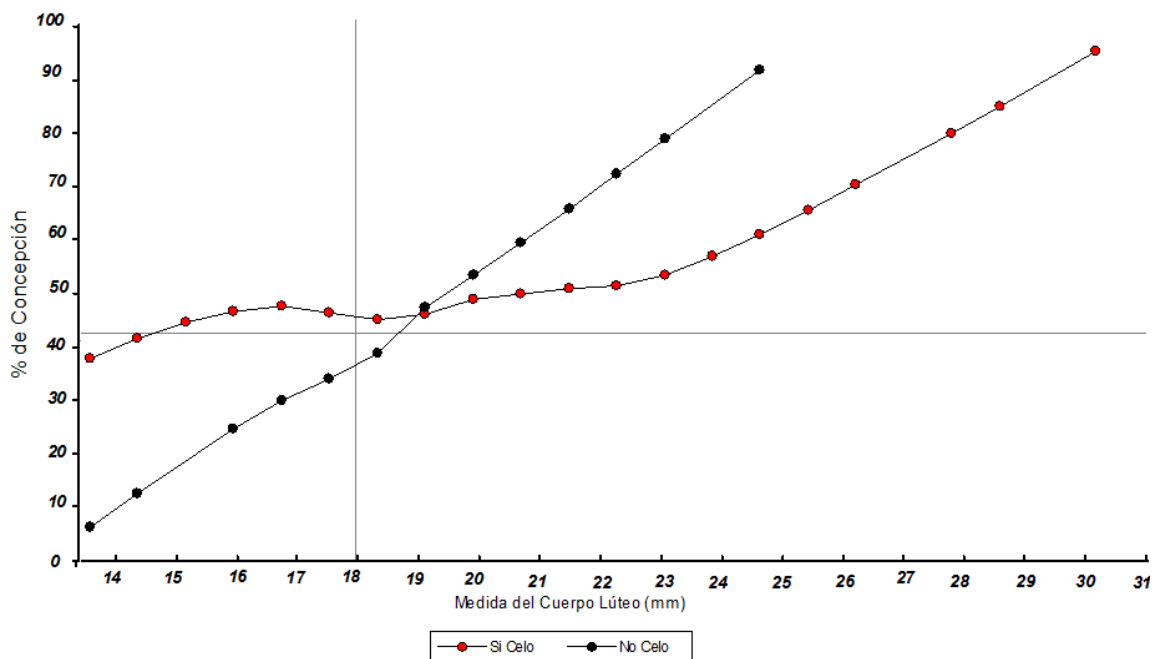


Figura 3.6. Curvas suavizadas del efecto del diámetro del CL (mm) al momento de la TETF y la interacción con el celo a los 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. Se encontró una interacción significativa entre el tamaño del CL y el celo (P<0,01), debido a diferencias en las vacas con o sin celo.

En la Tabla 3.13 se muestra como la clasificación del CL y la expresión de celos influenciaron la tasa de concepción. Aquellas receptoras con CL Grado 1 ( $\geq 18$  mm de diámetro) y Grado 2 ( $\geq 16$  mm  $\leq 17,9$  mm de diámetro) tuvieron una tasa de concepción mayor (Grado 1: 48,8% 218/447; Grado 2: 46,9% 53/113) que aquellas que tenían un CL más pequeño o Grado 3 ( $\geq 14$  mm  $< 15,9$  mm de diámetro; 9,1% 1/11; P=0,005). En cambio, si se analizan las receptoras que si muestran celo a las 48 h de la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub> el grado del CL no tuvo un impacto significativo sobre la tasa de concepción (P=0,123). Por el contrario, aquellas receptoras que no expresaron celo tuvieron una menor tasa de concepción las con CL Grado 2 y 3 que las con CL Grado 1 (P=0,017; Tabla 3.13).

Tabla 3.13. Tasa de concepción en función del grado del CL y la expresión de celos a las 48 h de la remoción de los dispositivos con P<sub>4</sub>.

Receptoras	≥18 mm	≥16 y ≤17,9mm	≥14 y <15.9 mm	Valor P=
Con Celo	48,9 % <sup>a</sup> (183/374)	44,9 % <sup>a</sup> (40/89)	14,3 % <sup>a</sup> (1/7)	0,123
Sin Celo	47,9 % <sup>a</sup> (35/73)	29,5 % <sup>b</sup> (13/44)	0 % <sup>b</sup> (0/4)	0,017
Total	48,8 % <sup>a</sup> (218/447)	46,9 % <sup>a</sup> (53/113)	9,1 % <sup>b</sup> (1/11)	0,005

<sup>ab</sup> Superíndice distintos indican diferencias estadísticas para porcentajes dentro de las filas y columnas.

En la Figura 3.7 se consideran solo a los animales pintados (sin celo a las 48 h) que habían recibido o no el tratamiento con GnRH. La tasa de concepción de los animales pintados que no recibieron GnRH fue significativamente menor ( $P < 0,05$ ) que la de los que si recibieron GnRH (12/46, 26,0% vs 34/74, 46,0%).

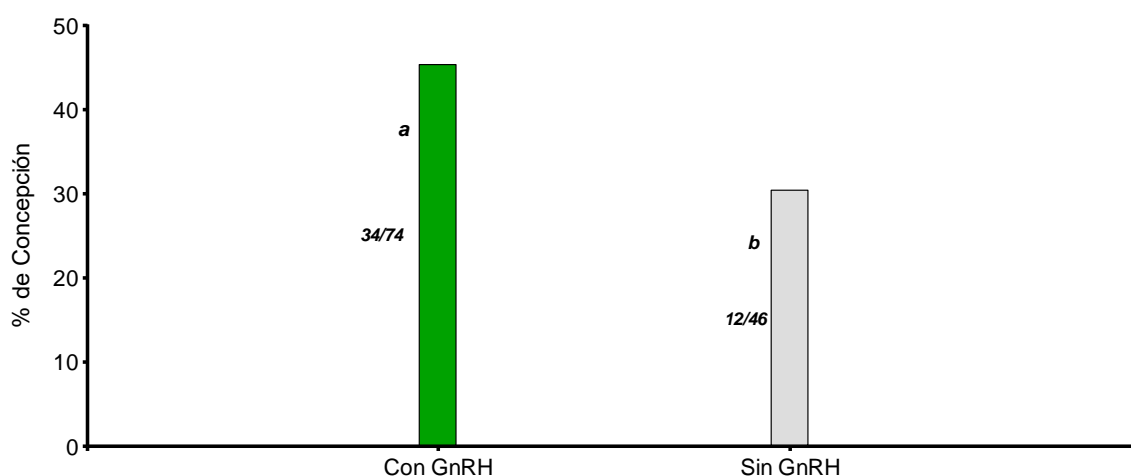


Figura 3.7. Tasa de concepción en función del tratamiento con GnRH en receptoras sin celo a las 48 h de retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Así también, la tasa de concepción de animales que expresaron celo entre las 48 y 58 h (26/48, 54,2%) difirió significativamente ( $P < 0,05$ ) de la tasa de concepción de los animales que nunca mostraron celo (15/43, 34,9%) y se muestra en la Figura 3.8.

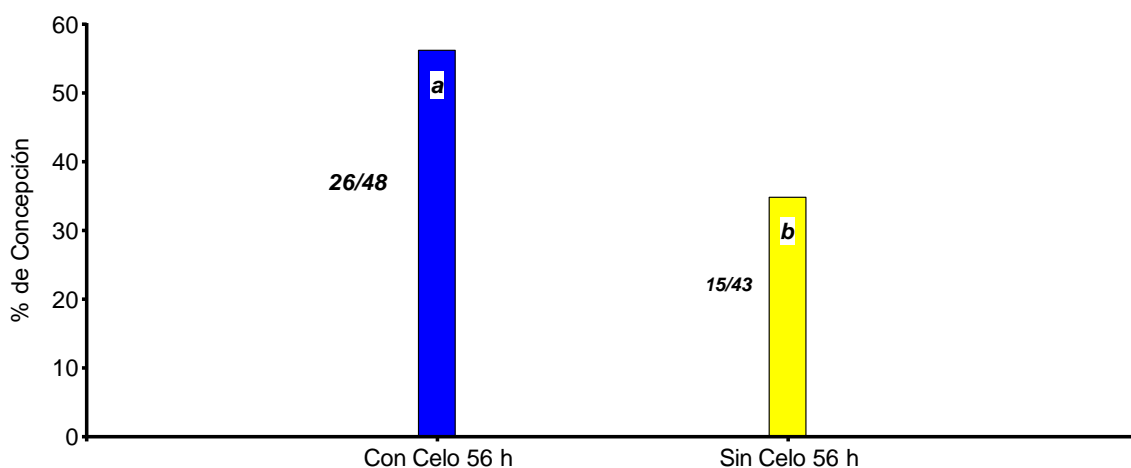


Figura 3.8. Tasa de concepción en función de la manifestación del celo entre las 49 y 56 h de retirado los dispositivos con P<sub>4</sub> en vacas que recibieron TETF. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0,05).

La tasa de concepción de los animales sin celo que recibieron GnRH no difirió significativamente de los animales que mostraron celo (Figura 3.9). Además, no se encontró una interacción entre la expresión de celo y el tratamiento con GnRH (P=0,11). Si analizamos la Figura 3.9 y consideramos aquellas receptoras que no mostraron celo y que no recibieron el tratamiento con GnRH, se puede observar que para este grupo de animales son los que obtuvieron una menor tasa de concepción.

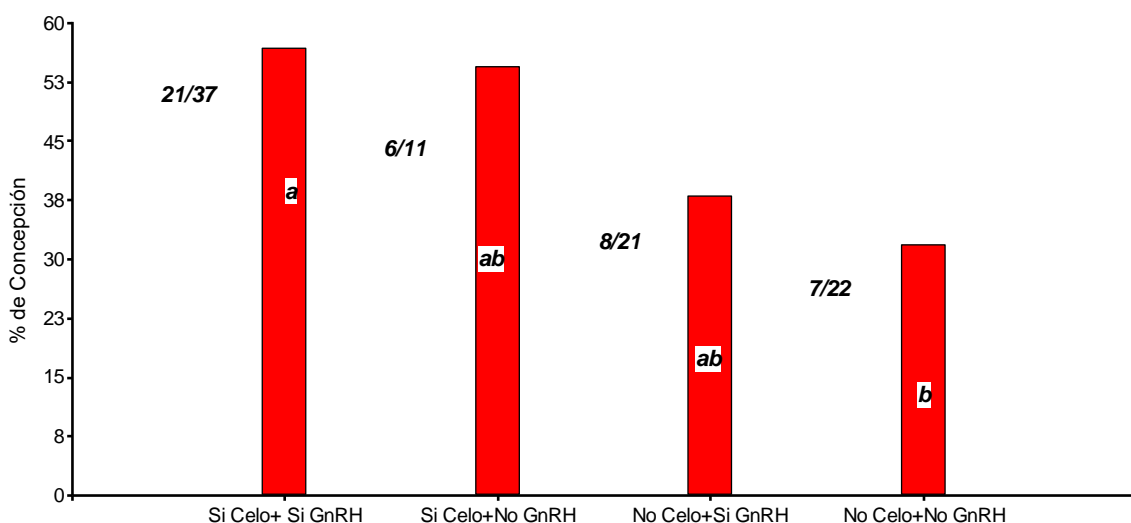


Figura 3.9. Tasa de concepción en función del tratamiento con GnRH y la manifestación de celo entre las 56 y 58 h desde la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub>. <sup>ab</sup> Letras distintas dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0,05).



En la Figura 3.10 se tuvo en cuenta el efecto de la estructura ovárica en el Día 0 del tratamiento de sincronización (CL vs Folículo  $\geq 8$  mm de diámetro) sobre las tasas de concepción. Las tasas de concepción fueron mayores ( $P=0,03$ ) para las receptoras con CL (46,8%; 268/573) que las que tenían un Folículo  $\geq 8$  mm de diámetro (22,2%; 4/18). De la misma manera, cuando se analizó el efecto de la estructura ovárica en el Día 0 sobre la tasa de aprovechamiento las diferencias fueron significativas ( $P=0,0001$ ), siendo más utilizadas aquellas receptoras que en el día del inicio de la sincronización tenían un CL (99,1%; 696/702) que aquellas receptoras que tenían un Folículo  $\geq 8$  mm diámetro (66,7%; 18/27).

