



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Uso de técnicas de reproducción asistida para el
mejoramiento genético de ganado bovino
en el trópico húmedo”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A:

Ramsés Romero Goicochea

**Asesor: Dr. Salvador Romo García
Coasesor: Dr. Armando Enrique Esperón Sumano**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

Antes que nada, quiero agradecer a Dios por permitirme realizar este sueño y ponerme en el camino las pruebas y las señales que me han llevado hasta aquí.

Al Dr. Salvador Romo García, por todo el apoyo que me ha brindado, la confianza que ha puesto en mí y por todas las enseñanzas que me ha dado en este camino, lo cual ha sido muy importante para la realización de esta tesis, pero sobre todo para mi realización como profesionista.

Al Dr. Armando Enrique Esperón Sumano por la dedicación y la paciencia que ha tenido al apoyar este proyecto, sin ello, definitivamente esto no habría sido posible.

A los doctores Benito López Baños, Fernando Osnaya Gallardo, María del Carmen Espejel del Moral y Fátima Betsabé González Silvestry por haberse tomado el tiempo necesario para revisar y por pulir esta tesis, que con cada una de sus correcciones fue tomando mejor forma.

Al rancho el Herradero de la familia Rosales Vázquez por permitirme realizar el proyecto dentro de sus instalaciones y brindarme todo lo necesario durante ese tiempo. Sin olvidar a los encargados, que sin su ayuda definitivamente no habría podido realizar la fase experimental de mi tesis. Además por todos los consejos y las enseñanzas de vida que ahí obtuve.

Al Ms.C. David Maraña Peña, por todo el apoyo brindado.

A la empresa Genemex Internacional por la donación de los embriones producidos *in vitro* utilizados para fines de esta tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, es un orgullo y una responsabilidad portar los colores de tan prestigiosa institución. A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por ser el espacio en el que me desarrollé como profesionista, pero principalmente como persona; aquí he conocido a personas que se han vuelto imprescindibles en mi vida.

A la Beca para titulación, exalumnos de alto rendimiento, por parte del Programa de Vinculación con los Egresados de la UNAM y la DGOAE.

Dedicatorias

A mi abuelo, Rutilo Romero Pineda QEPD, sé que desde donde esté, va a estar orgulloso de mí, al fin lo logré, al fin soy un veterinario. Usted fue de las principales personas que confió en mí y de la que tuve siempre el apoyo, espero nunca haberlo defraudado. Gracias por todos los consejos y los regaños, pero sobre todo, gracias por enseñarme a trabajar. Gran parte de lo que ahora soy se lo debo a usted.

A mis padres, María de los Ángeles Goicochea García y Celso Romero Campos, estoy infinitamente agradecido por todo lo que han hecho por mí, es un honor poder llamarlos mis padres, gracias por permitirme vivir esta vida, por ser partícipes de mis sueños, por apoyarme en todo momento, de todas las maneras posibles. No voy a olvidar que cuando sentía que ya no podía seguir adelante, unas palabras tuyas siempre me hicieron creer en mí, porque ustedes siempre han creído en mí. Definitivamente nada de esto hubiera podido lograr sin todos sus consejos, regaños y charlas, son los mejores padres del mundo, los amo.

A mi Merlín, usted es mi adoración, no existen palabras para describir lo mucho que la amo. Gracias por haber tomado la batuta en el momento necesario, por apoyarme con todo lo que he necesitado, por ser mi amiga, por demostrarme lo que es ser fuerte y saber salir delante de las adversidades, no sabe cuánto la admiro por eso.

A mis hermanos, Indy y Raciél, qué les puedo decir que no sepan, son los mejores hermanos que pude tener, gracias a ambos por estar en las malas y en las buenas, los amo.

A la familia Hernández Goicochea, ya que en los inicios de mi carrera me brindaron un espacio y me recibieron como un hijo más, estoy infinitamente agradecido por tal hecho. De no ser por ustedes, yo definitivamente no estaría donde estoy ahora.

A mis tías Gloria y Lupita por todo el cariño y el apoyo que me han dado, las quiero muchísimo.

A Fernanda, es increíble cómo en tan poco tiempo te has vuelto súper importante, uno de los motivos que me impulsa a seguir adelante es definitivamente tu apoyo, sabes que tienes el mío sin lugar a dudas. Somos magia.

Índice

Agradecimientos.....	I
Dedicatorias	II
Lista de cuadros.....	V
Lista de figuras	VI
Abreviaturas y siglas usadas	VII
1. Resumen	1
2. Introducción.....	3
3. Marco teórico.....	5
3.1. Anatomía y embriología del ovario.....	5
3.2. Foliculogénesis y ovogénesis	6
3.3. Onda folicular: reclutamiento, selección, dominancia y atresia	10
3.4. Eje hipotálamo, hipófisis, gónada	13
3.5. Cuerpo lúteo	15
3.6. Diferencias reproductivas entre <i>Bos taurus</i> y <i>Bos indicus</i>	17
3.7. Biotecnologías reproductivas	17
3.7.1. Inseminación artificial	18
3.7.2. Sincronización de estros.....	19
3.7.3. Fármacos utilizados en la sincronización de estros	19
3.7.3.1. Prostaglandina F₂ alfa	19
3.7.3.2. Estradiol	21
3.7.3.3. Progestágenos	21
3.7.3.4. Gonadotropina Coriónica Equina	21
3.7.3.5. Análogos de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas	22
3.7.4. Primeros protocolos para sincronizar la ovulación.....	23
3.7.5. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo.....	24
3.7.6. Antecedentes de la Transferencia Embrionaria	25
3.7.7. Transferencia Embrionaria.....	25
3.8. Mejoramiento genético	26
3.8.1. Diferencia Esperada de Progenie.....	28
3.8.2. Genómica	28
4. Objetivos	29

4.1. Objetivo general	29
4.2. Objetivos particulares	29
5. Hipótesis	30
5.1. Experimento I	30
5.2. Experimento II	30
5.3. Experimento III	30
6. Metodología	31
6.1. Experimento I	31
6.2. Experimento II	34
6.3. Experimento III	36
6.4. Análisis estadístico	38
7. Resultados	40
7.1. Experimento I	40
7.2. Experimento II	41
7.3. Experimento III	42
8. Análisis de resultados y discusión	43
8.1. Experimento I	43
8.2. Experimento II	48
8.3. Experimento III	49
9. Conclusiones	55
10. Referencias	56

Lista de cuadros

Cuadro 1. Características de los folículos ováricos bovinos durante el desarrollo (Adaptado de Adams y Singh, 2015).

Cuadro 2. Número y porcentaje de gestación de la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo por grupos; Grupo 1 (Con Acetato de Gonadorelina) y Grupo 2 (Sin Acetato de Gonadorelina).

Cuadro 3. Número y porcentaje de gestación de acuerdo al tipo de embrión transferido; Grupo 1 (Embriones *Bos taurus* congelados en Etilén Glicol producidos *in vivo*) y Grupo 2 (Embriones *Bos indicus* mantenidos frescos producidos *in vitro*).

Cuadro 4. Respuesta a la sincronización y gestaciones obtenidas en el Experimento III.

Lista de figuras

Figura 1. Etapas de ovogénesis definida sobre la base del estado del ciclo del ovocito (Tomado de Albertini, 2015).

Figura 2. Dinámica del desarrollo del folículo ovárico y secreción de gonadotropinas durante ciclos estrales de dos y de tres ondas en ganado bovino (Tomado de Adams *et al.* 2008).

Figura 3. Retroalimentación entre el hipotálamo, hipófisis y el ovario. La Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) estimula en la hipófisis la síntesis y secreción de Hormona Luteinizante y Hormona Folículo Estimulante (FSH). La Progesterona inhibe la secreción de la GnRH y disminuye la respuesta de la hipófisis a la GnRH. Los Estrógenos y la inhibina suprimen la secreción de FSH directamente en la hipófisis (Tomado de Hernández, 2012).

Figura 4. Representación gráfica del programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo para las vacas del Grupo 1 (n=49) en el Experimento I.

Figura 5. Representación gráfica del programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo para las vacas del Grupo 2 (n=69) en el Experimento I.

Figura 6. Programa de sincronización de celos realizado en el Experimento III.

Abreviaturas y siglas usadas

AG: Acetato de Gonadorelina

AMH: Anti-Mullerian Hormone (Hormona Anti-Mulleriana)

AN: Angus Negro

AR: Angus Rojo

ASAS: American Society Animal Science (Sociedad Americana de Ciencia Animal)

Aw2: Clima Cálido Húmedo con Lluvias en Verano (Escala de Köppen, modificado por García, 2004)

BE: Benzoato de Estradiol

BR: Brahman

CC: Condición Corporal

CE: Cipionato de Estradiol

CH: Charolais

CL: Cuerpo Lúteo

CS: Cloprostenol Sódico

EPD: Expected Progeny Difference (Diferencia Esperada de Progenie)

DIV: Dispositivo Intra Vaginal

DNA: Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

E: Environment (Ambiente)

E₂: Estrógenos

eCG: Equine Chorionic Gonadotropin (Gonadotropina Coriónica Equina)

FSH: Follicle Stimulating Hormone (Hormona Folículo Estimulante)

G: Genotipo

GCC: Germ Cell Cysts (Quistes de Células Germinales)

GnRH: Gonadotropin Releasing Hormone (Hormona Liberadora de Gonadotropinas)

GREL: Gonadal Ridge Epithelial-Like (Cresta Gonadal de Tipo Epitelial)

hCG: Human Chorionic Gonadotropin (Gonadotropina Coriónica Humana)

IA: Inseminación Artificial

IATF: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo

LH: Luteinizing Hormone (Hormona Luteinizante)

MOET: Multiple Ovulation and Embryo Transfer (Superovulación y TE)

OPU: Ovum Pick Up (Colección de Ovocitos Guiada por Ultrasonido)

P: Phenotype (Fenotipo)

PGC: Primordial Germ Cells (Células Germinales Primordiales)

PGF₂ alfa: Prostaglandina F2 alfa

PGH₂: Prostaglandina H2

PIV: Producción de embriones *in vitro*

P₄: Progesterona

RNA: Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)

SINIIGA: Sistema Nacional de Identificación Individual del Ganado

SM: Simmental

SOV: Superovulación

TD: Transferencia Directa

TE: Transferencia Embrionaria

TETF: Transferencia Embrionaria a Tiempo Fijo

TGF β : Transforming Growth Factor *beta* (Factor de Crecimiento Transformante *beta*)

VE: Valerato de Estradiol

WHR: Whole Herd Reporting (Reporte total de Progenie)

1. Resumen

Las biotecnologías reproductivas como la Inseminación Artificial (IA) a celo detectado, sincronización de celo, la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF), la transferencia embrionaria (TE) y la ultrasonografía son herramientas de gran utilidad para optimizar la rentabilidad de los hatos bovinos. El objetivo general de este trabajo fue evaluar los porcentajes de gestación obtenidos al usar diferentes tecnologías de reproducción asistida, para mejorar la productividad en un hato de ganado comercial con cría al pie, con influencia Cebú en el trópico húmedo de México. Se realizaron tres experimentos: en el Experimento I (EI) se compararon los porcentajes de gestación en un programa de IATF, con y sin la adición de Acetato de Gonadorelina (AG) en el momento de la IA, Grupo 1, n= 49 y Grupo 2, n= 69 respectivamente. El Experimento II (EII) se basó en la comparación de porcentajes de gestación entre embriones *Bos taurus* producidos *in vivo* congelados en Etilén Glicol (EG) (Grupo 1, n= 11) y embriones *Bos indicus* producidos *in vitro* (PIV) (Grupo 2, n= 9) haciendo uso de la repetición de celos de un programa de IATF. En el Experimento III (EIII) se evaluó el porcentaje de gestación en un programa de sincronización de celos con Cloprostenol Sódico e IA (n= 78). Para evaluar la condición reproductiva y determinar los resultados de los tres experimentos, se utilizaron técnicas de palpación rectal y ultrasonografía. En el EI los porcentajes de gestación fueron de 38.77% (19/49) para el Grupo 1 y 37.68% (26/69) para el Grupo 2, no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos ($P>0.05$). Para el EII el porcentaje de gestación en el Grupo 1 fue de 54.55% (6/11) y en el Grupo 2 fue de 55.56% (5/9), sin encontrarse diferencias significativas entre ambos grupos ($P>0.05$). En lo que respecta al EIII el porcentaje de gestación de la primera sincronización fue de 47.73% (21/44), para la repetición de estos celos fue de 37.50% (6/16) y para la segunda sincronización y primer servicio de las vacas que no entraron en celo tras la primera sincronización 14 días después fue de 62.50% (5/8). El porcentaje de gestación fue de 61.54% (32/52). En el EI, la aplicación de AG en el momento de la inseminación dentro del programa de IATF no mejoró el porcentaje de gestación. En el EII, no existió diferencia en el porcentaje de gestación entre embriones producidos *in vivo* congelados en EG y embriones PIV. En el EIII, se obtuvo que este tipo de programas son económicos y resultan en buenos porcentajes de gestación. La conclusión general de los tres experimentos realizados es que las biotecnologías reproductivas como la IA a celo detectado, la IATF y la TE, utilizadas de

manera conjunta con la ultrasonografía favorecieron la productividad al ser utilizadas en vacas comerciales cruzadas con Cebú y con cría al pie en un clima Aw2.

PALABRAS CLAVE:

REPRODUCCIÓN ASISTIDA, GANADO BOVINO, TRÓPICO HÚMEDO, INSEMINACIÓN ARTIFICIAL, TRANSFERENCIA EMBRIONARIA, SINCRONIZACIÓN.

2. Introducción

De acuerdo a la FAO el número promedio de cabezas de ganado vacuno en México en el 2014 fue de 32, 939, 529. De estas, en el año 2013 se produjeron 1, 806, 768 toneladas de carne bovina para una población total de 125, 000, 000 personas. De las cuales en promedio cada persona en el 2013 consumió 15.33 kg de carne bovina; este rubro ha disminuido desde el año 2008. Pero a partir del año 2009, las importaciones de carne bovina han aumentado de 43, 378 toneladas a 141, 900 toneladas en 2013. Esto indica que México no es autosuficiente en lo que respecta a la demanda de carne bovina (FAOSTAT, 2015).