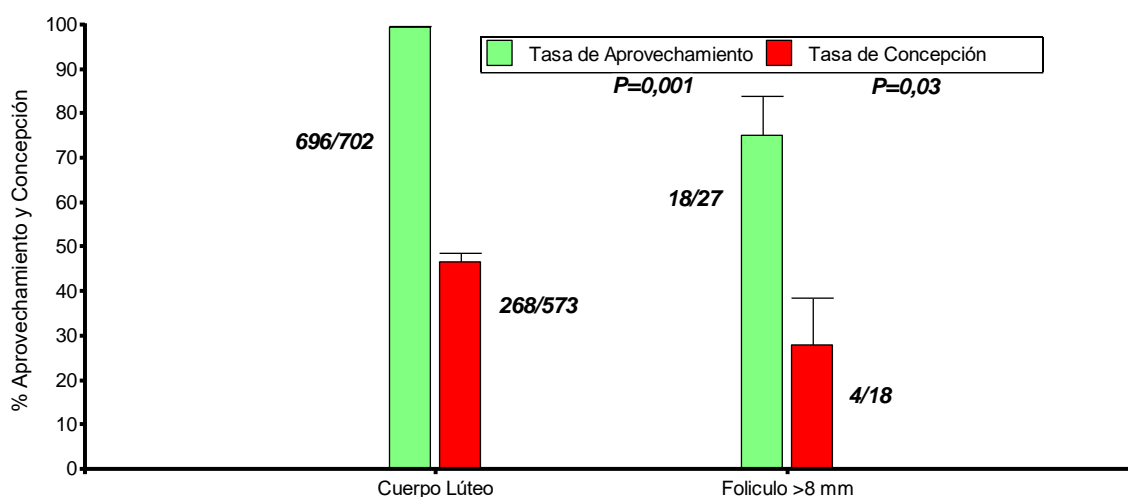


Figura 3.10. Efecto de la estructura ovárica en el Día 0 del protocolo de la sincronización sobre las tasas de aprovechamiento y concepción en receptoras TETF ( $\tau=\pm IC$ ).

En la Tabla 3.14 se muestra la tasa de aprovechamiento en las receptoras que mostraron o no celo a las 48 h. Esta fue más alta ( $P=0,0001$ ) en aquellas receptoras que mostraron celo (93,6%; 470/502) en comparación con aquellas que no mostraron celo (53,3%; 121/227). Además, en la Tabla 3.15 se muestra que cuando las receptoras fueron tratadas o no con GnRH, la proporción de receptoras utilizadas fue mayor en las que recibieron el tratamiento que las que no lo recibieron ( $P=0,01$ ).

Tabla 3.14. Tasa de aprovechamiento en receptoras de embriones sincronizadas con dispositivos con P<sub>4</sub> en relación a la manifestación de celos a las 48 h y al tratamiento con GnRH en las que no manifestaron celo

<b>Receptoras</b>	<b>n</b>	<b>Aptas</b>	<b>Tasa de Aprovechamiento</b>
Con Celo a las 48 h	502	497	99,0% <sup>a</sup>
Sin Celo a las 48 h	227	145	63,9% <sup>b</sup>
Con GnRH	113	82	73,0% <sup>c</sup>
Sin GnRH	114	63	55,3% <sup>d</sup>

<sup>ab</sup> Superíndices distintos indican diferencias significativas para porcentajes de receptoras con y sin celo (P=0,0001). <sup>cd</sup> Superíndices distintos indican diferencias significativas para receptoras con y sin GnRH (P=0,01). Aptas indican la cantidad de las receptoras con un CL >14 mm de diámetro.

Por último, cuando se consideró solo la expresión del celo para las 56 h, no se encontraron diferencias significativas entre la manifestación o no del celo para este horario sobre la tasa de aprovechamiento (P=0,45; Tabla 3.15).

Tabla 3.15. Tasa de aprovechamiento en receptoras de embriones sincronizadas con dispositivos con P<sub>4</sub> en relación a la manifestación de celos a las 56 h desde la remoción.

<b>Receptoras</b>	<b>N</b>	<b>Aptas</b>	<b>Porcentaje</b>
Con celo a las 56 h	49	48	98,0%
Sin celo a las 56 h	46	43	93,5%

Los resultados no difieren significativamente (P=0,45)

También, se analizaron los factores relacionados con la siembra del embrión (Tabla 3.16) y las tasas de concepción fueron mayores (P=0,01) cuando las siembras fueron realizadas en el tercio anterior del cuerno uterino (51,2%) que cuando las siembras fueron realizadas en el tercio medio (41,5%). No obstante, no hubo un efecto significativo en la calificación de la técnica por parte del operador (buena 264/571; 46,2% vs regular 8/20; 40,0%; P=0,32).

Tabla 3.16. Tasa de concepción en función del lugar de siembra de los embriones.

<b>Siembra</b>	<b>Transferidas</b>	<b>Preñadas</b>	<b>Concepción</b>
Tercio anterior	275	141	51,2 <sup>a</sup>
Tercio medio	316	131	41,5 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Superíndice distintos indican diferencias estadísticas para porcentajes dentro de las columnas (P= 0,01).

De la misma forma fueron analizados factores relacionados con el tipo de embrión y estadio embrionario. Cuando se tuvo en cuenta el tipo de embrión, los embriones congelados/descongelados *in vivo* alcanzaron una tasa de concepción del 42,2% mientras que los embriones producidos *in vitro* lograron una tasa de concepción del 51,0% (P=0,03; Tabla 3.17), sin encontrarse interacción entre el tipo de embrión y las réplicas (P=0,23). A su vez, el estadio embrionario no afectó la tasa de concepción para embriones *in vivo* e *in vitro* (P=0,43).

Tabla 3.17. Factores relacionados con el tipo de embrión y el estadio embrionario.

<b>Embrión</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>%</b>	<b>Estadio IETS</b>	<b>n</b>	<b>Preñadas</b>	<b>%</b>
<i>In vivo</i>	332	140	42,2 <sup>a</sup>	4	237	103	43,4
				5	76	29	38,2
				6	19	8	42,1
<i>In vitro</i>	259	132	51,0 <sup>b</sup>	5	38	16	42,1
				6	88	43	48,9
				7	128	71	55,5
				8	5	2	40,0

<sup>ab</sup> Superíndice distintos indican diferencias significativas para porcentajes dentro de las columnas (P=0,03).

En la Figura 3.11 se analizó la influencia de la categoría animal (vacas multíparas secas vs vacas de segundo servicio) y la condición corporal sobre la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción. Teniendo en cuenta la variable tasa de concepción, la categoría de las receptoras y la condición corporal no influyo sobre la misma (P=0,66), pero se encontró una interacción significativa (P=0,05) entre ellas. Fueron atribuidas a una menor tasa de aprovechamiento para las vacas multíparas secas con

condición corporal 2,0 y 4,5 y en las vacas de segundo servicio a las con condición corporal de 2,5.

En los datos correspondientes a la tasa de aprovechamiento, no se encontró un efecto de las categorías de las receptoras sobre ésta variable, pero se vio afectada por la condición corporal ( $P=0,0001$ ). Las receptoras con condición corporal 2,0 y las receptoras con condición corporal 4,5 tuvieron una tasa de aprovechamiento  $<75,0\%$ . Además, no se encontró una interacción ( $P=0,68$ ) entre la categoría de las receptoras y la condición corporal (Figura 3.11).

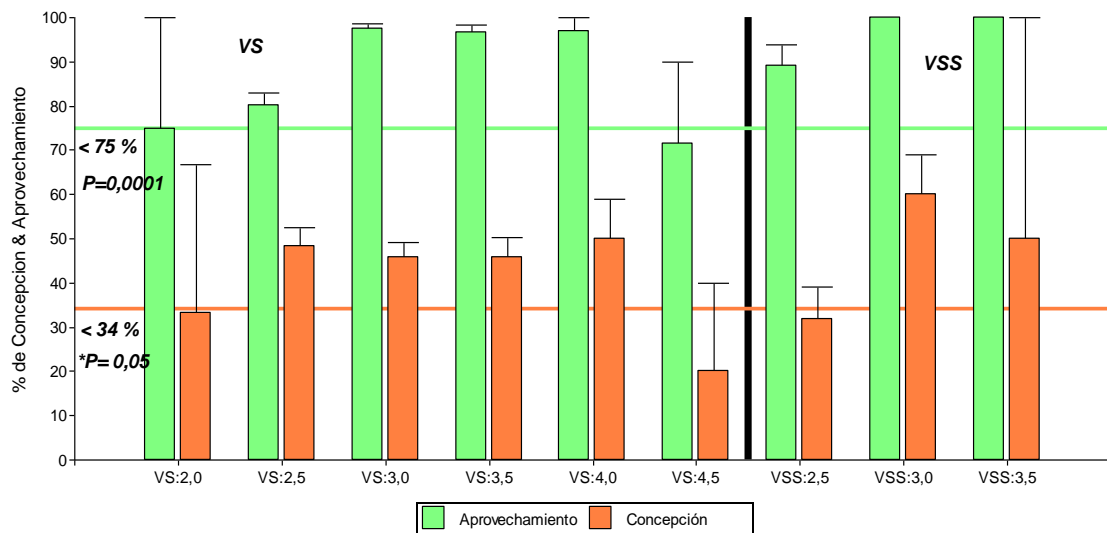


Figura 3.11. Efecto de la categoría de la receptora y la condición corporal sobre la tasa de concepción y la tasa de aprovechamiento. ( $\bar{T} \pm I.C.$ ). Línea de color verde: Datos de tasa de aprovechamiento, las columnas por debajo de la línea verde indican diferencias significativas ( $P=0,0001$ ). Línea de color rojo: Datos de tasa de concepción, columnas por debajo de la línea indican diferencias significativas ( $P=0,05$ ). VS=vacas múltiparas secas; VSS=vacas de segundo servicio.

En la Figura 3.12 se representan los resultados de las 7 réplicas de trabajo. La tasa de concepción no se vio afectada ( $P=0,13$ ), pero si se encontraron diferencias significativas ( $P=0,0001$ ) sobre la tasa de aprovechamiento, siendo menores las réplicas 1, 2 y 3 que las 4, 5, 6 y 7.

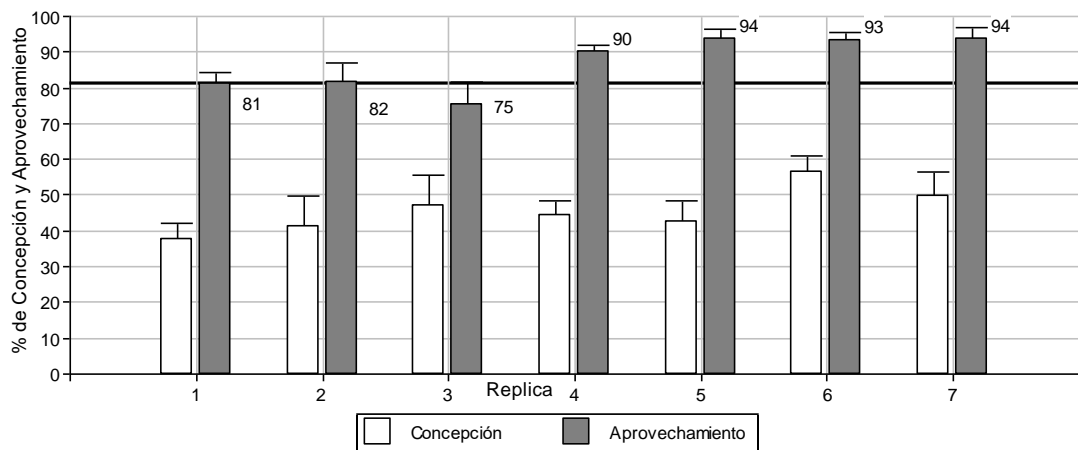


Figura 3.12. Tasa de aprovechamiento y tasa de concepción por replica de trabajo. ( $\bar{T} \pm IC$ ). Línea horizontal de color negra: Las columnas por debajo de la línea de corte indican diferencias significativas para datos de tasa de aprovechamiento ( $P=0,0001$ ). Las columnas blancas no difieren significativamente ( $P=0,13$ ).