En México se ha reducido el inventario de ganado productor de carne debido a diferentes circunstancias, entre las que sobresalen los malos índices reproductivos y por consecuencia la baja rentabilidad de las producciones pecuarias. Otra de las causas de esta reducción fue el aumento de la demanda de animales por parte de Estados Unidos de Norteamérica para satisfacer sus necesidades alimentarias. Siendo México uno de sus principales abastecedores, esta oportunidad hizo que los precios del ganado en pie subieran e hicieron muy atractiva la exportación para nuestros ganaderos durante el 2012, situación que favoreció el abuso en la venta tanto de machos como de hembras. Ya para el año 2013, según datos del Sistema Producto Bovinos Carne la exportación de becerros y becerras en pie disminuyó notablemente como reflejo de la escasez de ganado nacional. Esta escasez de ganado ocasionó que el precio de la carne subiera; el precio atractivo incrementó la venta de ganado tanto para engorda como para consumo directo, nuevamente propiciando que se vendiera ganado en exceso. Por otro lado, frente a la baja disponibilidad de machos, se han engordado y sacrificado hembras que deberían destinarse al remplazo (Quiroz, 2014).

La actividad ganadera en el país ocupa aproximadamente 110 millones de hectáreas y de ella dependen aproximadamente 4.2 millones de empleos directos y cerca de 13 millones de empleos indirectos (García, 2011).

El estado de Campeche tiene aproximadamente 499, 591 vientres bovinos, clasificando en el lugar 14 a nivel nacional (SINIIGA, 2016), a pesar de que las condiciones climáticas y la orografía se prestan para la producción de ganado bovino, aún no se explota al máximo su potencial.

La eficiencia reproductiva es crítica para evaluar la viabilidad económica para los productores del sistema vaca/becerro; sin embargo unos cuantos productores toman ventaja de las tecnologías reproductivas disponibles que pueden incrementar la rentabilidad. Existe más disponibilidad de oportunidades para productores que quieren capturar el valor de genética conocida (Johnson, 2005).

Los protocolos de sincronización de estros y manejo reproductivo en ganado mejoran los resultados del uso de la Inseminación Artificial (IA) ayudando a incrementar la calidad genética en la producción ganado de carne y son esenciales para una Transferencia Embrionaria (TE) comercial viable. El uso de protocolos mejorados puede incrementar la eficiencia para producción de carne. El costo-beneficio de los protocolos es positivo, es decir, que realizar la inversión de usar protocolos de sincronización de estros, al final genera una ganancia económica para la mayoría de las empresas de carne (Lehman y Lauderdale, 2015).

3. Marco teórico

3.1. Anatomía y embriología del ovario

Los ovarios son responsables de la producción de ovocitos y de la síntesis de hormonas sexuales, las cuales son Estrógenos (E_2) y Progesterona (P_4), éstas promueven la fecundación del ovocito y regulan el mantenimiento de la gestación, este rol doble (funciones gametogénica y endócrina) es complementario, interdependiente y necesario para una reproducción exitosa (Pineda y Dooley, 2003; Hernández, 2012).

En el caso de la vaca los ovarios son órganos pares suspendidos por el ligamento ovárico, que en esta sección se denomina mesovario y están localizados caudalmente a los riñones (Páramo, 2014).

El ovario bovino está dispuesto por una corteza que contiene un Cuerpo Lúteo (CL) temporal y miles de folículos en diferentes etapas de desarrollo; además de una médula compuesta principalmente por tejido conectivo, vasos sanguíneos, nervios y la *rete ovarii* (Nabors y Linford, 2015).

Durante la etapa embrionaria el ovario primordial se desarrolla de una cresta gonadal alargada sobre la cara ventral del riñón embrionario (mesonefros). Estudios recientes de inmunohistoquímica sugieren que el ovario primordial inicialmente no tiene una superficie de epitelio distinta con una membrana basal separándola del estroma subyacente, pero en su lugar existe un cúmulo de células llamado “Cresta Gonadal de Tipo Epitelial” (Gonadal Ridge Epithelial-Like o GREL por sus siglas en inglés). Las células GREL se desarrollan de la superficie de epitelio del mesonefros y son precursoras tanto de las células de la granulosa de los futuros folículos como de la superficie de epitelio del futuro ovario. Las “Células Germinales Primordiales” (Primordial Germ Cells o PGC por sus siglas en inglés) migran del saco vitelino a la pared celómica dorsal del embrión vía el mesenterio dorsal para colonizar la cresta gonadal. Las PGC se someten a una proliferación mitótica masiva y se entremezclan con las células GREL existentes, invadiendo los dedos de estroma (flujo de células) del mesonefros subyacente, penetrando la cresta gonadal y separando los cúmulos de PGC y células GREL asociadas dentro de los cordones ovígeros que difunden desde la superficie del epitelio hacia lo que llegará a ser la médula del ovario. Conforme el ovario se

desarrolla, los cordones ovígeros se destruyen dentro de grupos pequeños de células PGC y GREL resultando la formación de los folículos primordiales que contienen un ovocito rodeado por células escamosas de la granulosa, las cuales están separadas del tejido que la rodea por una lámina basal. Después de la formación del folículo primordial, la división mitótica de la ovogonia cesa, esta crece y llega a ser detenida en etapas tempranas de la Meiosis I (Adams y Singh, 2015).

3.2. Foliculogénesis y ovogénesis

La foliculogénesis es el proceso de desarrollo en el cual un folículo primordial activado se desarrolla a un tamaño preovulatorio mediante el crecimiento y diferenciación del ovocito y las células de la granulosa que lo rodean (Adams y Singh, 2015).

El ovocito es distinto de todas las otras células por la capacidad de que, al ser fertilizado por un espermatozoide, llega a ser un cigoto totipotencial (Albertini, 2015).

Durante el desarrollo fetal, la proliferación de los ovocitos se produce por división mitótica y termina alrededor del nacimiento. En esta etapa están contenidos dentro de racimos o quistes de células germinales (Germ Cell Cysts o GCC por sus siglas en inglés), los cuales provienen de división clonal y agregación de ovocitos. Cada GCC contiene ocho o más células germinales, con puentes intercelulares conectados sobre algunos de los ovocitos. Durante la formación de folículos primordiales, las proyecciones de las células somáticas penetran entre los ovocitos en las GCCs, que lleva a la construcción de puentes intracelulares y encierro eventual de ovocitos por las células somáticas (Pangas y Rajkovic, 2015).

La hembra bovina nace con aproximadamente 200 000 folículos primordiales, de los cuales muy pocos se activan e inician su crecimiento y la mayor parte de ellos sufren atresia en diferentes etapas de desarrollo (Hernández, 2012).

En el nacimiento el proceso meiótico se interrumpe en las fases de diploteno o dictioteno de la meiosis I. En la etapa prepuberal los ovocitos permanecen en esa fase de la meiosis, hasta que en la pubertad, la Hormona Luteinizante (LH por sus siglas en inglés) induce la ovulación y con ella se reanuda la meiosis. Aquí comienza el proceso de reducción del número de cromosomas hasta el estado haploide mediante la meiosis, la cual se vuelve a interrumpir

hasta el momento de la maduración del ovocito. El proceso meiótico en el ovocito sólo se completa hasta la Telofase II si éste llega a ser fecundado por el espermatozoide (Cunningham y Klein, 2009; Albertini, 2015).

Aunque las células de la teca interna no están en contacto directo con el ovocito, estas participan en la maduración del ovocito mediante la producción de andrógenos, esta producción se da por el efecto del pico de los niveles de LH el cual se da como consecuencia de la disminución de las concentraciones de P₄. Los andrógenos son aromatizados a E₂ a través de la enzima aromatasa a nivel de las células de la granulosa por influencia de la Hormona Folículo Estimulante (FSH, por sus siglas en inglés) (Hafez y Hafez, 2002; Hernández, 2012).

Además, las células de la teca favorecen el establecimiento de la red capilar que apoya el desarrollo folicular. Por otra parte, el ovocito regula la función de las células foliculares; lo que significa que él mismo participa en la creación de un microambiente óptimo para su maduración (Hernández, 2012).

Se han realizado estudios sobre cultivos *in vitro* de ovarios intactos con ligandos recombinantes o inhibidores de moléculas pequeñas para determinar sus efectos sobre el ensamble de folículos primordiales. Estos estudios han identificado múltiples vías de señalización que regulan este proceso, incluidos la señalización de hormonas esteroideas y señalización por miembros de la familia TGF β (Factor de Crecimiento Transformante *beta*, por sus siglas en inglés), tales como la Activina y la Hormona Anti-Mülleriana (AMH por sus siglas en inglés). Cabe destacar que el ovocito progresa a través de la ovogénesis, esto mantiene una relación temporal con el folículo ovárico asegurando que los dos procesos (ovogénesis y foliculogénesis) sean integrados (Skinner, 2005; Pangas, 2012; Pepling, 2012)

El desarrollo inicial del folículo implica el crecimiento del ovocito, que se acompaña de una intensa actividad ya que se sintetiza una gran cantidad de Ácido Ribonucleico (RNA por sus siglas en inglés). El crecimiento y maduración folicular representan una sucesión de transformaciones sub celulares y moleculares de diversos componentes del folículo: ovocito, granulosa y teca, regidas por varios factores intra ováricos e intra foliculares, señales hormonales que conducen a la secreción de andrógenos y E₂ (donde predomina el estradiol) principalmente (Cunningham y Klein, 2009; Hafez y Hafez, 2002).

Una clasificación comúnmente usada de ovocitos y folículos es la de Pedersen y Peters (1968). Ésta se basa en el tamaño del ovocito, número y forma de las células de la granulosa y morfología folicular. La clasificación es útil para referirse de manera uniforme a la descripción de las etapas de desarrollo folicular como se describe en el Cuadro 1 (Adams y Singh, 2015; Pangas y Rajkovic, 2015).

Al nacimiento de la hembra, los folículos están en la fase más elemental y se conocen como folículos primordiales (una sola capa de células escamosas de la pre-granulosa). En este momento algunos ovocitos están en fase transitoria de Profase I (paquiteno y diploteno temprano), mientras otros han entrado a diploteno tardío y dictioteno, donde ellos permanecerán detenidos hasta donde la meiosis es reactivada de nuevo poco antes de la ovulación al inicio de la pubertad. Posteriormente estos folículos se activan y se transforman en folículos primarios (una sola capa de células cuboideas de la pre granulosa). La proliferación de las células de la granulosa da resultado al incremento en el número de capas alrededor del ovocito; el cual también da comienzo a la primera división meiótica: el Ácido Desoxirribonucleico (DNA por sus siglas en inglés) es replicado y cada cromosoma se constituye de dos cromátidas. Los cromosomas homólogos se forman en pares y ocurre un intercruzamiento entre las cromátidas de estos. (Hernández, 2012; Mesquita y Fritsch, 2014; Adams y Singh, 2015; Pangas y Rajkovic, 2015).

El inicio del crecimiento folicular, comienza con la transformación de las células escamosas de la pre granulosa del folículo primordial a una capa simple de células cuboides, al punto en que el folículo llega a ser un folículo primario. La proliferación de las células de la granulosa resulta en el incremento en el número de capas alrededor del ovocito. Un folículo que tiene alrededor de dos a seis capas de células de la granulosa es llamado folículo secundario, hasta este momento no tiene antro (etapa preantral); un folículo con más de seis capas de células de la granulosa y un antro lleno de fluido es llamado como folículo terciario o antral; en esta etapa, su desarrollo es dependiente de gonadotropinas. El diámetro de un folículo primordial es de aproximadamente 0.04 mm y el diámetro del folículo antral más pequeño es de 0.25 mm. El folículo antral más grande o folículo de Graaf llega a ser el folículo ovulatorio seguido de un pico de gonadotropinas preovulatorio (Figura 1). El tiempo requerido por un

folículo para crecer desde la etapa preantral grande (folículo secundario) a el tamaño ovulatorio maduro ha sido estimado alrededor de 42 días (Cuadro 1) (Adams y Singh, 2015).

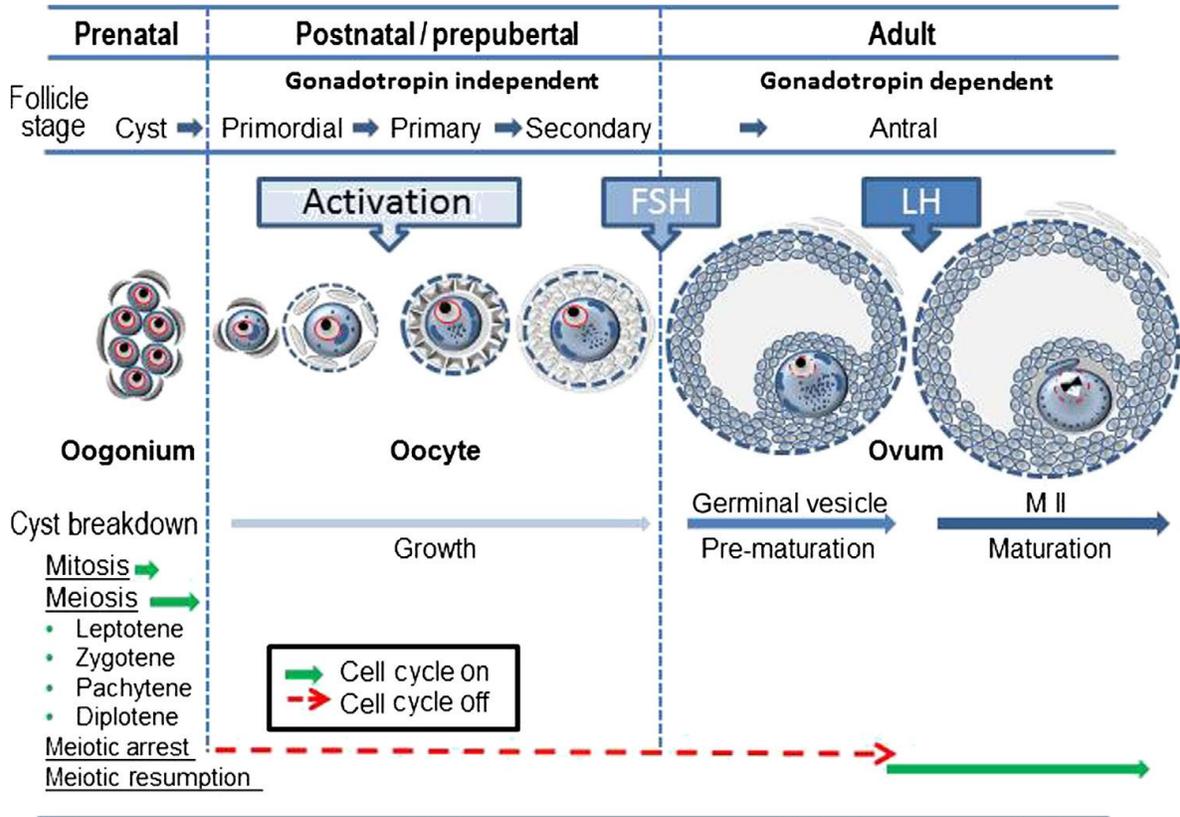


Figura 1. Etapas de ovogénesis definida sobre la base del estado del ciclo del ovocito (Tomado de Albertini, 2015).

Cuadro 1. Características de los folículos ováricos bovinos durante el desarrollo (Adaptado de Adams y Singh, 2015).

Etapa folicular	Tipo folicular	Receptores FSH/LH	No. de capas celulares de la granulosa	No. de células de la granulosa por sección	Diámetro del folículo (mm)	Diámetro del ovocito (µm)	Zona pelúcida	Teca interna
Primordial	1		1	<10 escamosas	<0.04	30	Ausente	Ausente
Primario	2	De FSH (Granulosa)	1 – 1.5	10 – 40 cuboideas	0.04 – 0.08	31	Ausente	Ausente
Secundario	3 (preantral pequeño)	De LH (Teca)	2 – 3	41 – 100	0.08 – 0.13	50	Comienza a formarse	Comienza a formarse
	4 (Preantral grande)		4 – 6	101 – 250	0.13 – 0.25	69	Parcialmente formada	Parcialmente formada
Terciario (antral)	5 (antral pequeño)	De LH en granulosa del folículo dominante	>6	>250	0.25 – 0.5	93	Totalmente formada	Totalmente formada
	Antral grande de Graaf			40 x 10 ⁶	10 – 15	132		

3.3. Onda folicular: reclutamiento, selección, dominancia y atresia

Los ciclos estrales de la hembra bovina típicamente se presentan con dos o tres ondas de crecimiento folicular, aunque también han sido observados ciclos con una, cuatro o más ondas (Adams *et al.*, 2008; Aerts y Bols, 2010). Cada onda de crecimiento puede ser subdividida en reclutamiento, selección, fase de dominancia y atresia. El crecimiento del folículo antral bovino es un proceso controlado de forma endócrina por gonadotropinas, localmente por factores de crecimiento que actúan de manera autócrina y parácrina, además de influencias ambientales como los cambios en la nutrición tienen efectos en la actividad ovárica (Vázquez y Olivera, 2010).

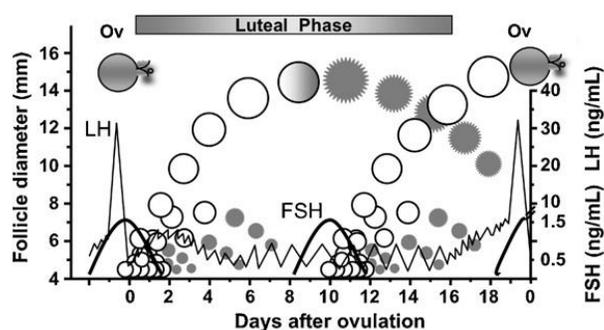
El reclutamiento implica que una cohorte de folículos antrales escapa de la apoptosis por el incremento en los niveles circulantes de FSH. En este momento se da inicio a la onda folicular emergente, la cual es caracterizada por el crecimiento repentino (dentro de 2 a 3 días) de 8 a 41 folículos de 3 a 4 mm que escaparon de la apoptosis, los cuales son inicialmente detectados al microscopio; se ha estudiado que en esta etapa los folículos tienen receptores de FSH. En la etapa de desarrollo folicular, el crecimiento es similar entre todos los folículos reclutados de la onda durante los siguientes dos días, posteriormente son sometidos a un proceso de

selección, donde un folículo se sigue desarrollando (folículo dominante), mientras que el resto de los folículos sufren atresia y se da su regresión (folículos subordinados). La atresia coincide con la disminución de concentraciones de FSH (3-4 días después del reclutamiento). Esta disminución es atribuida a la acción combinada entre la inhibina y el estradiol sobre la secreción hipofisiaria de FSH. De acuerdo a Ginther *et al.*, (1997), el folículo dominante lleva ventaja, ya que aparece, en promedio, como folículo de aproximadamente 3 mm entre 6 y 10 horas antes de que lo haga el folículo subordinado más grande de la misma oleada (Ginther *et al.*, 1997; Aerts y Bols, 2010; Vázquez y Olivera, 2010; Adams y Singh, 2015).

En ciclos de dos y tres ondas foliculares, la aparición de la primera onda folicular ocurre consecuentemente sobre el día de la ovulación (día 0). La aparición de la segunda onda ocurre aproximadamente sobre el día 9 o 10 para ciclos de dos ondas y sobre el día 8 o 9 para los ciclos de tres ondas. En ciclos de tres ondas, la tercera onda aparece sobre el día 15 o 16 (Adams y Singh, 2015).

Bajo la influencia de la P₄, los folículos dominantes de ondas sucesivas son anovulatorios y se someten a atresia. El folículo dominante presente al comienzo de la luteólisis llega a ser el folículo ovulatorio, y la aparición de la siguiente onda es retrasada hasta el día de la consiguiente ovulación. El CL comienza su regresión más temprana en los ciclos de dos ondas (día 16) que en los de tres ondas (día 19), resultando en un ciclo estral más corto correspondientemente (20 días contra 23 días respectivamente) como se muestra en la Figura 2. Por lo tanto, el ciclo estral de 21 días en ganado existe solamente como una media entre ciclos estrales de dos y tres ondas foliculares (Ginther *et al.*, 1997; Adams y Singh, 2015).

2-wave interovulatory interval



3-wave interovulatory interval

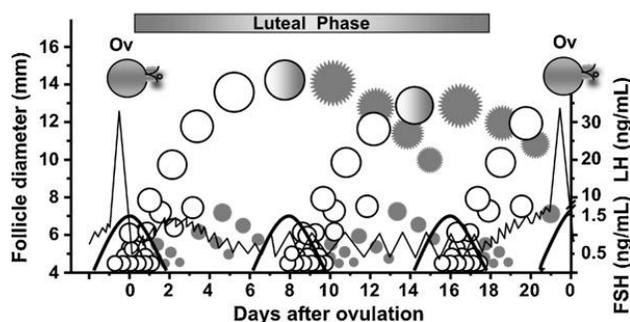


Figura 2. Dinámica del desarrollo del folículo ovárico y secreción de gonadotropinas durante ciclos estrales de dos y de tres ondas en ganado bovino (Tomado de Adams *et al.*, 2008).

Un incremento en la proporción de patrones de tres ondas ha sido asociado con un bajo plano de nutrición y estrés calórico. En ganado *Bos indicus*, no fue detectado el efecto estacional sobre el patrón de la onda, pero si fue influenciada por la edad. La mayoría de vaquillas Nelore (65%) exhibieron un patrón de tres ondas, mientras que la mayoría de vacas Nelore (83%) exhibieron un patrón de dos ondas (Adams *et al.* 2008). Se ha reportado que arriba del 27% de los ciclos estrales en vacas *Bos indicus* consistieron de cuatro ondas de desarrollo folicular, comparado a 7% en vaquillas *Bos indicus* (Bó *et al.*, 2003).

Todos los folículos en crecimiento o viables son capaces de llegar a ser dominantes, como indica lo siguiente: 1) la iniciación de tratamientos tempranos con FSH en la oleada estimulan muchos folículos para alcanzar el diámetro de folículos dominantes; 2) un folículo específico de 5 mm, elegido al azar al comienzo de una oleada puede ir directamente a la dominancia si se destruyen todos los otros folículos de 5 mm conforme vayan apareciendo; y 3) aún después de la desviación, un folículo subordinado viable puede asumir dominancia, si el folículo dominante original es destruido (Ginther *et al.*, 1997).

3.4. Eje hipotálamo, hipófisis, gónada

La liberación de hormonas gonadotrópicas se produce por acción de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH por sus siglas en inglés) producida en el hipotálamo. La GnRH es un péptido de 10 aminoácidos, el cual llega a la hipófisis anterior a través del sistema porta hipotálamo hipofisiario. Tanto la GnRH como las gonadotropinas se liberan de manera pulsátil, con frecuencia y amplitud de pulso que afectan drásticamente la actividad biológica. La maduración de los folículos ováricos se lleva a cabo mediante las hormonas gonadotrópicas, la LH y la FSH, que son liberadas en la hipófisis anterior o adenohipófisis. Las variaciones en la frecuencia de la liberación pulsátil de la GnRH del centro de secreción tónico provocan diferentes efectos sobre la producción de LH y FSH. Muchos factores externos son capaces de afectar la actividad del generador del pulso en el sistema nervioso central, y en consecuencia, son capaces de afectar a la actividad del sistema reproductor. Entre estos factores se incluyen la nutrición, el estrés, el amamantamiento, la presencia de machos, la estación y las señales visuales y olfatorias. La LH y la FSH son hormonas glucoproteínicas formadas cada una por dos cadenas peptídicas, una cadena α común de 90 aminoácidos y una cadena β la cual es específica de cada hormona (Squires, 2006; Cunningham y Klein, 2009; Ruiz y Hernández, 2012).

La LH mantiene un patrón de secreción paralelo a la secreción de GnRH; en contraste la FSH tiene una producción basal alta inhibida por el estradiol y la inhibina, por tal motivo su secreción no muestra un patrón pulsátil similar a la LH (Hernández, 2012). La GnRH tiene dos formas de secreción: la primera es pulsátil o tónica, regulada tanto por estímulos externos (fotoperiodo, bioestimulación, amamantamiento) como internos (metabolitos, hormonas metabólicas, hormonas sexuales). La segunda forma es la preovulatoria o la cíclica y es estimulada por los E_2 durante el estro e inhibida por la P_4 (Hernández, 2012). Los E_2 pueden ejercer retroalimentación positiva o negativa sobre la secreción de GnRH, lo cual depende de la etapa del ciclo reproductivo. En animales prepúberes y en anestro posparto, los E_2 inhiben la secreción de GnRH, pero durante el proestro y el estro estimulan la secreción de GnRH (Hernández, 2012) (Figura 3).

Los episodios de descargas de LH en patrones de amplitud baja y alta frecuencia (en intervalos de uno por hora), resultan en concentraciones más altas de la hormona en el

plasma, lo que habrá contribuido en el desarrollo de un folículo y la maduración de un ovocito (Ball y Peters, 2004a).

La oleada preovulatoria de LH por sí misma consiste en la suma de muchos pulsos rápidos de secreción de LH. La oleada estimula el proceso de ovulación, por la activación de una reacción inflamatoria, la cual degrada el tejido y adelgaza la pared del folículo, posteriormente, la Prostaglandina F₂ alfa (PGF_{2α}) induce contracciones tanto en la teca interna como externa, lo que conduce a la ruptura folicular y a la expulsión del ovocito. A continuación, inicia la luteinización de las células de la granulosa y de la teca del folículo. La oleada de LH usualmente tarda de 7 a 8 horas y la ovulación usualmente ocurre de 24 a 32 horas después del comienzo de la oleada (Ball y Peters, 2004a; Hernández, 2012).

Mientras las gonadotropinas (FSH y LH) gobiernan los estadios finales de desarrollo y ovulación, el ovario participa en el control endocrino de la función gonadotropa por la producción de hormonas esteroides y no esteroides en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Algunas de las hormonas no esteroides que regulan la función pituitaria son las activinas y las inhibinas. Además, el ovario produce folistatina, un regulador negativo de la activina. La inhibina y la activina son miembros de la familia de poli péptidos TGFβ. La inhibina reduce la producción de FSH, en la hipófisis, mientras que la activina incrementa la producción de FSH independientemente de la GnRH. Las folistatinas son una familia de glicoproteínas monoméricas que se unen a la activina e inhiben la estimulación de la producción de la FSH (Squires, 2006; Pangas y Rajkovic, 2015).

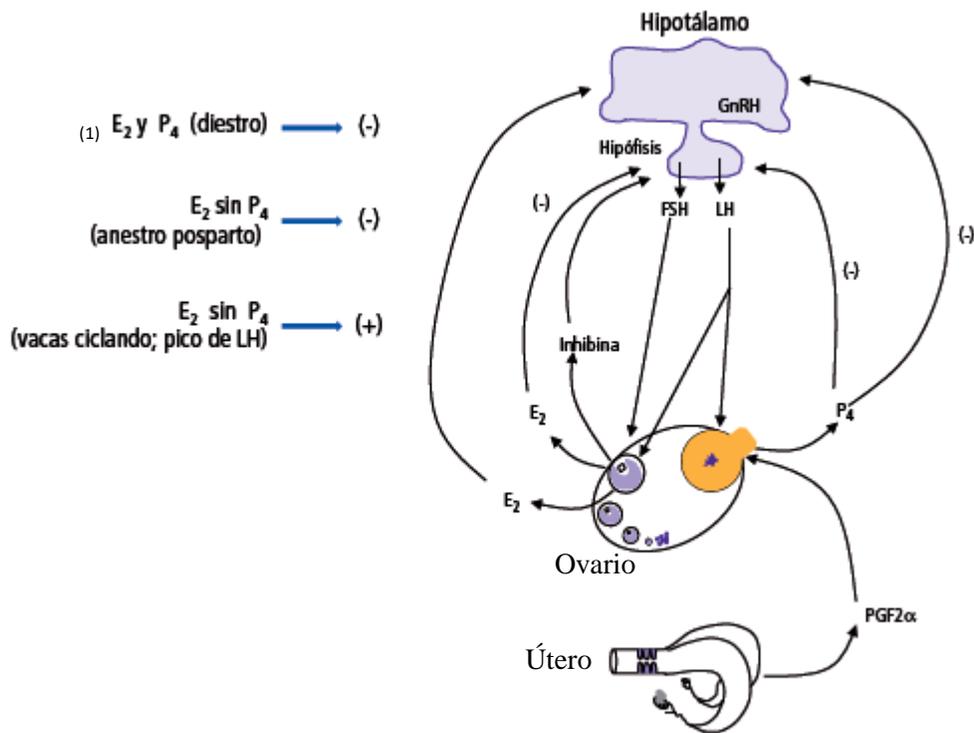


Figura 3. Retroalimentación entre el hipotálamo, hipófisis y el ovario. La Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) estimula en la hipófisis la síntesis y secreción de Hormona Luteinizante y Hormona Folículo Estimulante (FSH). La Progesterona inhibe la secreción de la GnRH y disminuye la respuesta de la hipófisis a la GnRH. Los Estrógenos y la inhibina suprimen la secreción de FSH directamente en la hipófisis (Tomado de Hernández, 2012).