## EXPERIMENTO 4

La tasa de concepción alcanzada en este experimento fue del 37,8% y no se encontraron diferencias significativas entre ambos protocolos de sincronización ( $P=0,43$ ; Tabla 3.17), pero si se encontraron diferencias significativas entre tratamientos sobre la tasa de aprovechamiento (90,0% Convencional vs 83,5% J-Synch;  $P<0,05$ ; Tabla 3.18).

Tabla 3.18. Tasa de aprovechamiento, tasa de concepción y de preñez en receptoras de embriones que son sincronizadas con dos protocolos para recibir TETF.

Protocolo	Tasa de Aprovechamiento	Tasa de Concepción	Tasa de Preñez
J-Synch	83,5% <sup>a</sup> (172/206)	39,0% (67/172)	32,5% (67/206)
Convencional	90,0% <sup>b</sup> (180/201)	36,6% (66/180)	32,8% (66/201)
<b>Total</b>	<b>86,5% (352/407)</b>	<b>37,8% (133/352)</b>	<b>32,7% (133/407)</b>

<sup>ab</sup> Superíndices distintos difieren significativamente ( $P<0,05$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre los animales que estaban en celo (despintados) a las 48 h del grupo Convencional y 60 h en el grupo J-Synch en comparación con los que no mostraron celo en ese momento sobre la tasa de concepción

(P=0,12; Tabla 3.19). Además, no se encontraron diferencias significativas entre el total de receptoras en celo vs las sin celo para ese momento (P=0,40; Tabla 3.19).

Tabla 3.19. Tasa de concepción en función de la manifestación de celo a las 48 h en las receptoras del grupo Convencional y 60 h en las del grupo J-Synch.

<b>Grupo</b>	<b>Convencional 48 h</b>	<b>J-Synch 60 h</b>	<b>Total</b>
Si Celo	38,2% (55/144)	40,0% (55/138)	39,0% (110/282)
No Celo	30,5% (11/36)	35,3% (12/34)	32,9% (23/70)
Tasa de celo	80,0% (144/180)	80,0% (138/172)	80,0% (282/352)

Los porcentajes no difieren significativamente (P≥0,12).

Cuando se comparó la tasa de concepción entre los animales que estaban sin celo a las 48 h en el grupo Convencional y 60 h en el grupo J-Synch y que, si manifestaron celo para las 54 y 72 h respectivamente, las diferencias no fueron significativas en comparación con las vacas que no manifestaron celo (P=0,69; Tabla 3.20).

Tabla 3.20. Tasa de concepción en función de la manifestación de celo correspondiente a las 54 h en las del grupo convencional y 60 h en las del grupo J-Synch.

<b>Grupo</b>	<b>Convencional 54 h</b>	<b>J-Synch 72 h</b>	<b>Total</b>
Si Celo	38,9% (7/18)	41,1% (7/17)	40,0% (14/35)
No Celo	22,2% (4/18)	29,4% (5/17)	25,7% (25,7%)

Los porcentajes no difieren significativamente (P=0,69).

Cuando se tuvo a consideración la tasa de concepción de las receptoras que en alguna ocasión mostraron celo independientemente del horario en comparación con las que nunca mostraron celo, la tasa de concepción no difirió entre los tratamientos (P=0,11; Tabla 3.21). El 90,0% de las receptoras en ambos tratamientos de sincronización mostraron celo independientemente del horario, cuando se tuvo en cuenta este total de receptoras sin importar el tratamiento de sincronización se encontraron diferencias significativas entre la

tasa de concepción de las que alguna vez manifestaron celo en comparación con las que nunca lo hicieron (P=0,05; Tabla 3.21).

Tabla 3.21. Tasa de concepción en función de la manifestación de celo y efecto del total de celo sin considerar los tratamientos de sincronización.

<b>Grupo</b>	<b>Convencional</b>	<b>J-Synch</b>	<b>Total</b>
Si Celos	38,3% (62/162)	40,0% (62/155)	39,1% <sup>a</sup> (124/317)
No Celos	22,2% (4/18)	29,4% (5/17)	25,7% <sup>b</sup> (9/35)

<sup>ab</sup> Los porcentajes difieren significativamente (P=0,05)

Además, no hubo un efecto de los tratamientos de sincronización (P=0,30) sobre las pérdidas embrionarias entre los 30 y 60 días de gestación, ni las pérdidas fetales entre los 60 días y el parto. Pero cuando se tuvo en consideración la expresión del celo, las vacas que no lo manifestaron tuvieron una mayor tasa de pérdidas embrionarias/fetales tempranas entre los 30 y 60 días (P=0,004) y consecuentemente una menor tasa de concepción a los 60 días y de parición (P=0,01; Tabla 3.22).

Tabla 3.22. Tasa de mortalidad embrionaria/fetal temprana, tasa de mortalidad fetal, tasa de concepción y tasa final de parición en función de la manifestación del celo.

<b>Grupo</b>	<b>Tasa de concepción (30 días)</b>	<b>Mortalidad embrionaria/fetal temprana (30-60 días)</b>	<b>Tasa de concepción (60 días)</b>	<b>Mortalidad fetal (60 días al parto)</b>	<b>Tasa final de parición</b>
Si Celos	39,1% <sup>c</sup> (124/317)	5,6% <sup>a</sup> (7/124)	37,0% <sup>a</sup> (117/317)	20,5% <sup>c</sup> (24/117)	29,3% <sup>a</sup> (93/317)
No Celos	25,7% <sup>d</sup> (9/35)	66,7% <sup>b</sup> (6/9)	8,6% <sup>b</sup> (3/35)	66,7% <sup>d</sup> (2/3)	2,9% <sup>b</sup> (1/35)
<b>Total</b>	38,0% (133/352)	9,8% (13/133)	34,1% (120/352)	21,7% (26/120)	26,7% (94/352)

<sup>ab</sup> Los porcentajes difieren significativamente (P=0,004)

<sup>cd</sup> Los porcentajes tienden a diferir (P=0,06)

Por último, no hubo un efecto de estructura ovárica en el Día 0, condición corporal y operativo sobre las tasas de concepción (P=0,12) y tampoco se encontraron interacciones.

### DISCUSIÓN

Los resultados alcanzados en esta tesis permiten aceptar las dos hipótesis planteadas acerca de que los animales que manifiestan celo después del retiro de los dispositivos con P<sub>4</sub> tienen una mayor tasa de concepción que los que no manifiestan celo en programas de IATF y TETF, y que el tratamiento con GnRH a las vacas que no manifiestan celo también aumenta significativamente la tasa de concepción a la IATF y TETF.

En general se considera que un 50,0% de concepción en promedio en los programas de IATF es un resultado aceptable teniendo en cuenta que esto se logra en un día de inseminación y sin la necesidad de detectar celo (Bó et al., 2016). Los resultados en el Experimento 1 alcanzaron un 54,0% de concepción. En este experimento se efectuaron sincronizaciones con el fin de evaluar si la presencia del celo influenciaba el porcentaje de concepción alcanzado. Las vacas que mostraron celo tuvieron una tasa de concepción de 56,0% y las que no mostraron celo alcanzaron un 47,5% de tasa de concepción. Estos resultados son similares a los reportados por Thomas et al. (2014) en un trabajo realizado en vaquillonas de carne, donde el porcentaje de concepción de los animales en celo a la IA fue más alto (52,0%) que aquellos sin celo en ese momento (34,0%) y a los reportados por Sá Filho et al. (2011) donde se evaluó la importancia de la manifestación del celo en la respuesta ovárica y la tasa de concepción en vacas Nelore. En este estudio las vacas que mostraron celo obtuvieron una tasa de concepción 26,4% mayor (58,5%) que las vacas que no mostraron celo (32,1%). El porcentaje de vacas en celo a las 48 h de remoción de los dispositivos fue del 76,7%, similar a los reportados por Sá Filho et al. (2011) en las vacas que recibieron el tratamiento con ECP en el momento de la remoción del dispositivo (78,7%), mientras que cuando se tuvo en consideración el porcentaje total de celo alcanzado el día de la inseminación (periodo comprendido desde las 48 hasta las 56 h) el porcentaje de vacas en celo es mayor en el Experimento 1 (91,0%).

Uno de los factores que influye sobre la tasa de concepción es la condición corporal de los animales al inicio del tratamiento de sincronización y es ahí donde recae su



importancia (Nasser et al., 2011; Randi et al., 2017). En el Experimento 1 se asoció una interacción significativa del celo y la condición corporal de los animales. La tasa de concepción en vacas con una buena condición corporal no fue afectada por la expresión del celo, la tasa de concepción sin importar la manifestación del celo superó en estos animales el 45,0%. Pero cuando la condición corporal no era buena ( $\leq 2$ ) la tasa de concepción se vio afectada por la manifestación del celo con resultados menores al 38,0%. Estos resultados son comparables con los resultados encontrados por Cutaia et al. (2003) en donde la tasa de concepción fue afectada por la condición corporal. Las vacas con buena condición corporal ( $\geq 2,5$ ) tuvieron una mayor tasa de concepción ( $\geq 52,3\%$ ) que las vacas con baja condición corporal ( $\leq 2,0$ ;  $< 46,5\%$ ). Así mismo los resultados de la tasa de concepción teniendo en cuenta la categoría animal (vacas secas, vacas con cría y vaquillonas) son similares a los reportados por Cutaia et al. (2003) cuando realizaron IATF sobre estas mismas categorías en campos comerciales (Vaca seca: 48,0%; Vaca con cría: 55,9%. Vaquillonas: 48,0%). En este trabajo además lograron evidenciar que la condición corporal es el factor más determinante que afecta la tasa de concepción en un programa de IATF. Los resultados pueden oscilar desde alrededor del 28,7% en vacas con cría y con una condición corporal de 2,5 y un máximo de 75,0% en vaquillonas con una condición corporal de 3.

En trabajos realizados por Sá Filho et al. (2011) donde evaluaron la eficiencia de la utilización de GnRH en el momento de la IATF para aumentar la tasa de concepción de aquellas vacas que no manifestaron celo después de un protocolo de sincronización, los resultados demostraron que no hubo un efecto positivo del uso de la GnRH en las vacas que no mostraron celo. Probablemente en este trabajo la GnRH no mejoró significativamente las tasas de concepción porque todas las vacas recibieron IATF a las 48 h a diferencia de los trabajos de esta tesis en que la IATF de las vacas que no mostraron celo fue diferida entre 6 y 8 h después de la administración de GnRH. Estas diferencias tal vez sean debido a que las vacas ovulan recién a las 30 y 36 h después de la GnRH (Pursley et al., 1998), lo que requiere una permanencia de los espermatozoides por un periodo largo de tiempo. En cambio, Zabala et al. (2013a, 2013b y 2013c) realizaron otros trabajos con el objetivo de determinar si era posible aumentar la tasa de concepción de las vacas que no muestran celo y que reciben GnRH a las 48 h de la remoción del dispositivo atrasando la IATF 6 a 8 h después de la GnRH en lugar de hacerla en ese momento. En estos trabajos

los porcentajes de concepción fueron similares entre las vacas que mostraron celo a las 48 h y que recibieron IATF en ese momento con las que no mostraron celo y recibieron IATF más tarde. Sin embargo, por temas de diseño experimental quedó como duda si los resultados obtenidos eran influenciados por una IATF más retardada o por el tratamiento con GnRH. En cambio, en el Experimento 1 las vacas que no mostraron celo a las 48 h posteriores al retiro del dispositivo recibieron GnRH en ese momento y luego recibieron IATF 6 a 8 h más tarde ya que hipotéticamente estas vacas ovularían recién a las 30-36 h después de la GnRH (Pursley et al., 1998). Datos recientes realizados en vacas lecheras (Tschopp y Bó, 2015) han demostrado un atraso en el horario de ovulación (60 a 96 h) de las vacas que no manifiestan celo a las 48 h desde la remoción del dispositivo, lo que indicaría que en vacas lecheras es conveniente realizar una división en el horario de la IATF cuando se utiliza ECP como inductor de ovulación. Esta división de la IATF, el atraso en el horario de inseminación y la aplicación de GnRH en hembras que no manifiestan celo aumentó la tasa de concepción en estos trabajos (53,0%) cuando se los comparó con una IATF a las 48 h en vacas sin manifestación de celo en ese momento (19,0%). Por otra parte, Cuervo et al. (datos no publicados 2017) en vacas Hereford determinaron que las hembras que no mostraron celo ovularon a las 86 h y las que no mostraron celo pero que recibieron GnRH lo hicieron a las 78 h.