(1) **E₂**: Estrógenos

3.5. Cuerpo lúteo

La luteinización comprende todos los cambios morfológicos, endócrinos y enzimáticos que ocurren en el folículo después de la ovulación. Las células de la teca interna se diferencian y multiplican en células lúteas chicas, mientras que las células de la granulosa se hipertrofian y dan origen a las células lúteas grandes. Estos cambios se facilitan por la ruptura de la membrana basal que separa la capa de células de la granulosa de la teca interna. En forma paralela se comienza a formar una amplia red de capilares que se distribuyen en todo el CL en formación (Hernández, 2012).

Una de las funciones de la oleada de LH es causar la diferenciación de células foliculares, incluso cambiar en éstas células de producción de estradiol a P₄. Las concentraciones

plasmáticas de P_4 comienzan a aumentar desde aproximadamente el día 4 del ciclo, alcanzando un pico alrededor del día 8 y permaneciendo altas hasta el día 17 (Ball y Peters; 2004a; Hernández, 2012).

La concentración de P_4 del plasma está altamente correlacionada con el peso, volumen, histomorfología y morfología del CL. Durante el metaestro los componentes vasculares ocupan el porcentaje de volumen más grande del CL. Las células lúteas se someten a hipertrofia a la mitad del diestro, durante el pico de producción de P_4 , en asociación con su mayor densidad de volumen. Se da un incremento en el tamaño de la célula luteal durante la fase de formación y una disminución durante la fase de regresión, lo cual coincide con la disminución en las concentraciones de P_4 (Adams y Singh, 2015).

Durante el proestro, el CL en regresión disminuye en peso, en densidad de volumen de células lúteas y componentes vasculares, además de disminuir en producción de P_4 . Hay un incremento simultáneo en tejido conectivo y hialinización de vasos sanguíneos. Las células lúteas se someten a cambios degenerativos reflejados por la disminución del tamaño de las células y acumulación de gotas gruesas de lípidos en el citoplasma. Estos cambios morfológicos son asociados con cambios progresivos en la concentración plasmática de P_4 , de menos de 2 ng/ml 3 días después de la ovulación a cerca de 4 ng/ml a los 6 días y en el pico más grande de concentración de 6 ng/ml entre 10 y 14 días después de la ovulación, seguido por una disminución de niveles después de 16 días debido a la luteólisis (Adams y Singh, 2015).

La regresión lútea es un proceso activo ocasionado por la secreción uterina de la $PGF_{2\alpha}$. El mecanismo por el cual se inicia la síntesis y secreción de la $PGF_{2\alpha}$ depende de una interacción entre el CL, los folículos y el útero. Los E_2 producidos en el folículo dominante desempeñan un papel importante en el inicio de la secreción de $PGF_{2\alpha}$, ya que promueven la síntesis de receptores para oxitocina (Hernández, 2012).

La fuente de los pulsos luteolíticos de $PGF_{2\alpha}$ es el endometrio debido a que solo este tipo de células uterinas expresan Ciclooxygenasa-2. La $PGF_{2\alpha}$ es sintetizada utilizando fosfolípidos de membrana como sustrato en una serie de reacciones que comprenden tres pasos, llamada ruta de las ciclooxigenasas. La fosfolipasa A2 y C, localizadas en la membrana plasmática, hidrolizan los fosfolípidos de membrana, liberando Ácido Araquidónico que puede ser

utilizado como sustrato para la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Posteriormente, la ciclooxigenasa cataliza el paso limitante de la biosíntesis de prostaglandinas, que es la conversión del Ácido Araquidónico a Prostaglandina H₂ (PGH_2). Finalmente, la PGH_2 es convertida rápidamente en $\text{PGF}_{2\alpha}$ por la Prostaglandina F Sintetasa (Atuesta y Gonella, 2011).

Durante el ciclo estral, la P_4 inhibe la síntesis de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ mediante la supresión de la formación de receptores para estradiol. Después de un periodo de 12 a 14 días de exposición a P_4 , las células endometriales se vuelven insensibles a la misma. Cuando esto ocurre, las células endometriales sintetizan receptores para estradiol, lo que permite que el estradiol producido en el folículo dominante estimule la síntesis de receptores para oxitocina en endometrio. En este momento, el endometrio está listo para sintetizar y secretar $\text{PGF}_{2\alpha}$, en respuesta al estímulo de la oxitocina. El primer episodio de secreción de oxitocina es de origen hipotalámico, lo que desencadena el primer pulso de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Esta se secreta en pulsos con intervalos de seis a ocho horas, requiriéndose de cinco a seis episodios para que ocurra la luteólisis. Si la $\text{PGF}_{2\alpha}$ no sigue este patrón de secreción, fracasará la regresión de CL. Además de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ de origen uterino, el CL también produce $\text{PGF}_{2\alpha}$, la cual aumenta el efecto luteolítico. La falta de sensibilidad a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ que se observa en los CL inmaduros obedece a que en este periodo el CL todavía no produce $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Hernández, 2012).

3.6. Diferencias reproductivas entre *Bos taurus* y *Bos indicus*

Comparadas con las razas *Bos taurus*, el ganado de razas *Bos indicus* presenta muchas diferencias en la fisiología reproductiva. El diámetro folicular en la desviación y en el tiempo de la capacidad ovulatoria es menor en razas *Bos indicus*. Además, estas últimas tienen una sensibilidad más grande a las gonadotropinas, una duración de estro más corta y expresan estro más a menudo durante la noche. Estas diferencias deben ser consideradas cuando se establecen programas de TE en ganado *Bos indicus* (Baruselli *et al.*, 2006).

3.7. Biotecnologías reproductivas

La necesidad por controlar los procesos reproductivos en animales ha llevado a una gran ganancia en conocimiento, impulsando el desarrollo de biotecnologías reproductivas para

animales y humanos. El uso de biotecnologías reproductivas ha sido de gran importancia en la producción ganadera. En términos generales, las principales biotecnologías reproductivas, también conocidas como técnicas de reproducción asistida incluyen: IA, congelación de gametos y embriones, TE, Superovulación (SOV) y Producción *in vitro* (PIV) de embriones. Éstas han madurado y se han convertido en aplicaciones comerciales exitosas, facilitando el incremento en la producción a través de la genética, la reducción del intervalo generacional, el control de enfermedades y la reducción de los costos de producción. Los últimos avances en biotecnologías reproductivas incluyen procedimientos que aún se encuentran en una fase experimental, como la transferencia de núcleos de células somáticas, la transgénesis y la biología de células madre (Bertolini y Bertolini, 2009).

El uso de ultrasonografía bidimensional en tiempo real ofrece la oportunidad de mejorar los métodos de evaluación de la función ovárica (incluyendo la posibilidad de medir el tamaño de las estructuras ováricas) y el diagnóstico de gestación en ganado. La determinación del sexo del feto en gestación temprana (55 a 85 días) y la verificación de la viabilidad del embrión por monitoreo del latido cardiaco fetal son métodos que únicamente están relacionados con la ultrasonografía (Beal *et al.*, 1992).

3.7.1. Inseminación artificial

La IA es el proceso de depositar células espermáticas manualmente dentro del tracto reproductivo de la hembra (FAO/IAEA, 2014).

Las biotecnologías reproductivas como la IA han proporcionado avances significativos en el mejoramiento genético de hato bovino mundial, además de permitir el control de enfermedades venéreas y disminuir los costos de reposición. También tienen otras ventajas como la reducción en la frecuencia de genes recesivos indeseables y la difusión de semen de toros superiores en regiones del mundo donde su cría no sería posible. Los sistemas tradicionales de detección de celo, son eficaces en solo 55-60% de los animales en celo, lo que limita la eficiencia del programa de IA. Las pérdidas de celos aumentan el número de días abiertos de los animales y el intervalo entre partos, disminuyendo el número de becerros nacidos (Nogueira *et al.*, 2013).

3.7.2. Sincronización de estros

La sincronización de estros refiere a la manipulación del ciclo estral de las hembras para que presenten celo en un mismo periodo de tiempo. Hay muchos protocolos disponibles para la sincronización del estro de las hembras (Rasby y Deutscher, 2016)

Los primeros trabajos de sincronización de celo se enfocaban en la inducción del estro para posteriormente realizar la IA. Actualmente, los protocolos más modernos tienen como objetivo sincronizar la ovulación, aún sin manifestaciones de celo. Así, es posible inseminar un gran número de animales en días predeterminados, sin la necesidad de detección de celos (Nogueira *et al.*, 2013).

Los tratamientos para sincronizar el estro se basan en la destrucción del CL mediante la administración de $\text{PGF}_{2\alpha}$, o en la inhibición de la ovulación a través del suministro de progestágenos (Hernández, 2007).

Una de las mayores limitantes para el uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ es la detección de estros, debido a que en los animales *Bos indicus* el estro es significativamente más corto y la manifestación es menos intensa. Además, la actividad de monta se efectúa con mayor frecuencia durante la noche, siendo este uno de los mayores problemas que contribuyen al fracaso de la detección de estros cuando se utilizan solamente dos observaciones diarias sin la utilización de métodos complementarios o auxiliares (Baca *et al.*, 1997).

3.7.3. Fármacos utilizados en la sincronización de estros

3.7.3.1. Prostaglandina F₂ alfa

Las prostaglandinas son sustancias derivadas del ácido araquidónico. La principal fuente de este ácido graso para la célula son los fosfolípidos de la membrana celular, que pueden ser liberados mediante la acción de una enzima Fosfolipasa A. El ácido araquidónico es entonces transformado en prostaglandinas mediante la acción de la enzima ciclooxigenasa. La prostaglandina más importante en la reproducción es la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Zarco, 2014).

La regresión del CL es un proceso activo ocasionado por la secreción de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Ésta es producida en el endometrio y provoca la regresión del CL, proceso que marca el fin del

diestro y el inicio del proestro. La administración exógena de $\text{PGF}_{2\alpha}$ se utiliza entre los días 6 y 17 del ciclo estral, produce la regresión del CL y, con ello, la presentación del estro en las siguientes 48 a 144 horas. La $\text{PGF}_{2\alpha}$ se utiliza tanto para sincronizar el estro en grupos de vacas, como para inducirlo en forma individual en vacas que tienen CL. La respuesta para inducir estro en los animales tratados es variable; en vaquillas se puede lograr hasta 95% de efectividad, mientras que en vacas adultas, particularmente en lactación, la respuesta fluctúa entre 45 y 70% (Hernández, 2007, 2012; Nogueira *et al.*, 2013).

La variabilidad en el tiempo de respuesta desde la inyección de $\text{PGF}_{2\alpha}$ hasta el momento del estro no depende de la rapidez con la que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ destruya el CL, sino de la etapa del diestro en que se administre la hormona. La causa de la variación de la respuesta radica en las ondas de crecimiento folicular que ocurren durante el diestro. Se ha demostrado que, si la vaca tiene un folículo de 10 mm de diámetro o más, tarda menos tiempo (48 a 72 horas) en presentar el estro, que una vaca cuyos folículos son menores de 5 mm (>72 horas) (Hernández, 2007).

El efecto luteolítico de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue demostrado en ratas en 1969. Algunos artículos fueron presentados por Rowson *et al.* (1972) en una reunión de la Sociedad Americana de Ciencia Animal (ASAS por sus siglas en inglés), demostrando que la $\text{PGF}_{2\alpha}$ producía luteólisis en ganado cuando se usaba vía intrauterina, subcutánea o intravenosa (Wiltbank y Pursley, 2014).

La $\text{PGF}_{2\alpha}$ ha sido usada extensivamente en sincronización de estros en bovinos. Combinando tratamientos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ con IA se ha probado ser una herramienta exitosa tanto en sistemas de producción de leche como de carne (Berardinelli y Adair, 1989).

Las limitaciones en el uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para la sincronización de estros incluyen su inefectividad durante los primeros cinco días del ciclo estral, la necesidad de la detección de estros, los resultados variables con intervalos de estros después del tratamiento y las hembras que no responden al tratamiento. Varios métodos de manejo y tratamientos hormonales adjunto han sido intentados para evitar algunas de estas limitaciones (Berardinelli y Adair, 1989).

Los principales productos utilizados comercialmente a base de $\text{PGF}_{2\alpha}$ contienen prostaglandina natural (Dinoprost trometamina, Lutalyse®) o sintética como el D-Cloprostenol (Ciclar®) y el Cloprostenol Sódico (CS) (Sincroplex®).

3.7.3.2.Estradiol

Otro agente utilizado es el estradiol, el cual es inhibidor de la secreción de FSH y es potencializado por la inhibina. La administración de estradiol durante el inicio de una oleada folicular interrumpe el crecimiento de los folículos, incluido el dominante, en las primeras 24 horas. Normalmente, cerca de 2 a 4 días después, ocurre la liberación de la FSH, seguida del inicio de una nueva onda folicular (Nogueira *et al.*, 2013).

Cuando existe la presencia de un CL funcional, sensible a la acción de $\text{PGF}_{2\alpha}$, el estradiol, interactúa con receptores endometriales, lo que estimula la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y desencadena la luteólisis. Por lo tanto, con el empleo de estradiol es posible sincronizar el inicio de una onda folicular y promover la lisis del CL (Nogueira *et al.*, 2013).

Existen diferentes fórmulas de estradiol disponibles, con diferentes tiempos de vida media corriente sanguínea de los animales. Las principales presentaciones son: Benzoato de Estradiol (BE), que permanece de 2 a 3 días en la corriente sanguínea; Valerato de Estradiol (VE), que permanece 8 días en la corriente sanguínea y el Cipionato de Estradiol (CE), que permanece por 9 días en la corriente sanguínea (Nogueira *et al.*, 2013).