Además de las diferencias entre las vacas que mostraron celo o no, se obtuvo una tasa de concepción significativamente mayor en las vacas que no mostraron celo pero que recibieron GnRH (58,4%) que aquellas que no recibieron GnRH (33,7%; Experimento 1). Datos no similares han sido reportados por Campos et al. (2016) en un trabajo realizado en vacas Nelore (lactantes y no lactantes), donde los animales que fueron sincronizados con un protocolo tradicional con ECP como inductor de ovulación y que recibieron GnRH en el día de la IATF tuvieron una tasa de concepción del 48,3%, y aquellas que recibieron un tratamiento tradicional sin GnRH a la IATF 36,9%. Resultados similares al Experimento 1 han sido reportado por Tschopp y Bó (2015) en vacas de leche tratadas con dispositivos de P<sub>4</sub> y ECP como inductor de ovulación. Las vacas que no mostraron celo a las 48 h y que recibieron GnRH en ese momento tuvieron una tasa de concepción mayor (56,9%) que las que no recibieron GnRH (40,3%). Cuando se tuvo en cuenta en el Experimento 1 la manifestación del celo para la IATF realizada a la tarde (54 y 56 h) aquellas hembras que

mostraron celo en ese horario tuvieron una tasa de concepción mayor (57,2%;  $P < 0,01$ ) que las que no mostraron celo (32,0%). Datos similares han sido reportados en vacas de leche por Tschopp, (2016). Cuando fueron sumadas las hembras que manifestaron celo para la IATF realizada a las 60 h desde la remoción del dispositivo, tuvieron una tasa de concepción más alta (58,3%) que las que no manifestaron celo (42,1%). Similar a lo anterior, Lima et al. (2015) en un trabajo realizado en vacas de leche reportaron que las hembras que nunca manifestaron signos de celo en un programa de IATF tuvieron una tasa de concepción menor (24,8%;  $P < 0,01$ ) que las que si demostraron celo (44,8%). Perry et al. (2007) encontraron que las hembras que presentan celo antes de la inseminación tienen oportunidad de ovular y lograr una tasa de concepción mayor en comparación con las que no manifiestan celo. Además, estos resultados se podrían justificar a lo reportado por Perry et al. (2014) donde demostraron que existe una interacción entre el diámetro del folículo preovulatorio, el ambiente hormonal óptimo que se demuestra por la expresión del celo, el establecimiento y mantenimiento de la concepción. Bridges et al. (2012) reportaron el efecto de un mejor ambiente hormonal y un mejor ambiente uterino sobre el mantenimiento de la concepción y lo correlacionaron a mayores concentraciones de receptores nucleares de  $P_4$  en el epitelio glandular del endometrio. Esta  $P_4$  aumentó la concentración de ARNm para receptores de estrógenos (ESR1) en el Día 15,5 pos ovulación, los cuales contribuyen en el éxito de la gestación (Bridges et al., 2012). El estradiol preovulatorio es importante ya que coordina varios procesos fisiológicos que contribuyen en el establecimiento y mantenimiento de la concepción, incluyendo efectos sobre las células foliculares, el ovocito, el transporte de gametos y la preparación del medio uterino (Dickinson et al., 2016). Además, dentro del folículo ovárico, el estradiol aumenta la mitosis de las células de la granulosa. Las concentraciones séricas de estradiol y el aumento de las concentraciones preovulatorias de estradiol da como resultado una mayor tasa de concepción (Perry et al., 2005 y 2010).

Factores genéticos también han sido asociados en la manifestación del celo y el mantenimiento de la preñez. Homer et al. (2013) en vacas de leche reportaron cinco polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés) asociados a la manifestación del celo. Se evaluaron 41 loci de 18 genes que fueron escogidos por su rol en el ciclo estral y la producción de leche. Los SNPs que aumentaron cuando las vacas

manifestaron celo fueron alelos mutantes en receptores  $\alpha$  de estrógenos, en los genes receptores para GnRH ( $P < 0,05$ ) y en el gen STAT5A ( $P < 0,05$ ). Aumentos más pequeños fueron asociados con alelos mutantes de receptores de activina tipo IIB y los genes de receptores para prolactina ( $P < 0,10$ ).

En el Experimento 2 no se trabajó sobre el protocolo convencional de ECP como en el Experimento 1 si no que se evaluó la presentación del celo sobre la tasa de concepción del protocolo J-Synch. Este protocolo (de la Mata y Bó, 2012) prioriza el desarrollo folicular sin dependencia de  $P_4$  intravaginal en un periodo más prolongado (60 a 72 h) al del tratamiento tradicional con ECP (48 a 56 h), con tasas de concepción muy alentadoras (~60,0%; Bó et al., 2016). La tasa de concepción en el Experimento 2 fue del 62,4%, similar a los datos reportado por de la Mata et al. (2015) obteniendo 12,4% más de concepción que los datos que se esperan como normal en un programa de IATF (50%) pero dentro del rango (30,0 - 75,0%; Cutaia et al., 2013). La tasa de concepción de las vacas que mostraron celo en el Experimento 2 fue del 67,0% (IATF entre las 60 y 64 h) y las que no mostraron celo fue del 53,0% (IATF entre las 72 y 74 h) similares a un trabajo preliminar reportado por de la Mata et al. (2013) con vaquillonas que recibieron un protocolo J-Synch. El porcentaje de vaquillonas en celo antes de las 72 h fue del 60,0% resultando en una tasa de concepción mayor las vaquillonas que manifestaron estro (76,3%;  $P < 0,05$ ) en comparación a las que no lo hicieron (42,3%). Otros trabajos efectuados en 911 vaquillonas *Bos taurus* que recibieron un J-Synch para ser IATF han demostrado que las vaquillonas que mostraron signos de estro a la IATF obtuvieron una mayor tasa de concepción cuando recibieron IATF a las 72 h (70,1%) que en la IATF a las 60 h (56,7%), mientras que las IATF a las 48 h fueron intermedias (63,9%; Núñez et al., 2016). En ambos trabajos mencionados anteriormente, la extensión del período entre la remoción del dispositivo y la IATF/GnRH aumentó la tasa de concepción. Este aumento podría estar asociado al diámetro del folículo preovulatorio y a un aumento en el comportamiento estral. Bridges et al. (2010) reportaron que los animales tratados e IATF con tratamientos de proestros prolongados tuvieron una tasa de concepción mayor que los animales tratados con tratamientos de proestros cortos, debido a que las concentraciones plasmáticas de estradiol durante el proestro afectan directamente el medio ambiente uterino y su habilidad para mantener la gestación y el desarrollo del concepto los primeros días de

gestación. Luego Bridges et al. (2012) demostraron que la mayor duración del proestro y la mayor concentración plasmática de estradiol preovulatorio generaron mayor expresión de genes que codifican para receptores de estradiol y una mayor concentración de receptores de progesterona a nivel uterino durante los primeros 15,5 días de desarrollo embrionario. En efecto, todo lo investigado para modificar la duración del proestro en estos protocolos ha llevado a alcanzar tasas de concepción en vaquillonas de leche de más del 60,0% (Ré et al., 2014) y en otros casos porcentajes superiores en vacas de carne (Bridges et al., 2008). Como en el Experimento 2 la combinación de la identificación de animales en celo, la aplicación de GnRH e IATF juegan una interesante opción para mejorar los resultados (Bó et al., 2016). Al igual que en Experimento 1, en el Experimento 2 las vacas sin celo a la primera IATF (62-64 h) pero que mostraron celo a la segunda IATF (72 h) tuvieron una tasa de concepción más alta (62,0%;  $P=0,04$ ) que las que no mostraron celo en todo el tratamiento (47,0%). Esto se debería a lo informado por Perry et al. (2014) que el ambiente hormonal óptimo demostrado por la expresión de celos y el establecimiento y mantenimiento de la preñez están correlacionados. Además, en el grupo de vacas que nunca mostraron celo hay algunos animales que no ovulan después del tratamiento de sincronización. Frade et al. (2014) correlacionaron la manifestación del celo después de la sincronización de la ovulación con las subsiguientes concentraciones de  $P_4$  en el diestro y la tasa de concepción en un trabajo realizado con vaquillonas *Bos taurus* por *Bos indicus* que fueron utilizadas como receptoras de embriones bovinos. Las hembras en este trabajo que mostraron celo obtuvieron una tasa de concepción más alta (62,7%) que las que no lo hicieron (47,0%).

Debido a la condición corporal que presentaban las vaquillonas y a la baja tasa de ciclicidad al inicio del tratamiento (60,0%) en el Experimento 2, se decidió utilizar una dosis de 300 UI de eCG a la mitad de los animales, demostrando que el uso de esta hormona juega un papel importante en vaquillonas que aún no están ciclando y que son IATF. Las que recibieron eCG tuvieron una tasa de concepción mayor ( $P<0,05$ ; 66,7%) que las que no recibieron el tratamiento (46,7%). Esto concuerda con lo encontrado por otros experimentos realizados en Uruguay con 4.947 vaquillonas *Bos taurus* de carne con la misma dosis de eCG (300 UI; Bó et al., 2016). Este trabajo fue dividido en 2 experimentos, en el segundo experimento todas las vaquillonas fueron sincronizadas con el

protocolo J-Synch y a la remoción del dispositivo fueron divididas para recibir o no una dosis 300 UI de eCG, similar lo que se realizó en el Experimento 2. Las vaquillonas que recibieron eCG tuvieron una mayor tasa de concepción (57,1%) en comparación con las que no recibieron eCG (53,1%).

Por último, a pesar que la estructura ovárica del Día 0 no tuvo un impacto significativo sobre la tasa de concepción en el Experimento 1 y 2, hubo una diferencia del 4,0% en la tasa de concepción entre las con CL y las sin CL en el Experimento 1 y del 10,0% en el Experimento 2 (Con CL, 65,0%; Sin CL, 55,0%). Cuando se sumaron las vacas con CL del Experimento 1 y 2 y se compararon con las sin CL, la tasa de concepción tendió ( $P=0,09$ ) a ser mayor en las vacas con CL (59,0%) que las sin CL (52,0%). Similar a lo encontrado, mayores tasas de concepción en las vacas con CL han sido reportados por Menchaca et al. (2013) sobre 2.737 vacas paridas (Con CL, 57,5% vs Sin CL, 53,2%).

El Experimento 3 fue realizado en receptoras de embriones bovinos (*in vivo* o *in vitro*) sincronizadas con un protocolo tradicional de P<sub>4</sub> y estradiol en el inicio del tratamiento y con ECP como inductor de ovulación. El objetivo fue evaluar la manifestación del celo sobre la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción. La tasa de concepción (Preñadas/Transferidas) alcanzada fue del 46,0%. El celo jugó un papel importante sobre la tasa de concepción, ya que la presentación del celo a las 48 h desde la remoción de los dispositivos intravaginales aumentaron significativamente la tasa de concepción de las receptoras en comparación con las sin celo o que estaban aún pintadas (48,1% y 38,8%, respectivamente). Existen trabajos que no reportan estas diferencias con TETF de embriones *in vivo* frescos (Looney, 2010; con celo 58,0% vs sin celo 65,0%; Bó et al., 2012a, con celo 56,0% sin celo 54,0%). En estos trabajos no se encontraron diferencias entre las vacas con y sin celo debido a que utilizaron EB como inductor de ovulación, el cual hace que el 80,0 al 90,0% de las vacas entren en celo (Bó et al., 2009), probablemente debido a una mayor cantidad de celos farmacológicos. Por el contrario, en los trabajos reportados por Frade et al. (2014) las vaquillonas TETF que mostraron celo tuvieron una mayor tasa de concepción (62,4%) que las que no mostraron celo (47,0%) similar a los resultados del Experimento 3. Se cree que el buen resultado de los animales que manifestaron celo tanto en el Experimento 3 como en el de Frade et al. (2014) se deban

a que la manifestación del celo esta correlacionada con el pico de estradiol alcanzado. Estos altos niveles de estradiol antes de la ovulación se correlacionan con la fertilidad (Ryan et al., 1993). Además, la ovulación de un folículo de mayor tamaño genera un CL más competente y al tener un CL más competente resultan en mayores niveles de P<sub>4</sub>. Hay reportes que indican que la progesterona segregada por el CL tiene un efecto directo sobre la tasa de concepción (Bridges et al., 2000; Vasconcelos et al., 2001; Nogueira et al., 2003; Lequarre et al., 2004; Green et al., 2005). Perry et al. (2014) describieron que las vacas que manifiestan celo tienen un aumento significativo de las concentraciones de estradiol después de la aplicación de PGF<sub>2</sub>α que el de las vacas que no manifiestan celo. Además, el diámetro folicular tiene una relación positiva con las concentraciones y el pico de estradiol en las vacas que manifiestan celo permanentemente. En este caso, el estradiol hizo que más vacas entraran en celo más temprano que en comparación con las vacas que no lo hicieron.