3.7.3.3.Progestágenos

Los progestágenos son hormonas esteroides que pueden obtenerse por vía natural o sintética. Su estructura química característica los hace compuestos capaces de ser administrados en forma inyectada, incluidos en implantes de silicón (norgestomet), en esponjas de liberación intravaginal (acetato de fluorogestona, acetato de medroxiprogesterona) o por vía oral (Allyltrembolona, acetato de melengestrol). El uso de progestágenos para la sincronización del ciclo estral se basa en su capacidad para inhibir el pico preovulatorio de LH, bloqueando la ovulación hasta que se retira el tratamiento (Gutiérrez, 2014).

3.7.3.4.Gonadotropina Coriónica Equina

Es una hormona glucoproteínica secretada en las células coriónicas que invaden el epitelio uterino en las copas endometriales de yeguas gestantes. La faja coriónica comienza su desarrollo en el embrión equino temprano en la 7^a semana de gestación y comienza a invadir

el endometrio para formar las copas endometriales. Es en este tiempo en que la Gonadotropina Coriónica Equina (eCG por sus siglas en inglés) comienza a ser detectada en el suero de la yegua. Mientras existe un patrón general por lo cual los niveles circulantes de eCG tienen pico de los 70 a los 80 días de gestación. Su producción termina aproximadamente a los 110 días de gestación. Desde el punto de vista endocrinológico es importante resaltar dos valiosas características de la eCG que la distinguen de otras hormonas glucoproteínicas, la primera es el hecho de poseer actividad de FSH y LH cuando es administrada en especies distintas al equino; la segunda característica es su alto contenido en carbohidratos, hecho que le confiere características propias desde el punto de vista farmacocinético, como una vida media prolongada que favorece su uso en una sola dosis (Murphy, 2012)

Entre los factores que interfieren en los porcentajes de gestación de la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) en el ganado de carne, una aplicación de 300 a 400 UI de eCG, en el momento del retiro del Dispositivo Intra Vaginal (DIV) impregnado con P₄, provoca aumento del diámetro del folículo preovulatorio, con la consecuente mejora en porcentajes de gestación, sobre todo en vacas con condición corporal (CC) de moderada a baja (<3, en escala de 1-5) (Nogueira *et al.*, 2013).

3.7.3.5. Análogos de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas

Los análogos de la GnRH son compuestos químicamente con estructura similar a la GnRH, pero que difieren a ella con respecto a cierto componente, y pueden ser agonistas, si tienen una acción metabólica similar a la GnRH, o antagonistas, si la acción es opuesta. Los agonistas son potentes estimuladores de la secreción de gonadotropinas y los antagonistas son supresores de la función gonadotrópica de la hipófisis (López, 2009).

3.7.3.5.1. Agonistas de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas

Los agonistas de la GnRH son sustancias con mayor afinidad que la GnRH endógena por sus propios receptores en la adenohipófisis, y a los cuales permanecen unidos más tiempo, estimulando su actividad fisiológica; tienen una vida media mayor a la de la GnRH endógena.

Entre los GnRH agonistas que se encuentran disponibles actualmente en el mercado están la gonadorelina, la buserelina y el fertirelin; siendo la más potente de los tres la buserelina (López, 2009).

Los tratamientos con Acetato de Gonadorelina (AG) al momento de la IA se fundamentan en el concepto de que el fármaco sincroniza la ovulación con el momento de la IA, previniendo problemas de ovulación retardada y mejorando el desarrollo del CL (Zarco y Hernández, 2007).

El AG es un componente de protocolos de sincronización del estro y manejos reproductivos y ha mostrados rangos en el porcentaje de gestación aceptables, especialmente cuando la IATF es el método reproductivo (Lehman y Lauderdale, 2015).

3.7.4. Primeros protocolos para sincronizar la ovulación

Los primeros estudios para inducir la ovulación en ganado usaron E₂, gonadotropina coriónica humana (hCG por sus siglas en inglés) o LH de origen pituitario. Por ejemplo, en 1960, hubo reportes que inyecciones diarias de P₄ (25 mg) combinada con un tratamiento subsecuente con BE, 3 días después del último tratamiento de P₄, podía ser usado para sincronizar el estro con una fertilidad aceptable (Wiltbank y Pursley, 2014).

En 1995 se propuso un protocolo llamado Ovsynch, principalmente para ganado lechero, para la sincronización de la ovulación usando GnRH y un solo tratamiento de PGF_{2α}. Desafortunadamente, éste simple método no produjo una perfecta sincronización con todas las vacas para que ovularan al mismo tiempo en un ambiente hormonal ideal (Wiltbank y Pursley, 2014).

Estudios realizados por Gabriel Bó y colaboradores en el laboratorio de Reuben Mapletoft demostraron que el tratamiento con E₂ podría inducir la regresión de folículos con una subsecuente aparición sincronizada de un folículo dominante de 3 a 5 días después (Wiltbank y Pursley, 2014).

3.7.5. Inseminación Artificial a Tiempo Fijo

En el caso de ganado de carne, ha habido una tendencia al alza en el uso de IATF, el cual trajo como consecuencia en la actualidad, un aumento en la demanda de semen en ganado de carne (Wiltbank y Pursley, 2014).

Lo anteriores debido a que en la ganadería moderna, es primordial conocer, controlar y mejorar los índices reproductivos (porcentaje de gestación, índice de servicio, intervalo entre partos, porcentaje de natalidad). En este sentido, la IATF promovió un avance en la utilización de IA tradicional (Nogueira *et al.*, 2013).

Las ventajas de la utilización de la IATF se basan en: 1) eliminar la necesidad de observación de celo; 2) evitar la IA de vacas en el momento equivocado; 3) inducir la ciclicidad en vacas en anestro posparto; 4) concentrar las actividades y disminuir la mano de obra; 5) disminuir inversiones en toros; y 6) disminuir el intervalo entre partos y acortar la estación de monta, entre otras (Nogueira *et al.*, 2013).

Las asociaciones hormonales utilizadas actualmente para la sincronización de estro tienen el objetivo de inducir la luteólisis, sincronizar la onda folicular y la ovulación, a fin de realizar la IATF. Se trata de una herramienta importante de manejo, pues posibilita la IA de muchos animales en un único día. Los mejores resultados han sido obtenidos con asociación de P₄, E₂ y PGF_{2α}. En esos protocolos, el DIV impregnado con P₄ es generalmente mantenido por 8 días para controlar la duración del crecimiento folicular hasta la etapa preovulatoria, siendo realizada una aplicación de BE en el momento de la colocación del DIV, para inducir el crecimiento de una nueva onda. Cuando el mismo es retirado, dependiendo del programa de IATF, se puede aplicar, ya sea una dosis de PGF_{2α}, o una de E₂, o en su defecto, ambas. En el caso de los E₂, puede utilizarse una aplicación de BE o VE (24 horas después del retiro del DIV) o CE (en el momento del retiro del DIV) para inducir la ovulación sincronizada. La IATF debe ser realizada 48 a 54 horas después del retiro del DIV (Furtado *et al.*, 2011; Nogueira *et al.*, 2013).

3.7.6. Antecedentes de la Transferencia Embrionaria

El primer nacimiento documentado resultante de una TE en un mamífero fue logrado por Heape en 1890 (Hasler, 2014). Las técnicas de TE con resultados favorables en bovinos se comenzaron a describir en reportes desde 1951, pero fue hasta finales de la década de 1970 que la SOV y la TE fueron introducidas comercialmente en gran parte debido al desarrollo de técnicas no quirúrgicas simples y poco costosas. Nicholas y Smith (1983) sugirieron un uso sistemático de la SOV y TE en ganado lechero el cual fue nombrado como esquema de Superovulación y TE (MOET por sus siglas en inglés). Éste consiste en producir una ovulación múltiple en vacas o novillonas de alto valor genético, para después fertilizar *in vivo* mediante IA los óvulos utilizando semen de un toro también de alto valor genético, para que los embriones obtenidos sean colectados mediante la técnica no quirúrgica, para después, cada uno sea transferido a cada vaca receptora (Callesen *et al.*, 1996; Betteridge, 2000; Bó y Mapletoft, 2014).

3.7.7. Transferencia Embrionaria

El principal uso de la TE en ganado ha sido amplificar los rangos reproductivos de hembras valiosas. Idealmente esta técnica puede ser usada para mejorar el aporte genético a un hato e incrementar las oportunidades de mercado en ganado de razas puras. El éxito de la TE depende de factores asociados con el embrión, con la receptora, con el técnico que realiza la transferencia, o de una interacción entre estos factores (Cliff y Mercadante, 2015).

A través de la TE es posible transportar un hato a diferentes lugares a menor costo y sin que se presente trauma asociado al transporte de animales vivos. Los embriones transportados y desarrollados dentro de receptoras en el lugar final de destino, tienen más probabilidades de adaptarse a las condiciones locales que los animales que son transportados en pie (Ball y Peters, 2004b).

La selección de las receptoras se basa en el aspecto del animal, el tamaño, la producción láctea, la CC, la mansedumbre de las vacas, que sean libres de enfermedades y que hayan recibido las vacunas de acuerdo a los patógenos presentes en esa zona geográfica (Robertson, 2015). Los celos o estros de las vacas receptoras antes de la TE pueden ser de dos tipos:

naturales, también llamados espontáneos, o inducidos (Callesen *et al.*, 1996). Se ha demostrado que los celos naturales tienen una fertilidad similar a los celos inducidos. Muchos profesionales hoy en día usan protocolos de Transferencia de Embriones a Tiempo Fijo (TETF) haciendo innecesaria la detección de celos. Este es el método de elección en granjas con manejo promedio y con una mala detección de calores. En las granjas con buen manejo y con un personal excelentemente entrenado para la detección de celos, algunos profesionales prefieren usar calores observados (Robertson, 2015).

Los embriones frescos producidos *in vivo* no son tan exigentes en cuanto a sincronía de la transferencia y condiciones de mantenimiento en comparación con los embriones congelados, con un rango del día 5 al 8 para realizar la transferencia. Los embriones congelados, producidos *in vivo* y que son evaluados como de Grado 1, han pasado por un mayor estrés y por lo tanto necesitan una mayor sincronía, por lo que la TE se realiza en el día 7. Los embriones obtenidos mediante PIV pueden estar disponibles tanto en fresco como congelados y se usan en tiempos similares a los de los embriones producidos *in vivo* que se conservan por congelación (Robertson, 2015).

Algunas diferencias entre embriones producidos *in vivo*, obtenidos mediante la técnica de MOET y los producidos *in vitro* por Colección de Ovocitos mediante ultrasonido (Ovum Pick Up, u OPU por sus siglas en inglés) y PIV, son que en el caso de éstos últimos se obtienen más embriones por vaca/año que en MOET, aunque actualmente los porcentajes de gestación son mayores para los embriones obtenidos *in vivo* (Pontes *et al.*, 2009).

3.8. Mejoramiento genético

El objetivo del mejoramiento genético es alcanzar los mejores niveles de producción, productividad y/o calidad del producto de acuerdo al sistema de producción y las exigencias del mercado. Para alcanzar este objetivo, varias características expresadas por los animales necesitan ser monitoreadas. Algunos ejemplos son la adaptabilidad, la eficiencia reproductiva, viabilidad, pesos corporales, tasas de crecimiento, calidad de la canal y de la carne. La expresión observable o medible de estas características es conocida como fenotipo (P), el cual es un resultado que depende del genotipo del animal (G), para el cual tanto el

padre como la madre contribuyen igualmente en el momento de la fecundación; así como también depende del ambiente (E) en el cual el animal es criado, dando la interacción genotipo x ambiente (GxE), que representa las expresiones de los genotipos de cuando están expuestos a diferentes condiciones ambientales. Estas relaciones consideradas conjuntamente pueden ser expresadas como: $P = G + E + GxE$ (do Nascimento *et al.*, 2013).

El ambiente incluye todos los factores no genéticos que contribuyen, positiva o negativamente, para la expresión fenotípica. Desde un punto de vista estricto, incluye los efectos proporcionados por el propio criador (tales como cuidados en la salud, alimentación y manejo), así como también los aspectos sobre los cuales el hombre difícilmente tiene poder de control (por ejemplo temperatura ambiental, radiación solar, precipitación pluvial y altitud). Con relación a este aspecto, la decisión de usar animales adaptados a las condiciones ambientales es prioritaria y debe ser el primer paso en dirección al éxito del emprendimiento de la empresa ganadera (do Nascimento *et al.*, 2013).

Para lograr una meta basada en la rentabilidad se deben incluir rasgos que influyan en los ingresos y en los costos. Para ganado de carne, estos incluyen: los que repercutan en la productividad tales como rendimiento reproductivo, rango de crecimiento y de supervivencia; rasgos que influyen en costos de producción tales como consumo de alimento; y rasgos que tengan que ver con la calidad de la carne tales como terneza (suavidad) y sabor de la carne (Garrick, 2011).

En los sistemas de producción de carne, el peso al destete tiene gran importancia, ya que influye en la determinación de la eficiencia económica de cualquier sistema de producción de bovinos y puede ser recomendado como criterio de selección. Un componente importante a evaluar para estimar la rentabilidad en la producción de carne bovina, es el crecimiento de las crías, lo que implica un óptimo crecimiento pre y post destete (Montes *et al.*, 2008).

Entre las herramientas utilizadas para el mejoramiento genético se encuentran el entrecruzamiento, la selección, la Diferencia Esperada de la Progenie (EPD por sus siglas en inglés), el Reporte de Toda la Progenie (WHR por sus siglas en inglés) y la Genómica. En el presente trabajo se abordarán los EPDs (Bullock, 2014).

3.8.1. Diferencia Esperada de Progenie

Los EPDs proveen valores genéticos estimados de un animal siendo padre. Específicamente, las diferencias en los EPDs entre dos individuos de la misma raza predicen las diferencias en el desempeño entre su futura descendencia cuando cada uno es apareado en animales del mismo mérito genético. Los EPDs son calculados para rasgos de nacimiento, desarrollo, maternales y de la canal, y son reportados en las mismas unidades de medida en que se expresa cada rasgo (normalmente es en libras). Los valores de EPDs solo pueden ser directamente comparados entre animales de la misma raza (Greiner, 2009).