Otro factor asociado a la manifestación del celo fue el tamaño del CL en el día de la TETF. Se encontró una interacción entre la manifestación del celo a las 48 h de remoción de los dispositivos y el tamaño del CL. Cuando las receptoras tuvieron un CL mayor o igual a 18 mm de diámetro el celo no tuvo un efecto significativo sobre la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción. Ocurrió lo contrario cuando los tamaños de los CL fueron menores a esa medida ( $\leq 17,9$  mm de diámetro) la tasa de concepción se vio afectada por la no manifestación del celo. Vasconcelos et al. (2001) reportaron que las vacas lecheras que manifestaban celo al ovular un folículo de mayor tamaño tienen un CL más competente y por ende una mayor producción de progesterona plasmática, la cual genera condiciones uterinas más favorables para el desarrollo embrionario temprano. A su vez, Baruselli et al. (2001) reportaron que las receptoras de carne *Bos taurus* cruza *Bos indicus* que tenían CL  $>20$  mm de diámetro produjeron niveles de P<sub>4</sub> circulantes de 2,4 ng/ml y una tasa de concepción alta (58,0%). Por el contrario, las hembras con CL  $>15,5$  mm y  $<20$  mm de diámetro produjeron niveles de P<sub>4</sub> de 1,8 ng/ml y una tasa de concepción promedio de 41,0% y las que presentaron CL  $<15$  mm de diámetro tuvieron niveles de P<sub>4</sub> más bajos (1,19 ng/ml) y una tasa de concepción baja (31,0%) afectando de esta manera la tasa de concepción. Nasser et al. (2011) encontraron también que la tasa de concepción en vacas que son TETF fue afectada por el diámetro del CL. En este trabajo las receptoras *Bos taurus* cruza *Bos indicus* con un CL  $\geq 20$  mm de diámetro tuvieron una tasa de concepción

más alta (46,2%) que las con un CL  $\leq 17,9$  mm de diámetro (39,1%), mientras que las con un CL  $\geq 18,0$  y  $\leq 20,0$  mm fueron intermedias (43,4%). Spell et al. (2001) en un trabajo realizado con receptoras que recibieron embriones *in vivo* (congelados y frescos) reportaron que con un tamaño de CL  $> 22$  mm de diámetro las concentraciones plasmáticas de P<sub>4</sub> son altas (4,2 ng/ml) con una alta tasa de concepción del 70,0% y una correlación importante entre el diámetro de CL o el volumen de tejido luteal y la concentración plasmática de progesterona. En el Experimento 3 se encontró un odds ratio =1,08 $\pm$ 0,03 (P=0,03) cuando las vacas mostraron celo, y cuando no lo hicieron fue =1,40 $\pm$ 0,07 (P=0,03), siendo más importante la medida del CL cuando las vacas no manifiestan celo. Con lo cual los resultados de este experimento permitieron evidenciar que los CL de mayor tamaño generan mayores tasas de concepción. Otros trabajos donde evaluaron los factores que afectan la tasa de concepción en receptoras que reciben un embrión *in vitro* (Pellizzari et al., 2015; Sala et al., 2015) encontraron que los tamaños de los CL no afectaron la tasa de concepción (P=0,46). En los trabajos reportados por Pellizzari et al. (2015) encontraron otros factores significativos que afectan la tasa de concepción como el campo y la condición corporal. En el Experimento 3 el 80,0% de las vacas mostraron celo a las 48 h, del 20,0% restante un 12,0% mostraron celo a las 48 y 54 h y un 8,0% de las vacas no mostraron celo durante todo el tratamiento. Para tratar de mejorar la tasa de concepción de las vacas que no manifiestan celo a las 48 h surgió el tratamiento con GnRH. En efecto, el tratamiento con GnRH aumentó significativamente la tasa de concepción en este grupo de animales (46,0%) comparado con las que no recibieron GnRH (26,0%). Estas diferencias fueron encontradas principalmente en los programas de IATF (Campos et al., 2014; Tschopp et al., 2015). En un trabajo realizado en vacas de leche, Tschopp et al. (2015) reportaron que las vacas que no mostraron celo a las 48 h de la remoción de los dispositivos y que fueron tratadas con GnRH en ese momento tuvieron una tasa de concepción significativamente más alta (57,4%) que las que no recibieron GnRH (40,0%). Esta mayor tasa de concepción se debería a que el tratamiento con GnRH reduciría la consecuencia de la no manifestación de celo de animales en un programa de TETF. Además, este efecto de la GnRH a vacas sin celo se atribuye a la capacidad de acelerar el momento de la ovulación, las cuales generarían una sincronía más óptima con el estadio de los embriones y formarían un CL con la capacidad de mantener la gestación. Cuando se compararon las vacas en celo vs las que nunca se encontraron en celo después del



tratamiento de sincronización, las diferencias fueron aún mayores (si celo: 47,0% y no celo: 34,8%). Estos resultados podrían deberse a que la expresión del celo en los programas de TETF están ligados a un ambiente uterino adecuado que favorece la implantación y subsecuente desarrollo embrionario (Gonella et al., 2010) correlacionado también con las concentraciones preovulatorias de estradiol del folículo ovulado que según Geary et al. (2013) regulan también el ambiente del útero. Además, para soportar esta teoría, Madsen et al. (2015) evaluaron el rol del estradiol preovulatorio sobre la supervivencia de los embriones transferidos en el Día 7 posterior al celo y el establecimiento de la gestación sin los efectos del tamaño del folículo ovulatorio, la secreción endógena de estradiol, la duración del proestro y la posterior exposición a la progesterona en vacas ovariectomizadas, las cuales recibieron un soporte hormonal para el mantenimiento de la gestación. Las vacas que recibieron estradiol (ECP y EB) tuvieron una tasa de concepción más alta (25,0%) que las que no recibieron estradiol exógeno (4,0%), evidenciando la importancia del estradiol preovulatorio sobre el medio ambiente uterino en los primeros 29 días de gestación.

La tasa de aprovechamiento (aptas/iniciadas) lograda en el Experimento 3 fue del 88,1%; resultados similares han sido reportados por García Guerra et al. (2016) en un programa de TETF en vaquillonas *Bos taurus* sincronizadas con un protocolo de Co-Synch de 5 días con dispositivos de P<sub>4</sub> (87,3%) que recibieron un embrión *in vitro*. Otras tasas de aprovechamiento similares (81,0%) han sido reportadas por Tríbulo et al. (2017) en un estudio donde analizaron de manera retrospectiva la tasa de concepción de embriones producidos *in vitro* en programas comerciales aplicado a 15 distintos campos. En este trabajo se reportaron además las tasas de aprovechamiento por protocolo de sincronización. Cuando las receptoras recibieron un protocolo con 0,5 mg de ECP a la remoción de los dispositivos la tasa de aprovechamiento fue del 81,0%, cuando recibieron 1 mg de ECP a la remoción de los dispositivos fue del 70,0%, cuando recibieron un protocolo J-Synch fue del 82,0%, y cuando fueron sincronizadas con un Co-Synch de 5 días + P<sub>4</sub> similar al protocolo usado por García Guerra et al. (2016) la tasa de aprovechamiento fue del 79,0%. Por último, las receptoras que recibieron un protocolo con 0,5 mg de ECP como inductor de ovulación, observación de celos y GnRH a las que no estaban en celo a las 48 h (similar al Experimento 3 de esta tesis) la tasa de aprovechamiento fue numéricamente más alta

(93,0%, 351/377) y la tasa de concepción fue mayor que la de los demás tratamientos (51,0%). Este incremento de la tasa de aprovechamiento se cree que es debido a la utilización de GnRH como segundo inductor de ovulación en vacas que no muestran celo luego de haber utilizado en primera instancia ECP. Esto significa una mejora en la eficiencia y fertilidad del protocolo de sincronización ya que se logra controlar e identificar que animales no manifiestan celo y además estas son tratadas para que ovulen en un periodo de tiempo adecuado y de esta manera no se vea afectada la sincronía embrión-receptora y tasa de concepción.

Cuando se consideró la tasa de aprovechamiento de acuerdo a la expresión de celos, se encontró que la tasa de aprovechamiento de las receptoras que mostraron celo fue mayor (99,0%) que la de las receptoras que no manifestaron celo (64,0%). Resultados similares han sido reportados por Looney et al. (2010) en un programa de transferencia de embriones *in vivo* en receptoras cruza Brahman sincronizadas con dispositivos con progesterona, estradiol y eCG. En éste trabajo las vacas que manifestaron celo tuvieron una tasa de aprovechamiento más alta (89,0%) que las que no lo hicieron (56,0%). Sin embargo, en este trabajo no se encontraron diferencias en la tasa de concepción de las vacas con y sin celo, en contradicción a lo encontrado en el Experimento 3. Así mismo en el Experimento 3, las receptoras sin celo a las 48 h tuvieron una tasa de aprovechamiento mayor aquellas que recibieron GnRH (73,2%) que las que no recibieron el tratamiento (53,3%). La mayor tasa de aprovechamiento en receptoras que no manifiestan celo y que son tratadas con GnRH se debería a que estas lograrían ovular en un periodo de 30-36 h después de la GnRH (>50,0%; Pursley et al., 2015) y por lo tanto tendrían más posibilidades de llegar al día de la transferencia de embriones con un CL mayor a 16 mm de diámetro. López del Cerro et al. (2011) utilizaron GnRH y mejoraron la tasa de concepción de las vacas sin celo e indicaron que podría deberse a un incremento en la tasa de ovulación la cual podría estar asincrónica en este grupo. Tschopp et al. (2015) midieron el momento de ovulación en vacas de leche y evidenciaron diferencias entre las vacas que presentan celo a las 48 h desde el retiro del dispositivo (61,7 h promedio) en comparación con las que no presentan celo las cuales ovulan más tarde (84,5 h promedio). Resultados similares han sido encontrados recientemente por Cuervo et al. (datos no publicados 2017) en vacas Hereford, en este trabajo las vacas que estaban en celo a las 48 h ovularon a la 68 h, las que no

mostraron celo ovularon a las 86 h y las que no mostraron celo pero que recibieron GnRH lo hicieron a las 78 h.

Otra variable que se tuvo en cuenta fue la estructura ovárica al inicio del tratamiento de sincronización. Las vacas con CL al inicio del tratamiento tuvieron una tasa de aprovechamiento y una tasa de concepción mayor (99,1 y 46,8%, respectivamente) que las que no tenían CL (66,7 y 22,2%, respectivamente;  $P=0,0001$ ). Estos resultados son similares a los reportados por Menchaca et al. (2013) en un trabajo realizado en programas de IATF de 2737 vacas con cría al pié. Las diferencias encontradas fueron significativas, las vacas con CL en el Día 0 tuvieron una mayor fertilidad (57,5%) que las sin CL en el mismo momento (53,2%). Además, Menchaca et al. (2013) reportaron 5 puntos porcentuales más a favor de vaquillonas de carne *Bos taurus* cíclicas que recibieron IATF. Los trabajos reportados en el ganado *Bos indicus* son similares por ejemplo Campos et al. (2016) en vacas Nelore obtuvieron 16,4% de tasa de concepción en vacas que al inicio del tratamiento tenían un Folículo <10 mm de diámetro y 48,4% en las vacas con CL. En el trabajo reportado por Tschopp et al. (2015) encontraron resultados similares en vacas de leche que recibieron IATF luego de un tratamiento convencional con P<sub>4</sub> y estradiol, con resultados a favor de las vacas con CL (53,8%) vs las que no tenían CL (36,0%). Esto indicaría que es fundamental que las vacas se encuentren cíclicas al momento del inicio del tratamiento para tener una buena respuesta y eficiencia del tratamiento de sincronización y una mayor fertilidad (Bisinotto et al., 2013 y 2015) jugando un rol fundamental la ultrasonografía transrectal en la selección de receptoras y en la revisión de estructuras ováricas en el inicio de los programas de IA como de transferencia de embriones (Perry y Cushman, 2016). Se podría hipotetizar que la tasa de concepción y la tasa de aprovechamiento de receptoras sin un CL en el día del inicio del tratamiento podría ser menor debido a una falta de recuperación o activación del útero para un nuevo ciclo estral sincronizado que resulte en ovulación. Además, podría estar relacionado a un desbalance energético (expresado por una menor condición corporal) que desencadenaría en una disminución de la función del eje hipotálamo-hipofisario-ovárico, produciendo alteraciones reproductivas, como ovarios sin estructuras y anestro.