Los EPDs son reportados por la mayoría de las asociaciones de criadores de razas cárnicas y son calculados usando ecuaciones y modelos estadísticos complejos. Estos modelos estadísticos usan toda la información conocida sobre un animal en particular para calcular su EPD. Esta información incluye datos del desempeño del animal mismo, información de sus ancestros (padre, madre, abuelos, bisabuelos, etc.), parientes colaterales (hermanos y hermanas) y progenie. En resumen, para calcular el EPD son usados virtualmente todos los datos de desempeño relacionados con el animal de interés (Greiner, 2009).

3.8.2. Genómica

La Genómica provee información sobre la eficiencia de los programas de mejoramiento genético de ganado de carne a través de la incorporación de predicciones genómicas dentro de las evaluaciones genéticas tradicionales. Las oportunidades para incrementar el progreso genético incluirán el incremento de la exactitud de selección, reducción del intervalo generacional, incremento de la intensidad de selección, además de una mejor capacidad de medición de ciertas características, como el consumo individual de alimento y la creación de oportunidades de cambio genético en nuevas características (Miller, 2010).

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar los porcentajes de gestación obtenidos al usar diferentes tecnologías de reproducción asistida, para mejorar la productividad en un hato de ganado comercial con cría al pie, con influencia Cebú en el trópico húmedo de México.

4.2. Objetivos particulares

- a) Comparar los porcentajes de gestación en un programa de IATF, utilizando BE, DIV con P₄, CE, D-Cloprostenol, eCG, con y sin la adición de AG.
- b) Comparar los porcentajes de gestación entre embriones congelados en EG producidos *in vivo* y embriones frescos producidos *in vitro*, en un programa de TE haciendo uso de un celo pre sincronizado.
- c) Evaluar el porcentaje de gestación en un programa de sincronización de estros utilizando CS con IA a celo detectado.

5. Hipótesis

5.1. Experimento I

En un programa de IATF utilizando BE, un DIV impregnado con P₄, CE, D-Cloprostenol y eCG se obtendrán mejores porcentajes de gestación al añadir AG.

5.2. Experimento II

Utilizando un celo natural pre sincronizado para realizar TE, se obtendrán mejores porcentajes de gestación al utilizar embriones congelados producidos *in vivo* en comparación con embriones frescos producidos *in vitro*.

5.3. Experimento III

En la sincronización de estros con CS e IA a celo detectado se obtendrán porcentajes de gestación superiores a los obtenidos con el uso de otros programas de sincronización en ganado en el trópico.

6. Metodología

6.1. Experimento I

Comparación de porcentajes de gestación en un programa de IATF, utilizando BE, DIV impregnado con P₄, CE, D-Cloprostenol, eCG, con y sin la adición de AG.

Este experimento se llevó a cabo en otoño, entre septiembre y diciembre de 2015, desde el inicio de la sincronización, hasta el día del diagnóstico de gestaciones.

Se utilizaron 118 vacas pluríparas, lactando, que se encontraran ciclando, con CC 2.5 ± 0.75 en una escala del 1 al 5 (Frasinelli *et al.*, 2004), de aptitud cárnica, con cruza cebuínas, localizadas en el Rancho El Herradero, ubicado en la carretera Villahermosa – Escárcega, en el municipio de Carmen, Campeche, con coordenadas 18°14' Norte, 91°26' Oeste y clima Aw2 (cálido húmedo con lluvias en verano) de acuerdo a la escala de Köppen (García, 2004). Las vacas fueron alimentadas con pastos de la zona entre los que destaca el Humidícola (*Brachiaria humidicola*), fueron suplementadas con pollinaza y se les ofrecían minerales en presentaciones comerciales.

Se utilizó la técnica palpación rectal para diagnosticar el estado fisiológico y reproductivo de cada vaca, en caso de existir alguna duda se utilizó la técnica de ultrasonografía rectal haciendo uso de un equipo de ultrasonografía con un transductor rectal lineal de 6.5 Mega Hertz multi frecuencia de 4.5 a 7.5 (Kaixin®, China). En aquellas vacas que no fueron diagnosticadas como gestantes, se procedió a evaluar el estado de sus órganos reproductivos utilizando ultrasonografía, en especial para determinar el tamaño de las estructuras ováricas presentes en ese momento. En caso de que las vacas se encontraran ciclando, o con folículos mayores de 10 mm, se procedió a incluirlas en el programa de sincronización.

Las vacas fueron divididas en tres tiempos de sincronización (de 40 vacas en el primero y segundo lote y 38 en el tercero) e IA para que todas las inseminaciones se llevaran a cabo entre las 50 y las 54 horas después de que se retiró el DIV.

El programa de IATF se llevó a cabo de la siguiente manera: el día 0 se colocó un DIV impregnado con 750 mg de P₄ (Pro-Ciclar P₄®, Zoovet), además, se inyectaron 2 mg de BE al 0.1% (Benzoato®, Zoovet; 2 ml); siguiendo con el programa, el día 8, se retiró el DIV y

se aplicaron 400 UI de eCG (Novormon®, Virbac; 2 ml), 0.15 mg de D-Cloprostenol (Ciclar®, Zoovet; 2 ml) y 0.5 mg de CE (Cipiosyn®, Syntex; 1 ml). Posteriormente, el día 10 del protocolo (50 a 54 horas después del retiro del DIV) las vacas fueron inseminadas. Conforme fueron entrando a la trampa de manejo de manera 1 x 1 fueron divididas al azar en dos grupos; el Grupo 1 (n=49) fue inyectado en el momento de la IA con 250 µg de AG (GnRH®, Sanfer; 2.5 ml) (Figura 4), y el Grupo 2 (n=69) no recibió dicha inyección (Figura 5).

La IATF, como su nombre lo indica, se realizó independientemente de que las vacas hubieran presentado signos de estro o no, y ésta se realizó con semen de 3 toros de diferentes razas; estos fueron: One Penny Blanco Flash 6424 (Charolais, CH) y Mr. V8 434/5 (Brahman, BR). Estos sementales poseen pruebas de EPD y fueron seleccionados en este trabajo para que las futuras crías muestren una mejora en la productividad en términos de pesos al nacimiento, al destete y al año. Se sincronizaron e inseminaron en total 118 vacas.

La descongelación de las pajillas de inseminación y montaje en la pistola aplicadora se llevó a cabo de la siguiente manera: se seleccionó el semen a utilizar, posteriormente se sacó cada dosis de semen del termo de nitrógeno e inmediatamente se colocó en baño maría a 37°C por 45 segundos, una vez retirado del baño maría, se secó con una toalla de papel y se colocó en la pistola aplicadora de semen, donde se le cortó la punta, se le colocó la funda para IA y sobre esta una camisa sanitaria de plástico (chemisse). Finalmente se procedió a realizar la IA con la técnica recto vaginal.

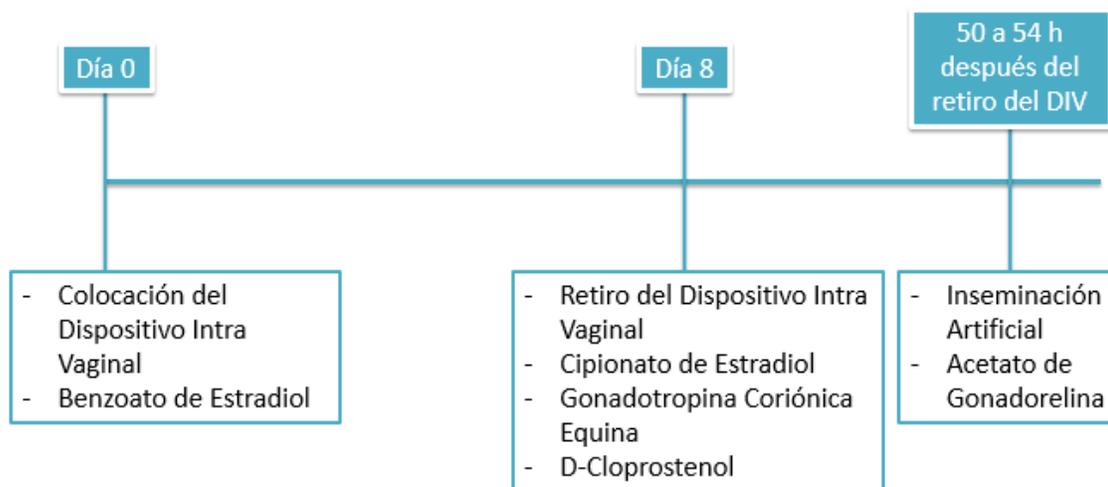


Figura 4. Representación gráfica del programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo para las vacas del Grupo 1 (n=49) en el Experimento I.

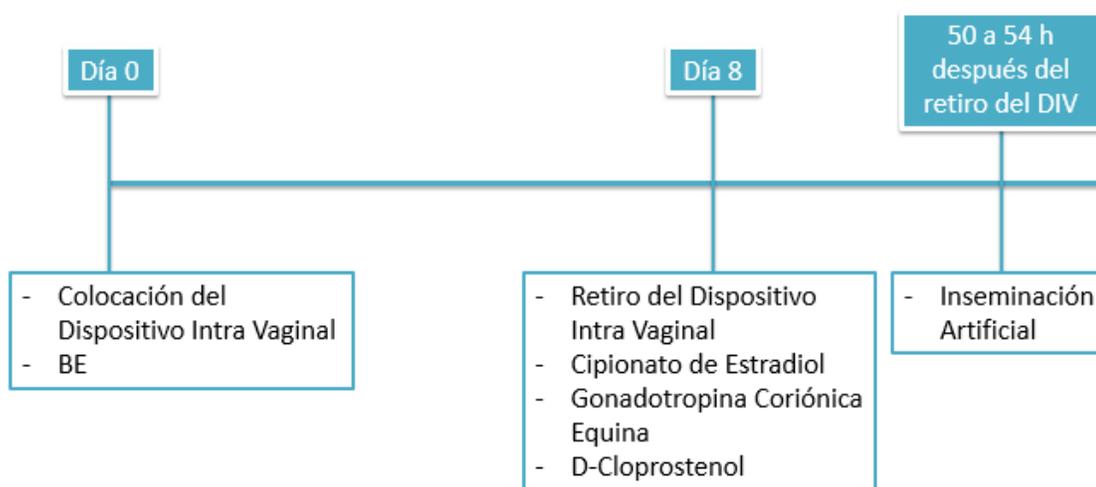


Figura 5. Representación gráfica del programa de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo para las vacas del Grupo 2 (n=69) en el Experimento I.

Para continuar con el programa reproductivo, después de la IATF, se esperó la repetición de celos de las vacas inseminadas, por lo que pasados 18 días del primer día de la IATF, como

apoyo a la detección de estros, se marcaron a las vacas con una pintura especial en la base de la cola (Tell Tail Aerosol®); el fundamento de esta actividad es que las vacas que entran en estro presentan diversos signos, entre ellos, el más relevante es que muestren una actitud receptiva a la monta por parte de otro miembro del hato. Al realizarse la monta repetidas ocasiones, la pintura aplicada se borra debido a la fricción. Al encontrarse una marca de pintura borrada se da por hecho que esta vaca se mostró receptiva a la monta.

Entre los días 18 a 23 posteriores a la IATF las vacas fueron revisadas 3 veces al día (6:00, 12:00 y 18:00) para detectar el momento en el que estuvieron receptivas (que aceptaran la monta de otras vacas o de las crías de estas). La detección de estros se realizó reuniendo todo el hato durante una hora en un lugar específico de la pradera. Una vez observada la actividad de las vacas en estro, se llevaron al corral en donde se inseminaron 12 horas después de ser detectadas en celo. Repitieron celo 38 vacas, de las cuales fueron inseminadas 18 vacas. Se utilizó semen de 2 toros: Red 6 Mile Full Throttle 171T (Angus Rojo, AR) y de Kesslers Front Range 7520 (Angus Negro, AN); estos sementales fueron seleccionados buscando rasgos productivos similares a los toros utilizados anteriormente. Una persona con amplia experiencia en IA llevó a cabo las inseminaciones de cada uno de los grupos experimentales. Las 20 vacas restantes formaron parte del Experimento II.

El diagnóstico de gestación para el experimento I se realizó 90 días después de la IATF y 67 días después de la última IA a celo detectado (repeticiones de celo), para determinar el porcentaje de gestación que se obtuvo en cada uno de los trabajos que se realizaron (IATF e IA a celo detectado en las repeticiones).

6.2. Experimento II

Comparación de porcentajes de gestación entre embriones *Bos taurus* producidos *in vivo* congelados en Etilén Glicol y embriones *Bos indicus* mantenidos frescos producidos *in vitro* haciendo uso de un estro pre sincronizado.

De las 38 vacas a las que se les aplicó IATF y repitieron celo en el Experimento I, se seleccionó un grupo de 20 que repitieron celo los días 21 y 22 después de la IATF. Estas vacas mostraron un celo natural, posterior a la IATF. Una vez observada la actividad de las

vacas en estro, se llevaron a un potrero diferente, donde se mantuvieron separadas hasta la realización de la TE siete días después. Las vacas se separaron en dos grupos: las que presentaron celo 21 y 22 días después de la IATF.

El primer día de la TE (día 28 después de la IATF), se utilizó el Grupo 1 (n=11), para transferir embriones *Bos taurus* congelados en EG producidos *in vivo*.

Una vez que la vaca entró a la manga se realizó la palpación y/o ultrasonografía con el equipo citado anteriormente, para determinar si en ese momento (7 días después de que fueron detectadas en celo) presentaban un CL, si este se encontraba presente y con un diámetro mayor a 2 cm, se procedió desinfectar con alcohol la zona de la articulación caudosacra para después realizar el bloqueo epidural con Lidocaína al 2% (Lidocaine Hydrochloride Injectable-2%®, Phoenix Pharmaceutical A.C.; 4 ml) y posteriormente se limpió la zona perivulvar.

La descongelación de las pajillas conteniendo los embriones congelados en EG para Transferencia Directa (TD) se realizó por 5 segundos al aire, a temperatura ambiente, y después 20 segundos en baño maría a 24°C. Al momento de la TE cada pajilla fue colocada en la pistola aplicadora para embriones (de Cassou), colocando sobre la misma una funda para transferencia (azul) y sobre esta una camisa sanitaria de plástico (chemisse). Posteriormente, se procedió a realizar la transferencia no quirúrgica en el cuerno ipsolateral al lado del CL en cada vaca receptora. Se transfirieron 11 embriones congelados, de raza europea (*Bos taurus*), uno en cada receptora.