En el Experimento 3 la tasa de concepción de las receptoras que recibieron un embrión *in vitro* (51,0%) fueron mayores que las que recibieron un embrión *in vivo* congelado (42,2%). Una menor tasa de concepción en embriones *in vivo* se debería al proceso de criopreservación al cual son sometidos para luego ser TETF, un proceso al cual los embriones *in vitro* frescos no son sometidos. Los resultados de la tasa de concepción de embriones *in vivo* criopreservados es similar a los reportados por Looney et al. (2006) pero son menores a los reportados en un programa comercial de TETF de embriones en Argentina realizado por Bó et al. (2004) en el cual de un total de 1542 receptoras que fueron sincronizadas para recibir un embrión; obtuvieron una tasa de concepción del 52,9% (692/1309 vacas gestantes). En cuanto a los resultados de los embriones *in vitro*, si son comparados con trabajos más antiguos estos se contradicen, como los reportados por Pontes et al. (2008) donde obtuvieron una menor tasa de concepción de los embriones *in vitro* (341/910; 37,4%) que a la de los embriones *in vivo*. Esto podría deberse a que en ese entonces en el trabajo de Pontes et al. (2008) no existían medios de producción con mejores resultados a la tasa de concepción que los que existen actualmente. Cuando se los compara con trabajos más recientes diversos autores han reportado resultados similares, Pelizzari et al. (2015) en una TETF con un protocolo similar al de este experimento (48,0%), Sala et al. (2015) 43,4% y Tríbulo et al. (2017) 46,0%. Otro trabajo realizado en Brasil coincide con los resultados encontrados en esta tesis en un programa comercial de TETF con receptoras cruce *Bos taurus* x *Bos indicus* las cuales recibieron embriones producidos *in vitro*, la tasa de concepción fue similar al del Experimento 3 con un 48,1% (Nasser et al., 2011).

Debido a los resultados encontrados en el Experimento 2 de vacas sincronizadas con un protocolo J-Synch en programas de IATF, en el Experimento 4 surgió la idea de implementar este protocolo en programas de sincronización de receptoras de embriones y comparar el efecto de la manifestación del celo sobre la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción del protocolo J-Synch vs el protocolo con ECP o convencional del Experimento 3. La tasa de concepción de ambos tratamientos de sincronización fue similar, sin diferir entre los grupos (36,6% convencional y 39,0% J-Synch), pero la tasa de aprovechamiento fue mayor en las receptoras sincronizadas con el protocolo con ECP (90,0%) que las sincronizadas con el J-Synch (83,5%). Estas diferencias en la tasa de

aprovechamiento se podrían deber a que hay una mayor tasa de ovulación con estradiol que con GnRH de vacas que tienen folículos pequeños en el momento de la administración del inductor de la ovulación (Jinks et al., 2013). Estos autores demostraron que la administración exógena de estradiol aumentó la tasa de concepción a la IATF de vacas con cría al pie que fueron inducidas a ovular folículos dominantes más pequeños (45,0% vs 65,0% de preñez, respectivamente).

Como se mencionó anteriormente en esta discusión, Tribulo et al. (2017) también reportaron mayores tasas de aprovechamiento con el uso del protocolo con ECP con detección de celos y GnRH a las que no dan celos que las que recibieron protocolos como el J-Synch que utilizaban GnRH como inductor de ovulación. Trabajos realizados en Búfalas, no han encontrado diferencias en la tasa de ovulación y la tasa de concepción cuando se utilizó estradiol o GnRH como inductor de ovulación (Carvalho et al., 2016); así como en numerosos trabajos realizados en vacas y vaquillonas de carne (revisado en Menchaca et al., 2013 y Bó et al., 2013). Campos et al. (2016) no encontraron diferencias entre el uso de ECP (36,9%) y GnRH (48,3%) sobre la tasa de concepción en programas de IATF. Silveira et al. (2011) compararon el uso de EB o GnRH como inductores de ovulación sobre la tasa de concepción y no encontraron diferencias entre los tratamientos (51,0 vs 44,0%, respectivamente). Además, en otro trabajo efectuado en vacas de leche Girolando, Silva et al. (2016) no encontraron diferencias entre el uso de ECP o GnRH sobre el diámetro del folículo ovulatorio de los tratamientos. Sin embargo, en este trabajo a pesar de que la tasa de expresión de celo fue mayor para las vacas que recibieron ECP (93,1 vs 50,0% respectivamente) la tasa de ovulación tendió a ser mayor para las vacas que recibieron GnRH (P=0,06; ECP: 62,1% y GnRH: 83,3%).

En el Experimento 4, la tasa de concepción del protocolo J-Synch fue menor a lo reportado por de la Mata et al. (2013) con tasas de concepción mayores al 60,0% pero similar a lo reportado por Menchaca et al. (2016). En ese último trabajo se comparó la tasa de concepción de 945 vacas Hereford que recibieron embriones producidos *in vitro* y que fueron sincronizadas con el protocolo J-Synch (49,3%). En este experimento las tasas de concepción de las receptoras sincronizadas con el protocolo J-Synch fueron 8,4% mayor que las receptoras del grupo Convencional (49,3 vs 40,9% respectivamente). Cuando se

consideró el total de vacas con celo en algún momento en comparación con las sin celo, las diferencias fueron similares al Experimento 3. La tasa de concepción de las receptoras que manifestaron celo fue mayor en ambos tratamientos de sincronización (J-Synch 40,0% y Convencional 38,2%) que el de las receptoras que nunca manifestaron celo (J-Synch 29,2% y Convencional 22,2%), y cuando se sumaron las receptoras que mostraron celo vs las que nunca lo hicieron los resultados fueron similar a los experimentos anteriores (con celo: 39,1% y sin celo: 27,5%;  $P=0,05$ ). Además, en el Experimento 4 se logró evaluar el efecto de la presentación de celo sobre la mortalidad embrionaria/fetal temprana (periodo correspondido entre los 30 y 60 días de gestación) y la mortalidad fetal media/tardía (entre los 60 días y el parto). Si bien no hubo un efecto significativo de los tratamientos de sincronización sobre estas variables ( $P=0,11$ ), se evidenció que las vacas que manifestaron celo tuvieron un menor porcentaje de pérdidas embrionarias ( $P=0,004$ ; 5,6%) en comparación con las que no manifestaron celo (66,7%). En cuanto a las pérdidas fetales al parto, esta tendió a ser mayor en las vacas que no manifestaron celo ( $P=0,06$ ; 66,7%) que en las que sí lo hicieron (20,5%). Además, la tasa de parición fue más alta en aquellas receptoras con manifestación de celo (29,3%) que las que no manifestaron celo (2,9%). Al respecto de las pérdidas de gestación, resultados similares han sido reportados por Lima et al. (2015) en un trabajo efectuado en vacas de leche. En este trabajo las hembras que nunca manifestaron signos de celo tuvieron una mayor pérdida de gestación que las que si manifestaron celo (42,2 vs 20,4%, respectivamente). Como ya se dijo anteriormente, la manifestación del celo, los niveles de estradiol necesarios para la supervivencia embrionaria (Madsen et al., 2015) y los subsecuentes niveles de  $P_4$  del día de la transferencia de embriones (Frade et al., 2014) están positivamente asociados con la tasa de concepción de las receptoras y con la supervivencia embrionaria. En este aspecto es sustancial remarcar que la expresión del celo juega un rol importante para obtener mayores tasas de concepción en los programas de IATF o de TETF.

### CONCLUSIONES

Las conclusiones principales de esta Tesis son: 1) que la expresión del celo juega un rol fundamental dentro de los programas de sincronización para IATF como para TETF al momento de generar preñeces, confirmando de esta manera la hipótesis I. 2) que el tratamiento con GnRH a los animales que no manifiestan celo luego del retiro del dispositivo con P<sub>4</sub> aumenta la tasa de concepción en los programas de IATF y la tasa de aprovechamiento y de concepción en los programas de TETF confirmando la hipótesis II.

Además, se pueden agregar las siguientes conclusiones específicas:

#### **Experimentos 1 y 2 (IATF)**

- La expresión del celo para la IATF realizada entre las 54 y 56 h mejora la tasa de concepción.
- La incorporación de la eCG mejora las tasas de concepción a la IATF en vaquillonas que están en pobre condición corporal.
- La condición corporal de los animales al inicio del tratamiento de sincronización afecta la tasa de concepción. Las vacas con una condición corporal <2,5 y >4 tienen una menor tasa de concepción que las intermedias.

#### **Experimentos 3 y 4 (TETF)**

- Existe una correlación positiva entre la manifestación del celo, la tasa de aprovechamiento y la tasa de concepción. Lo que demuestra que es importante la identificación de estos animales después de la remoción del dispositivo con P<sub>4</sub> mediante el uso de pintura sobre la cola como una herramienta útil en el proceso de

selección de las receptoras con mayor probabilidad de lograr una preñez a término después de un programa de transferencia embrionaria.

- El porcentaje de pérdidas de gestación es reducido en los animales que manifiestan celo en los protocolos de sincronización para transferencia de embriones producidos *in vitro*.
- La estructura ovárica en el Día 0 afecta la tasa de aprovechamiento y concepción en los programas de transferencia embrionaria.
- La medida del CL en conjunto con la manifestación del celo afecta la tasa de concepción. En animales que logran un CL >18 mm de diámetro la tasa de concepción es similar haya o no manifestado celo. Sin embargo, en animales con CL <18 mm de diámetro, los que no manifiestan celo tienen una menor tasa de concepción que los que si manifestaron celo.
- La condición corporal de las receptoras en el día de la transferencia embrionaria afecta la tasa de concepción. Las vacas primíparas con una condición corporal <2,5 y >4 tienen una menor tasa de concepción que las intermedias y además están influenciada por la categoría animal.



### BIBLIOGRAFÍA

- Adams G.P. 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle; Implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology* 4, 19-24.
- Adams H. 2001. Prostaglandins, related factors, and cytokines. Section 4. Chap 21st pp 420-432 Disponible en: Adams HR Veterinary pharmacology and therapeutics. 8th Edition. Iowa State University Press/Ames.
- Allen W.R., Moor R.M. 1972. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Reprod. Fertil. Dev.* 29, 313-316.
- Barreiros T.R., Blaschi W., Santos G.M., Morotti F., Andrade E.R., Baruselli P.S., Seneda M.M. 2014. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrus suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology* 81, 651-6.
- Baruselli P.S., Marques M.O., Madureira E.H., Bó G.A., Costa Neto W.P., Grandinetti, R.R. 2000. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, 28 pp. 218.
- Baruselli P. S. Marques M. O. Madureira E. H. Costa Neto W. P. Grandinetti R. R. Bó G. A. 2001. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. *Theriogenology* 55, 157 (Abstract).
- Baruselli P.S., Reis E.L., Marques M.O., Nasser L.F., Bo G.A. 2004. The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82, 479-486.