El segundo día de la TE (día 29 después de la IATF) se utilizó el Grupo 2 (n=9), para transferir embriones *Bos indicus* frescos PIV. La preparación de las vacas receptoras se llevó a cabo de la misma manera en que se hizo con las vacas a las que se les transfirieron los embriones congelados. La preparación del embrión para la transferencia se realizó de la siguiente manera: los embriones fueron conservados y transportados del laboratorio al rancho en un periodo de 4 horas, en una incubadora a 37.5°C. Al momento de la TE la colocación de cada pajilla en la pistola aplicadora y la TE a cada receptora se llevó a cabo de la misma manera descrita para los embriones congelados.

Los embriones de ambos tipos fueron transferidos por dos especialistas con amplia experiencia en TE.

El diagnóstico de gestación para el experimento II se realizó 60 días después de la TE con un celo pre sincronizado. Todos los diagnósticos de gestación se realizaron mediante palpación rectal y en caso de duda se confirmaron por medio de ultrasonografía con el equipo citado anteriormente.

6.3. Experimento III

Evaluación del porcentaje de gestación en un programa de sincronización de estros utilizando CS con IA a celo detectado.

Este experimento se llevó a cabo del mes de enero a abril de 2016 abarcando las estaciones de invierno y primavera, desde la sincronización con CS hasta el diagnóstico de gestación.

Se utilizaron vacas comerciales de cruce cebuína, pluríparas, lactando, de aptitud cárnica, con CC 2.5 ± 0.75 en una escala del 1 al 5 (Frasinelli *et al.*, 2004) que a la palpación o a la ultrasonografía según el caso presentaron un CL. Las vacas se localizaron en el Rancho El Herradero ubicado en la carretera Villahermosa-Escárcega, en el municipio de Carmen, Campeche, con coordenadas 18°14' Norte, 91°26' oeste y clima Aw2 (cálido húmedo con lluvias en verano) de acuerdo a la escala de Köppen (García, 2004). Las vacas fueron alimentadas con pastos de la zona, entre los que destaca el Humidícola (*Brachiaria humidicola*), fueron suplementadas con pollinaza y se les ofrecieron minerales en presentaciones comerciales.

Se realizó palpación rectal y ultrasonografía con el equipo citado anteriormente a un lote de 140 vacas para seleccionar las vacas que en ese momento se les detectó un CL, para ser sincronizadas con 500 µg de CS (Sincroplex, ACP®; 2 ml). De las 140 vacas palpadas, se sincronizaron 74, las demás no fueron utilizadas debido a que en ese momento no presentaban CL (36 vacas) o se encontraban gestantes (30 vacas).

A las 74 vacas que fueron seleccionadas para ser sincronizadas se les aplicó la pintura en aerosol en la base de la cola, para ayudar a la detección de estros.

A partir de las 50 horas de aplicada la inyección del CS, se revisaron celos juntando las vacas en un lugar específico de la pradera durante una hora, tres veces al día (6:00, 12:00, y 18:00), entre el día 2 y 5, tomando como día 0 el que se realizó la sincronización (Figura 6); cuando una vaca era detectada en celo se llevaba al corral, donde se inseminaría 12 horas después con semen de cualquiera de los siguientes toros: E3 Pathfinder 333 (BR), Wrinkles Manso III 207/6 (BR), Aggie EMP 912 (BR), Mr. V8 434/5 (BR), Red 6 Mile Full Throttle 171T (AR), de Kesslers Front Range 7520 (AN) y One Penny Blanco Flash 6424 (CH). La preparación de las pajillas de inseminación se realizó de la misma manera que se describió en el Experimento I. Entre los toros utilizados no había diferencias estadísticas significativas en cuanto a porcentaje de fertilidad. Una persona capacitada con experiencia fue responsable de la detección de celos y de la IA.

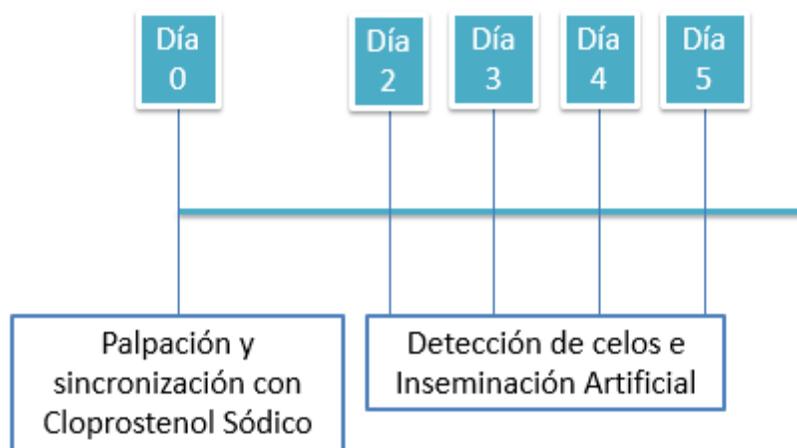


Figura 6. Programa de sincronización de celos realizado en el Experimento III.

De acuerdo al ciclo estral de los bovinos, se esperó la repetición de celos y se colocó pintura para ayudar a detectar estos 19 días después del primer día de IA, ese mismo día inició dicha actividad, terminando el día 23 posterior al último día de IA. La detección de celos se realizó de la misma manera que se describió anteriormente, así como la IA la cual se realizó con semen de los toros ya mencionados. Repitieron celo y se inseminaron 16 vacas.

Después de los 14 días de la sincronización, se resincronizaron 30 vacas que no presentaron celo posterior a la primera aplicación de CS.

A partir de las 50 horas posteriores a la sincronización se realizó la detección de estros de la misma forma que se mencionó anteriormente. Una vez detectado el celo se realizó la IA de cada vaca con semen de los mismos toros usados anteriormente, a las 12 horas de haber sido detectada en estro.

El diagnóstico de gestación para el experimento III se realizó 90 días después de la primera IA y 67 días después de la última IA, para determinar el porcentaje de gestación que se obtuvo en este experimento. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal y en caso de duda se confirmó por medio de ultrasonografía con el equipo citado anteriormente.

6.4. Análisis estadístico

En los Experimentos I y II los porcentajes de gestación fueron evaluados con una prueba estadística “t” para proporciones. Utilizando las siguientes fórmulas

$$\bar{x} = np$$

$$s = \sqrt{npq}$$

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{S_p^2}{n_1} + \frac{S_p^2}{n_2}}}$$

Donde:

$$x = \text{media}$$

$$n = \text{muestra}$$

$$p = \text{porcentaje}$$

$$q = 1 - p$$

$$S = \text{desviación estándar}$$

$$t = \text{valor "t" para proporciones}$$

En el Experimento III se utilizó estadística descriptiva debido a que no fue posible contar con un grupo control. Las fórmulas utilizadas en este experimento fueron:

$$\bar{x} = np$$

$$s = \sqrt{npq}$$

$$\bar{x} + Z_{\alpha/2} \cdot S/\sqrt{n} > \mu > \bar{x} - Z_{\alpha/2} \cdot S/\sqrt{n}$$

Donde

x = *media*

n = *muestra*

p = *porcentaje*

q = $1 - p$

S = *desviación estándar*

$Z_{\alpha/2}$ = *intervalo de confianza*

S/\sqrt{n} = *error estándar*

μ = *cualquier valor entre los intervalos de confianza*

7. Resultados

7.1. Experimento I

Comparación de porcentajes de gestación en un programa de IATF, utilizando BE, DIV impregnado con P4, CE, D-Cloprostenol, eCG, con y sin la adición de AG.

Se sincronizaron e inseminaron 118 vacas, de las cuales 49 (41.53%) pertenecieron al Grupo 1 (Con AG) y 69 (58.47%) al Grupo 2 (Sin AG).

Los porcentajes de gestación de los dos grupos (con y sin AG) del Experimento I son representados en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Número y porcentaje de gestación de la Inseminación Artificial a Tiempo Fijo por grupos; Grupo 1 (Con Acetato de Gonadorelina) y Grupo 2 (Sin Acetato de Gonadorelina).

Grupo	Gestantes/Total	Porcentaje de gestación
1	19/49	38.77% ^a
2	26/69	37.68% ^a
Total	45/118	38.13%

^aLetras iguales en los porcentajes de gestación denotan que no hay diferencias significativas ($P > 0.05$).

De las vacas inseminadas repitieron celo 38; 16 de estas pertenecían al Grupo 1 y 22 al Grupo 2.

De las 38 vacas que repitieron celo, 18 recibieron un segundo servicio (7 del Grupo 1 y 11 del Grupo 2), quedando gestantes el 42.86% (3/7) de las vacas del Grupo 1 y 45.45% (5/11) de las vacas del Grupo 2. En la repetición de celos se logró el 44.44% de vacas gestantes (8/18), obteniendo finalmente un porcentaje acumulado de gestación de 44.91% (53/118). Las 20 vacas que no recibieron el segundo servicio formaron parte del Experimento II.

No existieron diferencias estadísticas significativas entre los toros utilizados, en cuanto a su porcentaje de fertilidad.

7.2. Experimento II

Comparación de porcentajes de gestación entre embriones *Bos taurus* producidos *in vivo* congelados en Etilén Glicol y embriones *Bos indicus* mantenidos frescos producidos *in vitro* haciendo uso de un estro pre sincronizado.

En el Cuadro 3 se muestran los resultados de gestaciones obtenidas de acuerdo a los diferentes tipos de embriones transferidos en este experimento.

Cuadro 3. Número y porcentaje de gestación de acuerdo al tipo de embrión transferido; Grupo 1 (Embriones *Bos taurus* congelados en Etilén Glicol producidos *in vivo*) y Grupo 2 (Embriones *Bos indicus* mantenidos frescos producidos *in vitro*).

Tipo de embrión transferido	Gestantes/ Total	Porcentaje
Grupo 1	6/11	54.55% ^a
Grupo 2	5/9	55.56% ^a
Total	11/20	55%

^aLetras iguales en los porcentajes de gestación denotan que no hay diferencias significativas ($P>0.05$).

7.3. Experimento III

Evaluación del porcentaje de gestación en un programa de sincronización de estros utilizando CS con IA a celo detectado.

Los resultados obtenidos en este experimento en cuanto a los porcentajes de presentación de celo post sincronización y de gestación se muestran en el Cuadro 4. Además se establecieron los intervalos de confianza para cada uno de los resultados.

Cuadro 4. Respuesta a la sincronización y gestaciones obtenidas en el Experimento III.

Vacas que presentaron celo	Proporción de vacas que presentaron celo	Porcentaje	Intervalo de confianza con nivel 0.05		Proporción de vacas gestantes	Porcentaje	Intervalo de confianza con nivel 0.05	
			Max	Mín			Max	Mín
Entre 2 y 5 días post sincronización	44/74	59.46%	70.65 %	48.27 %	21/44 ¹	47.73%	62.49 %	32.97 %
19 a 23 días post IA	16/44 ¹	36.36%	50.15 %	22.15 %	6/16	37.50%	61.22 %	13.78 %
Celo resincronizado 14 días post sincronización	8/30 ²	26.67%	42.49 %	10.85 %	5/8	62.50%	28.96 %	96.08 %
Gestaciones obtenidas durante el Experimento III								
Acumulado	Vacas gestantes		Porcentaje			Intervalo de confianza con nivel 0.05		
	32/52		61.54%			Max	Mín	
						74.75%	48.33%	

¹No todas las vacas que presentaron celo y que no quedaron gestantes en la primera sincronización repitieron el celo entre los días 18 y 23 posteriores al primer servicio.

²Las 30 vacas que se resincronizaron fueron las vacas que no entraron en celo entre los días 2 y 5 post sincronización.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas en porcentaje de fertilidad entre los diferentes toros utilizados.

8. Análisis de resultados y discusión

8.1. Experimento I

Comparación de porcentajes de gestación en un programa de IATF, utilizando BE, DIV impregnado con P4, CE, D-Cloprostenol, eCG, con y sin la adición de AG.

En este experimento, el Grupo 1 obtuvo un porcentaje de gestación de 38.77% (19/49) mientras que el Grupo 2 resultó con un porcentaje de gestación de 37.68% (26/69); no encontrándose diferencias significativa en el porcentaje de gestación entre los Grupos 1 y 2 (Cuadro 2), por lo que la aplicación AG al momento de la IA en este programa de IATF con eCG al retiro del DIV en las condiciones anteriormente citadas, no mejoró el porcentaje de gestación en ganado cruzado con Cebú el cual tenía cría al pie.

En la IATF con los dos grupos experimentales, se obtuvo un porcentaje de gestación de 38.13%.

En los resultados de Martínez (2009) obtenidos en Colombia, en vacas F1 Shaver x Cebú con cría al pie, se obtuvo un porcentaje de gestación de 42.1% en un programa de IATF en el que se utilizó un DIV y eCG lo cual es ligeramente más alto que presente estudio. Sin embargo, el trabajo citado fue realizado en temporada de lluvias, en contraste con el trabajo realizado en la presente tesis, la cual se realizó en otoño, que corresponde al fin de la temporada de lluvias, época del año que en el trópico húmedo mexicano se considera como de empadre, donde la disponibilidad de forraje es alta y de buena calidad, lo que influye favorablemente en los parámetros reproductivos. En similitud del presente trabajo, Martínez utilizó el agente luteolítico y eCG en el momento del retiro del DIV. Ambos grupos de vacas eran encastadas con Cebú y tenían cría al pie. En el caso de la aplicación del Estrógeno, en el testudio realizado por Martínez se utilizó BE 24 horas después del retiro del DIV, mientras que en el presente se utilizó CE el día del retiro del DIV. En el trabajo citado, se utilizó Dinoprost como agente luteolítico mientras que en la presente tesis se aplicó D-Cloprostenol. En el trabajo de Martínez se realizó destete temporal desde el momento del retiro del DIV hasta el día de la IA, mientras que en el presente trabajo no se realizó tal manejo.