- Baruselli P.S., Ferreira R.M., Filho M.F.S., Nasser L.F.T., Rodrigues C.A., Bó G.A. 2009. Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments. *Reprod. Fertil. Dev.* 22, 67–74.
- Beal W.E., Hinshaw R. H. 2001. Synchronization of estrus and ovulation in bovine embryo transfer recipients Proceedings of the Advanced Embryo Transfer Seminar 12 Annual Meeting of the American Association of Bovine Practitioners, Vancouver BC Canada.
- Bisinotto R.S., Ribeiro E.S., Lima F.S., Martinez N., Greco L. F., Barbosa L. F. Bueno P. P., Scagion L. F., Thatcher W. W., Santos J.E.P. 2013. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. *J. Dairy Sci.*, 96, 2214-2225.
- Bisinotto R.S., Castro L.O., Pansani M.B., Narciso C.D., Martinez N., Sinedino L.D.P., Pinto T.L.C., Van de Burgwal N.S., Bosman H.M., Surjus R.S., Thatcher W.W., Santos J.E.P. 2015. Progesterone supplementation to lactating dairy cows without corpus luteum at the initiation of the Ovsynch protocol. *J. Dairy Sci.* 98, 2515-2528.
- Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A., Caccia M., Tríbulo H., Mapletoft R.J. 1994a. Follicular wave dynamics after estradiol-17 $\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology* 41, 1555-1569.
- Bó G.A., Hockley D.K., Nasser L.F., Mapletoft R.J. 1994b. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. *Theriogenology* 42, 963-975.
- Bó G.A., Adams G.P., Pierson R.A., Mapletoft R.J. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43, 31-40.

- Bó, G., Berfegfet, D. y Mapletoft, R. 1996. Manipulación de la dinámica folicular en ganado bovino: Su aplicación en programas de Transferencia de embriones. Memorias, II Simposio internacional de reproducción animal, Córdoba, Argentina: pp. 53-68.
- Bó G.A, Baruselli P.S. 2002b. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el ganado bovino en regiones subtropicales y tropicales. Disponible en: Gonzalez Stagnaro C, Soto Belloso E, Ramirez Iglesia L (Ed.). Avances en la Ganadería Doble Propósito. Maracaibo, Venezuela: Fundación GIRARZ, Ed Astro Data. pp. 497-514.
- Bó G.A., Cutaia L., Tríbulo R. 2002a. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. *Taurus*, 14 pp. 10-21
- Bó G.A, Cutaia L, Tríbulo R. 2002a. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda parte. *Taurus*, 15 pp. 17-32.
- Bó G.A., Baruselli P.S., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tríbulo R., Tríbulo H., Mapletoft R.J. 2002c. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57, 53-72.
- Bó G.A., Moreno D., Cutaia L., Caccia M., Tríbulo R.J., Tríbulo H.E. 2004. Transferencia de embriones a tiempo fijo; tratamientos y factores que afectan los índices de preñez. *Taurus*, 21, pp. 25-40.
- Bó G., Cutaia L., Chesta P., Balla E., Pincinato E., Peres L., Maraña D., Aviles M., Menchaca A., Venerada G., Baruselli P. 2005. Implementación de Programas de Inseminación Artificial en Rodeos de Cría de Argentina. Resúmenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. Tomo I, pp. 97-128.
- Bó G.A., Cutaia L., Peres L.C., Pincinato D., Maraña D., Baruselli P.S. 2007. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on

reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Reproduction in Domestic Ruminants VI*, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press; 223-236.

Bó G.A., Cutaia L.E., Souza A.H., Baruselli P.S. 2009. Actualización sobre protocolos de IATF en Bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. *Taurus*, 41 pp. 20-34.

Bó G.A., Peres L.C., Cutaia L.E., Pincinato D., Baruselli P.S., Mapletoft R.J. 2012a. Treatments for the synchronization of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. *Reprod. Fertil. Dev.* 24, 272–277.

Bó G.A., Baruselli P.S., Mapletoft R.J. 2012b. Increasing pregnancies following synchronization of bovine recipients. *Anim. Reprod.* 9, 312-317.

Bó G.A., Peres L., Pincinato D., Baruselli P., Mapletoft R., 2013. Programas de sincronización de receptoras de embriones bovinos. X Simposio internacional de reproducción animal. Cordoba, Argentina, pp. 269-282.

Bó G.A. and Baruselli P.S. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal* 8, 144-150.

Bó G.A., Pelizzari M., Bernal B., Tríbulo A., Ongarato F., Villamil P.R., Garzón J. Andrada J.S., Tríbulo R., Tríbulo H., Mapletoft R.J. 2015a. Actualidades de las técnicas de superovulación y transferencia de embriones. Disponible en: [http://www.iracbiogen.com.ar/newsletter/externo.asp?Nota=201&Usuario=\[usuario\]](http://www.iracbiogen.com.ar/newsletter/externo.asp?Nota=201&Usuario=[usuario])

Bó G.A., Tschopp J.C., Cedeño A., y Menchaca A. 2015b. Manejo de los horarios de inseminación en los programas de IATF. Memorias del I Simposio de Reproducción México. Guadalajara, pp. 224-244.

- Bó G.A., de la Mata J.J., Baruselli P.S., Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology* 86, 388-396.
- Brackett B.G., Zuelke K.A. 1993. Analysis of factors involved in the in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology*, 39, 43-64.
- Bridges P., Wright D., Buford W., Ahmad N., Hernandez H., McCormick M., Schrick F., Dailey R., Lewis P., Inskeep E. 2000. Ability of induced corpora lutea to maintain pregnancy in beef cows. *J. Anim. Sci.* 78, 2942-2949.
- Bridges G.A., Hesler L. A., Grum D.E., Mussard M.L., Gasser C.L., Day M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69, 843-851.
- Bridges G.A., Mussard M.L., Pate J.L., Ott T.L., Hansen T.R., Day M.L. 2012. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Anim. Reprod. Sci.* 133, 16-26.
- Burke J.M., de la Sota R.L., Risco C.A., Staples C.R., Schmitt E.J.-P, Thatcher W.W. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 8, 1385-1394.
- Burton M.J., Dziuk H.E., Fahning M.L., Zemjanis R. 1990. Effects of oestradiol cypionate on spontaneous and oxytocin-stimulated postpartum myometrial activity in the cow. *British Veterinary Journal* 146, 309–315.
- Campos C.C., Oliveira M., Ferreira M.R., dos Santos R.M. 2016. Gonadorelin at the outset and/or end of an ovulation synchronization progesterone estradiol benzoate-based protocol in Nelore females. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 37, 173-182.

- Carvalho N.A., Soares J.G., Souza D.C., Maio J.R., Sales J.N., Martins Júnior B., Macari R.C., D'Occhio M.J., Baruselli P.S. 2016. Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial insemination protocol in buffalo cows and heifers during the non-breeding season. *Theriogenology* 87, 333-338.
- Cavalieri J., Macmillan K.L. 2002. Synchronisation of oestrus and reproductive performance of dairy cows following administration of oestradiol benzoate or gonadotrophin releasing hormone during a synchronised pro-oestrus. *Aust. Vet. J.* 80, 8, 486
- Cesaroni G., Butler H., Mc Dermott E., Cano A. 2000. Preñez de vaquillonas inseminadas a tiempo fijo después de un tratamiento con CIDR asociado con GnRH o con benzoato de estradiol aplicado 0 o 24 h pos tratamiento. *Taurus* 6 pp. 20-25.
- Chesta, P., Becker, B. 2012. Utilización de Buserelina Zoovet al momento de la inseminación en protocolos de IATF. X Simposio internacional de Reproducción. Córdoba, Argentina, pp. 307.
- Colazo M.G., Kastelic J.P., 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. 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.
- Cutaia L., Moreno D., Villata M.L., Bó G.A. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology* 55, 408 Abstract.
- Cutaia L., Veneranda G., Tríbulo R., Baruselli P.S. y Bó G. A. 2003. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cría: Factores que lo Afectan y

Resultados Productivos. V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, pp. 119-132.

de la Mata J.J., Bó G.A. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 55, pp. 17-23.

de la Mata J.J., de la Mata C.A., Bó G.A.. 2013. Características foliculares y luteales y tasa de preñez en receptoras de embriones sincronizadas con un protocolo J-Synch 6 d. Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentino, Córdoba, Argentina. pp. 378, Abstract.

de la Mata J.J., Menchaca A., Bó G.A. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, Argentina, pp. 143-157.

Fuente S., De la Fuente J. 1997. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients heifers. Proc XXIII Annual Meeting AETE, Lyon, France. pp. 148.

Dickinson S.E., Geary T.W., Monnig J.M., Pohler K.G., Green J.A., Smith M.F. 2016. Effect of preovulatory follicle maturity on pregnancy establishment in cattle: the role of oocyte competence and maternal environment. *Anim. Reprod.* 13, 209-216

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Drost M, Thatcher W.W. 1992. Application of gonadotrophin releasing hormone as a therapeutic agent in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 28, 11-19.

- Garcia A, Salaheddine M. 1998. Effects of repeated ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and subsequent follicular development. *Theriogenology* 50, 575-585.
- García Guerra A. 2016. Programas de sincronización y estrategias para disminuir las pérdidas gestacionales en receptoras de embriones producidos in vitro. Resumen del 3er Congreso Internacional de la Sociedad Argentina de Transferencia de Embriones, Buenos Aires, Argentina. pp. 66-76
- Geary T.W., Smith M.F., MacNeil M.D., Day M.L., Bridges G.A., Perry G.A., Abreu F.M., Atkins J.A., Pohler K.G., Jinks E.M. and Madsen C.A. 2013. Influence of follicular characteristics of ovulation on early embryonic survival. *J. Anim. Sci.* 91, 3014-3021.
- Gnemmi G., Maraboli C. 2014. La ultrasonografía en los programas de sincronización. Resúmenes Séptimas Jornadas Taurus, Buenos Aires, Argentina. pp. 56-69
- Gonella, A., Grajales, H., Hernández, A. 2010. Ambiente receptivo uterino: control materno, control embrionario, muerte embrionaria. *Rev. MVZ. Córdoba, Colombia.* 15, pp. 1976-1984.
- Goldenberg, R. L., Vaitukaitis J. L., Ross G. T. 1972. Estrogen and follicle stimulating hormone interactions on follicle growth in rats. *Endocrinology* 90, 1492–1498.
- Green M., Hunter M., Mann G. 2005. Relationships between maternal hormone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 88, 179-189.
- Hasler J.F., McCauley A.D., Lathrop W.F., Foote R.H. 1987. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 27, 139–168.



- Hasler J. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*; 56: 1401-1415.
- Hinshaw R. H. 1999. Formulating ET contracts. In "Proceedings Annual Meeting Soc. for *Theriogenology*, Nashville, USA, v1, 399-404.
- Homer E.M., Derecka K., Webb R., Garnsworthy P.C. 2013. Mutations in genes involved in oestrous cycle associated expression of oestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 42, 106– 112.
- Jinks E.M., Smith M.F., Atkins J.A., Pohler K.G., Perry G.A., MacNeil M.D., Roberts A.J., Waterman R.C., Alexander L.J., Geary T.W. 2013. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 91, 1176–1185.
- Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1991. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim. Reprod. Sci.* 26, 13-24.
- Larson L.L., Ball P.J.H. 1992. Regulation of estrus cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 38, 255-267.
- Larson J.E., Lamb G.C., Stevenson J.S., Johnson S.K., Day M.L., Geary T.W., Kesler D.J., Dejarnette J.M., Schrick F.N., Di Costanzo A., Arseneau J.D. 2006. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2a, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84, 332-342.
- Lauderdale, J. W., B. E. Seguin, J. N. Stellflug, J. R. Chenault, W. W. Thatcher, C. K. Vincent, and A. F. Loyancano. 1974. Fertility of cattle following PGF<sub>2</sub>α injection. *J. Anim. Sci.* 38, 964-967.
- Laura, M. M. 2007. Las Efemérides En El Aula. Buenos Aires: Noveduc Libros, pp. 204. ISBN 987-538-125-X.

- Lefebvre D. M., Block E. 1992. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiol-induced estrous behavior in ovariectomized heifers. *J. Dairy Sci.* 75, 1461–1464.
- Lemaster, J.W., Yelich J.V., Kempfer J.R., Fullenwider J.K., Barnett C.L., Fanning M.D., Selph J.F. 2001. Effectiveness of GnRH plus prostaglandin F2 $\alpha$  for estrus synchronization in cattle of *Bos indicus* breeding. *J. Anim. Sci.* 79, 309–316.
- Lequarre A., Vigneron C., Ribaucour F., Holm P., Donnay I., Dalbies-Tran R., Callesen H., Mermillod P. 2004. Influence of antral follicle size on oocyte characteristics and embryo development in the bovine. *Theriogenology.* 63, 841-859
- Lima M.E., Brauner C.C., Freitas V.O., Krause A.R.T., Gularte E.X., Burkert Del Pino F.A., Rabassa V., Corrêa M.N. 2015. Reproductive Responses of Lactating Dairy Cows According to Estrus Behavior and CIDR Uses in a Heatsynch Protocol. *Acta Scientiae Veterinariae.* 43, 1256.
- Looney C.R., Nelson J. S., Riano E.H., Forest D.W. 2005. Estrus synchronization methods for embryo transfer in *Bos indicus* cattle. Proceedings Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle, Texas A&M University, College Station. Disponible en: [http://beefrepro.unl.edu/proceedings/2005collegestation/08\\_tamu\\_bosindicuset\\_looney.pdf](http://beefrepro.unl.edu/proceedings/2005collegestation/08_tamu_bosindicuset_looney.pdf)
- Looney C.R., Nelson J.S., Schneider H.J., Forrest D.W. 2006. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology* 65, 201–209.
- Looney C.R., Stutts K.J., Novicke A.K., Chiles K.C., Tijernia S.E., Miranda A.R., Romo S., Forrest D.W. 2010. Advancements in estrus synchronization of Brahman-influenced embryo transfer recipient females. In: Proceedings AETA & CETA/ACTE Joint Convention, 2010, Charlotte, NC, USA. Kemptville, ON Canada: CETA/ACTE. pp. 17-22.
- López del Cerro P., Scándolo D.G., Vanzetti L., Cuatrín A., Scándolo D., Maciel M. 2011. Efecto de la aplicación de Licerelina en la fertilidad de vaquillonas Braford que no

manifiestan celo previo a la IATF. Resúmenes IX Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. pp. 326, Abstract.

Macmillan K.L., Henderson H.V. 1984. Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin Fea to estrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 6, 245- 254.

Macmillan K.L., Burke C.R. 1996. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 42, 307-320.

Madsen C.A., Perry G.A., Mogck C.L., Daly R.F., MacNeil M.D., Geary T.W. 2015. Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 158, 96-103.

Mapletoft R. J., Bó G.A., Adams G.P. 2000. Advances in the manipulation of donor cow and recipient estrus cycles in bovine embryo transfer programs. Arq. Fac. Vet UFRGS, Porto Alegre; 28 pp. 23-48.

Mapletoft R.J., Colazo M.G., Martínez M.F., Kastelic J.P. 2003. Ésteres de estrógenos para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con dispositivos con progesterona. V Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. pp. 55-67.

Mapletoft R.J. 2015. Estado actual y perspectivas de las biotecnologías reproductivas en los próximos 10 años. Resúmenes XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina. pp. 31-42.

Martinez M.F, Adams G.P, Bergfelt D, Kastelic J.P, Mapletoft R.J. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 57, 23-33.

- Martinez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., Mapletoft R.J. 2002a. 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. *J. Animal Sci.*, 80, 1746-1751
- Martinez M.F., Kastelic J.P., Adams G.P., Cook R.B., Olson W.O., Mapletoft R.J. 2002b. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 57, 1049-1059.
- Martins C.M., Rodrigues C.A., Vieira L.M., Mapletoft R.J., Bó G.A., Sá Filho M.F., Baruselli P.S. 2012. The effect of timing of the induction of ovulation on embryo production in superstimulated lactating Holstein cows undergoing fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 78, 974–980.
- Martinuk S., Manning A., Black W., Murphy B. 1991. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotrophin in vivo. *Biol. Reprod.* 45, 598-604.
- Mayor J.C., Tríbulo H.E., Bó G.A. 2008. Pregnancy rates following fixed-time embryo transfer in *Bos indicus* recipients synchronized with progestin devices and estradiol or GnRH and treated with eCG. Proceedings 16th International Congress on Animal Reproduction (ICAR), Budapest, Hungary. *Reprod. Dom. Anim*, 43 (Suppl. 3), 180.
- Mckinnon A. O., Squires E. L., Vaala W. E., Varner D.D. 2011. *Equine reproduction*, John Wiley & Sons.
- Menchaca A, Núñez R, Wijma R, García Pintos C, Fabini F, de Castro T. 2013. How fertility can be improved in fixed-time AI programs in beef cattle. Resúmenes X Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, pp. 103-134.
- Menchaca A., Dutra S., Carrau J.M., Sapriza F., Salazar J., de la Mata J.J., Bó G.A. 2015. Improvement of pregnancy rate by using the 6-day J-Synch protocol in recipient cows transferred with in vitro produced embryos. *Anim. Reprod.* 12, 651 (Abstract).

- Moraes, J. C. F. 2008. Controle do Estro e da ovulação em ruminantes. In: Gonçalves, paulo Bayard Dias; biotécnicas aplicadas a reprodução animal. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008.
- Murphy B.D., Martinuk S. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr. Rev.* 12, 27-44.
- Murphy B.D. 2012. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Anim Reprod*, 9, 223-230.
- Nasser L.F., Penteadó L., Rezende C.R., Sá Filho M., Baruselli P.S. 2011. Fixed time Artificial Insemination and Embryo Transfer Programs in Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae* 39, 15-22.
- Nogueira M., Melo D., Carvalho L., Fuck E., Trinca L., Moraes C. 2003. Do progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and eCG?. *Theriogenology*. 61, 1283-1290.
- Núñez O.R., Bó G.A., Menchaca A. 2016. Association between proestrus length, preovulatory follicular diameter estrus behavior and pregnancy rate in progesterone estradiol based treatment J-Synch for FTAI in Bos taurus beef heifers. Reumenes 18<sup>TH</sup> International Congress on Animal Reproduction (ICAR). 152, 477-478. Abstract.
- Pelizzari M., Tríbulo A., Garzon J., Bernal B., Tríbulo R., Tríbulo H., and Bó G.A. 2015. Factors affecting pregnancy rates in recipients receiving in vitro produced embryos by fixed time embryo transfer." *Reprod. Fert. and Dev.* 28, 184-184.
- Perry G. A., Smith M.F, Lucy M.C., Green J. A., Parks T. E, MacNeil M. D., Roberts A. J., Geary T. W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 102, 5268–5273.

- Perry G. A., Smith M. F., Roberts A. J., MacNeil M. D., Geary T. W. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85, 684–689.
- Perry G.A., J.K. Grant, J.A. Walker, G.A. Bridges, S.G. Kruse, S. Bird, K. Heaton, R. Arias, S.L. Lake. 2012. Comparison of three CIDR based fixed-time AI protocols for beef heifers. *J. Anim. Sci.* 90 (Suppl. 3), 237, Abstract.
- Perry G. A., Swanson L., Larimore L., Perry B., Djira G. D. 2014. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. *Domest. Anim. Endocrinol.* 48, 15-20.
- Perry G.A., Cushman R.A. 2016. Invited Review: Use of ultrasonography to make reproductive management decisions. *The Professional Animal Scientist* 32: 154–161; <http://dx.doi.org/10.15232/pas.2015-01446>.
- Pontes J.H.F, Nonato-Juniora I., Sanches B.V., Ereno-Junior J.C., Uvo S., Barreiros T.R.R., Oliveira J.A., Hasler J.F., Seneda M.M. 2008. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*, 71, 690–697.
- Pursley J. R., Mee M. O., Wiltbank M.D., 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>α. *Theriogenology*, 44, 15-923, Abstract
- Pursley J.R., Wiltbank M.C., Stevenson J.S., Ottobre J.S., Garverick H.A., Anderson, L.L. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.* 80, 295-300.
- Pursley J.R., Silcox R.W., Wiltbank M.C. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 2139-2144.

- Randi F., Parr M. H., Diskin M. G., Valenza A., Lively F., Kelly A. K., Lonergan P., Kenny D. A. 2017. Effect of oestrous synchronisation programme and season on pregnancy rate to timed artificial insemination in suckled beef cows. PhD., Tesis Doctoral. University College Dublin (UCD). Irlanda. pp. 151
- Ré M., de la Mata J.J. and Bó G.A. 2014. Synchronization of ovulation in dairy heifers using a shortened estradiol-based protocol that provides for a lengthened proestrus. *Reprod. Fertil. and Dev.* 26,118 (Abstract).
- Richardson B. N., Hill S. L., Stevenson J. S., Djira G. D., Perry G. A. 2016. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. *Anim. Reprod. Sci.* 166, 133-40.
- Rivera H., Lopez H., Fricke P. M. 2005. Use of intravaginal progesterone-releasing inserts in a synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 88, 957-968.
- Ryan D. P., Prichard J.F., Kopel E., Godke R.A. 1993. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool season of the year. *Theriogenology* 39, 719-737.
- Sá Filho M.F., Crespilho A.M., Santos J.E.P., Perry G.A., Baruselli P.S. 2010. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 120, 23–30.
- Sá Filho 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.

- Sala R. V., L. C. Carrenho-Sala, M. Fosado, L. C. C. Tosta, R. D. Tosta, M. Stoll, J. F. Moreno, B. M. Monteiro, P. S. Baruselli, A. Garcia-Guera and M. C. Wiltbank. 2015. "Comparison of methods for synchronizing recipients of in vitro produced embryos." *Reprod. Fertil. Dev.* 28, 185-185.
- Sales J. N., Crepaldi G. A., Giroto R. W., Souza A. H., Baruselli P.S. 2011. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 124, 12-18.
- Sorroarain N., Vaca R.J.A., Fernández Francia M.G., Lares S.F., de La Sota R.L., Baldo A. 2005. Eficiencia de la utilización de benzoato de estradiol a las 0 ó 24 horas del retirado el dispositivo intravaginal con progesterona para inducir la ovulación en vacas multíparas para carne. Resúmenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina, pp. 425, Abstract.
- Souza A.H., Viechnieski S., Lima F.A., Silva F.F., Araujo R., Bó G.A., Wiltbank M., 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.
- Spell A., Beal W., Corah L., Lamb G. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 56, 287-297.
- Stevenson, J. S. 2001. A review of oestrous behaviour and detection in dairy cows. In: *Fertility in the High Producing Dairy Cow*, Occasional Pub. no. 26, Brit. Soc. *Anim. Sci.*, 43-62.
- Stevenson J.S., Tiffany S.M., and M. C. Lucy M.C. 2004. Use of Estradiol Cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 87, 3298–3305.



- Stingfellow D., Siedel S. 2000. Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (I.E.T.S.). Illinois U.S.A. Cap. 6, 8 y 9.
- Thatcher W.W., Macmillan K.L., Hansen P.J., Drost M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31, 149-164
- Thomas J.M., Pooch S. E., Ellersieck M. R., Smith M. F., Patterson D. J. 2014. Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination. *J. Anim. Sci.* 92, 4189-419.
- Tríbulo A., Cedeño A., Bernal B., Andrada S., Barajas J.L., Ortega J., Oviedo J.M., Tríbulo H., Tríbulo R., Mapletoft R.J., Bó G.A. 2017. Factors affecting pregnancy rates and embryo/fetal losses in recipients receiving in vitro produced embryos by fixed time embryo transfer. *Repro. Fertil. Dev.* 29, 160 (Abstract).
- Tríbulo H., Bó G.A., Gatti G., Tegli J.C., Cutaia L., Moreno D., Brito M., Tríbulo R. 2000. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden, v 2, pp. 115, Abstract.
- Tschopp J.C., Bó G.A. 2015. Momento de inseminación y expresión de celos en vacas lecheras sincronizadas con dispositivos con progesterona y estradiol. Resúmenes del XI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Pabellón Argentina, Córdoba. pp 209-233.
- Tschopp J.C. 2016. Efecto de la expresión de celos y la adición de GnRH sobre la tasa preñez en vacas Holando argentino en lactancia sincronizadas con dispositivos con progesterona y estradiol. M. S.c., Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Córdoba (UNC). Córdoba. pp. 84

- Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J.G., Villeneuve P. Dufour J.J. 1992. Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.* 70, 1904–1910.
- Twagiramungu H., Guilbault L., Dufor J. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 3141-3151.
- Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. *Anim. Reprod. Sci.* 145, 1-7.
- Vasconcelos J., Sartori R., Oliveira H., Guenther J. Wiltbank M. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56, 307-314.
- 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+CIDR or 7-day CO-Synch+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* 8, 1170-185.