Sá Filho *et al.*, (2010) compararon la eficiencia en un arreglo factorial 2 x 2 en el que utilizaron programas con o sin Gonadorelina y con o sin eCG utilizando vacas lactando raza

Nelore en Brasil. Los resultados no presentaron variación en los porcentajes de gestación en lo que respecta a los tratamientos con eCG con las variantes en la inyección de Gonadorelina (46.2%) o la ausencia de esta (46.2%), lo que indica que no existieron efectos aditivos entre los dos hormonales, caso similar que se observó en el presente estudio, donde la adición de AG no aumentó el porcentaje de gestación en un programa de IATF, en el cual se aplicó eCG en el momento del retiro del DIV. Los resultados obtenidos por Sá Filho son similares en cuanto a porcentaje de gestación a los obtenidos en el presente trabajo. En el estudio realizado en Brasil, la primera fuente de E₂ fue en forma de VE, y la fuente del progestágeno en forma de implante auricular con 3 mg de Norgestomet. Mientras que en el presente trabajo la primera fuente de E₂ fue BE y la fuente de P₄ fue un DIV de 750 mg de P₄. Tanto en este trabajo como en el trabajo citado, se utilizaron vacas con cría al pie.

Maraña (2016) no obtuvo diferencia significativa en los porcentajes de gestación entre dos grupos de IATF, con destete temporal (37.2%) o con una inyección de eCG en el momento del retiro del DIV (40.8%). Los resultados de Maraña son similares a los obtenidos en el estudio actual (38.13%). El trabajo citado fue realizado en Argentina utilizando vacas de aptitud cárnica, cruza de Cebú, con cría al pie. En el trabajo de Maraña, en comparación con este, el número total de vacas para el experimento fue superior (765 en comparación con 118 vacas) al que se utilizó en este estudio y estos datos fueron tomados durante dos años, mientras que las vacas de la presente tesis fueron sincronizadas e inseminadas en un solo programa. En el trabajo citado se utilizó BE 24 horas después del retiro del DIV, mientras que en el presente trabajo se usó CE en el momento al retirar el dispositivo, tomando en cuenta que el tiempo de vida media en el organismo es más prolongado en el CE y que en el BE.

En Veracruz, Ramírez (2013) evaluó el rango de gestación en vacas cruzadas y Simmental (SM) de cuatro programas de IATF en un experimento 2 x 2, teniendo como variables independientes la adición o no de una inyección de eCG y si los DIVs eran de primer o más usos. En el caso de la aplicación de eCG se obtuvo un porcentaje de gestación de 41% comparado con el programa sin eCG en el que se encontró un porcentaje de gestación de 40%, teniendo resultados similares a los obtenidos en este trabajo en el caso del protocolo con eCG. Se debe tomar en cuenta que en la presente tesis se ocuparon DIV nuevos, los

cuales contenían P₄ para ser usados una sola ocasión, mientras que en el trabajo de Ramírez se colocaron DIV tanto nuevos como de más usos.

Sá Filho *et al.*, (2009) demostraron que una dosis de 400 UI de eCG el día del retiro del DIV, tenía porcentajes de gestación de hasta 54.3% en un programa de IATF, que resultaban similares estadísticamente a realizar un destete temporal a partir del momento del retiro del DIV (51.5%). El experimento fue realizado en vacas Nelore (Cebú) con cría al pie, en Brasil. En dicho trabajo, la aplicación del agente luteolítico fue el día 7 y el retiro del DIV fue el día 9, mismo día en el que se realizó una inyección de 5 mg de CE y 400 UI de eCG mientras que en el presente trabajo la aplicación de la PGF_{2α}, de la eCG y del CE fue en el momento del retiro del DIV (día 8). Cabe señalar que Sá Filho y sus colaboradores utilizaron vacas de raza Nelore, que por ser ganado puro generalmente ha pasado por filtros de selección, mientras que en el caso de la presente tesis, las vacas eran de tipo comercial con encaste de Cebú, sin ninguna selección previa, por lo que se observa un menor porcentaje de gestación en el estudio actual comparado con los resultados citados.

Romano *et al.*, (2015) reportaron resultados de gestación con un programa de IATF en vacas pluríparas Nelore y Nelore x SM, de 57.69% sin la aplicación de GnRH y 58.33% con GnRH. El porcentaje de gestación fue superior en el trabajo citado en comparación con los resultados obtenidos en el estudio actual, pero tanto éste como en el realizado por Romano y sus colaboradores, se encontraron resultados similares entre los grupos con y sin GnRH. Romano y sus colaboradores utilizaron BE en lugar de CE y la aplicación de eCG fue 24 horas después del retiro del DIV. En el trabajo de Romano la IATF fue realizada en temporada que califican “de empadre”, en Brasil, mientras que en el presente estudio fue realizado a inicios de otoño, una vez concluida la temporada de lluvias, la cual en el trópico húmedo mexicano es considerada también como temporada de empadre. Romano trabajó con 387 vacas pluríparas con cría al pie y con 273 vaquillas; en contraste, en la presente tesis se usaron solo vacas pluríparas con cría al pie, lo que hace una gran diferencia en el resultado.

En lo que respecta a la comparación del uso de BE o CE para inducir la ovulación en la IATF, Peralta *et al.*, (2010), Uslenghi *et al.*, (2010) y Butler *et al.*, (2011) no encontraron diferencias significativas en cuanto a porcentajes de gestación entre el uso de cualquiera de las dos sales al ser aplicadas en un programa de IATF con uso de un DIV, siempre y cuando la aplicación

sea el día del retiro del DIV en el caso del CE y 24 horas después del retiro del DIV en el caso del BE, lo que significa un día más de manejo en los programas de IATF en los que se utiliza BE.

De acuerdo a Robson *et al.*, (2007), las vacas de razas cebuínas se encuentran en un nivel intermedio con respecto al efecto inhibitorio del amamantamiento, este es uno de los factores que tiene más influencia en el anestro posparto en bovinos de estas razas. Otro de los factores está relacionado con la nutrición; si la ingesta de nutrientes es inadecuada y las reservas corporales son escasas, el número de días entre el parto y el primer estro se incrementa y es la causa principal por el cual las vacas fallan en concebir durante la temporada de servicio. Mencionan también que la disminución en la ingesta de nutrientes en el preparto, reflejada en una pobre CC al momento del parto, prolonga el periodo de anestro. Esto fue un factor que influyó en los resultados obtenidos en este trabajo, ya que las vacas que se usaron tenían cría al pie, además de que la calidad energética de la pastura en el terreno no era buena.

En el presente trabajo, con IATF en total se obtuvo un porcentaje de gestación de 38.13%, el cual se puede considerar regular de acuerdo a la zona geográfica, al clima y al tipo de ganado en comparación con lo reportado por Martínez (2009), Sá Filho *et al.*, (2009 y 2010), Maraña (2016), Ramírez (2013) y Romano *et al.*, (2015).

Este programa de IATF en ganado comercial resultó una herramienta de gran utilidad para los propietarios del ganado, ya que les aporta un mejoramiento genético debido a que se utilizó semen de animales seleccionados de raza pura de aptitud cárnica. Además, se disminuyó la inversión de tiempo, con respecto a la IA a celo detectado. Por otro lado, esta biotecnología puede representar una buena opción para reiniciar la ciclicidad en vacas que presentan anestro posparto junto con una mejora en la alimentación.

De Rensis y López-Gatius (2014) mencionan que en ganado lechero sometido a programas de sincronización en los cuales se utiliza eCG, es posible que se obtenga hasta un 2% de gestaciones gemelares.

Para darle continuidad al programa reproductivo dentro del hato, se esperaron celos entre los días 19 a 23 posteriores a la IATF, en total repitieron celo 38 vacas. De éstas, se inseminaron

18 vacas de las cuales 8 resultaron gestantes (44.44%). Las 20 vacas restantes pasaron a formar parte del Experimento II.

En el porcentaje acumulado de este programa de IA se obtuvo el 44.91% (53/118) desglosándose de la siguiente manera; 45 gestaciones provenientes de la IATF en ambos grupos y 8 provenientes de la repetición de celo en la que se aplicó IA a celo detectado. Los resultados indican un mejor porcentaje de fertilidad al segundo celo sincronizado.

Cutaia *et al.*, (2002) encontraron un porcentaje de gestación en la segunda inseminación posterior a una IATF de 50% para el grupo control y de 56.1% para el grupo que fue resincronizado con un DIV, no encontrando diferencia en el porcentaje de gestación entre los dos grupos en su estudio, pero con la ventaja que en el grupo resincronizado los celos se concentraron en un número más concentrado de días. En el estudio citado, la resincronización de celos con el DIV (43.9%) no causó disminución en el porcentaje de gestación de la primera IA en comparación con el grupo control (38.3%).

Cuando se cruzan individuos de dos razas diferentes, al producto se le conoce como Filial 1 (F1) y este presenta características superiores a las dos razas originales. A esta particularidad se le llama vigor híbrido y se utiliza para favorecer el mejoramiento genético de un hato de ganado comercial creando cruza terminales para su posterior venta a la engorda y al abasto (Do Nascimento *et al.*, 2013).

Desde el conocimiento de las pruebas genómicas y la aplicación de los EPD de los sementales de los cuales se ofrece semen comercialmente, existe mayor información de las características productivas de cada raza. Existen asociaciones de razas de ganado, las cuales son pioneras en materia de aplicación de la genómica a sus sementales, como lo es el caso de la American Angus Association, la cual tiene 6 años desde que introdujeron las pruebas genómicas a las evaluaciones de sus toros registrados. Actualmente, además de evaluarse rasgos de la vida productiva y calidad de la carne de la progenie de cada toro, se evalúa también la capacidad reproductiva, eficiencia alimenticia, resistencia a enfermedades y problemas metabólicos de la progenie (Angus Genetics Inc, 2016).

8.2. Experimento II

Comparación de porcentajes de gestación entre embriones *Bos taurus* producidos *in vivo* congelados en Etilén Glicol y embriones *Bos indicus* mantenidos frescos producidos *in vitro* haciendo uso de un estro pre sincronizado.

Para el caso de los embriones congelados producidos *in vivo*, el porcentaje de gestación fue de 54.55% (6/11). De los embriones transferidos en fresco PIV se obtuvo un porcentaje de gestación de 55.56% (5/9) (Cuadro 3). Obteniéndose un porcentaje de gestación total de 55%.

Es interesante observar que no se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de gestación en un programa de TE con una sincronización de celos previa, al transferir embriones congelados en EG para TD y embriones PIV, en las condiciones de este trabajo. Los porcentajes de gestación obtenidos se encuentran dentro de los rangos superiores reportados en México, especialmente tomando en cuenta la zona geográfica, el clima y el tipo de ganado en los que se realizó este trabajo.

Wright (1981) comparó los resultados de TE realizadas después de un celo sincronizado con $\text{PGF}_{2\alpha}$ o de un calor natural, obteniendo 59% (1054/1784) de gestación en celos sincronizados con prostaglandinas, mientras que en celos naturales obtuvo un porcentaje de gestación de 58% (387/661), sin encontrar diferencias significativas. Estos resultados son similares a lo encontrado en el estudio actual.

La transferencia de embriones producidos *in vivo* o *in vitro* es una biotecnología que tiene porcentajes de gestación que han mejorado al paso del tiempo y avanza el conocimiento (Wu y Zan, 2012).

No se encontraron referencias recientes en la literatura sobre resultados comparativos en el uso de celos naturales o sincronizados para realizar programas de TE. No obstante, es bien sabido que la detección de celos de manera correcta y la identificación de la hora en la cual la vaca presentó celo, son factores altamente importantes para realizar este tipo de práctica. Por lo anterior, en este trabajo, el hecho de aprovechar la repetición de celos de un trabajo previo de IATF resulta ser una opción viable para realizar TE, ya que no es necesario invertir en más gastos de sincronización de celo, debido a que las vacas repetidoras de calores de IA

pueden ser utilizadas unos días después como vacas receptoras de embriones, lo que constituye una herramienta alternativa.

Si se cuenta con una persona capacitada que sea responsable de la detección de celos, se mejora la eficiencia de esta actividad. De no contarse con personal capacitado, se corre el riesgo de tener bajos porcentajes de vacas detectadas en estro, y por lo tanto, de vacas gestantes.

A pesar de que el número de vacas receptoras de embriones transferidos en este programa fue muy reducido, cabe señalar que un programa de TE usando la repetición de celos posterior a una IATF es una posibilidad que vale la pena estudiar con mayor detalle. Lo anterior permite realizar programas de TE con embriones congelados en EG producidos *in vivo* y con embriones frescos PIV, se disminuyen costos de sincronización y puede resultar en buenos porcentajes de gestación al utilizarse en vacas comerciales con encaste de Cebú y cría al pie, en el trópico húmedo.

8.3. Experimento III

Evaluación del porcentaje de gestación en un programa de sincronización de estros utilizando CS con IA a celo detectado.

En este experimento se obtuvo un porcentaje de gestación total de 61.54% (32/52) con intervalos de confianza $\pm 13.21\%$, ya sea con uno (26/52, 50%) o con dos servicios (6/16, 37.50%). (Cuadro 4), lo cual indica que los próximos trabajos en ese rancho, con ese tipo de vacas deben tener resultados dentro de estos rangos o inclusive mejores.

Desglosando los datos, en la primera sincronización e IA, se obtuvo un porcentaje de gestación de 47.73% (21/44) $\pm 14.76\%$; en la segunda IA, proveniente de la repetición de celos de la primera sincronización, el porcentaje de gestación fue de 37.50% (6/16) $\pm 23.72\%$, teniendo un porcentaje total con los dos servicios de 61.36% (27/44).

Las 30 vacas que no entraron en celo tras la primera aplicación de CS fueron sincronizadas con prostaglandinas nuevamente (14 días después de la primera sincronización), solo entraron en calor 8, las cuales fueron inseminadas una sola vez y se obtuvo el 62.5% de

vacas gestantes (5/8) $\pm 33.56\%$. Las vacas que no respondieron a la sincronización fueron enviadas a monta directa.

Por lo que se puede observar que el porcentaje de gestación es bueno con respecto a la temporada en que fue realizado el trabajo (entre invierno y primavera).

En el estado de Veracruz, Landívar *et al.*, (1984) reportaron un porcentaje de gestación de 19.7% en vacas tanto con toro como sin éste, pero con la aplicación de IA en las últimas; los resultados del estudio actual con respecto al trabajo citado son superiores. En el estudio de Landívar se utilizaron 131 vacas lactando o sin cría, mientras que en este se utilizaron 74 vacas lactando. Además el experimento se realizó en clima tipo A de acuerdo a la clasificación de Köppen, mientras que las condiciones del presente trabajo fueron en clima tipo Aw2.

Orihuela *et al.*, (1989) en el estado de Veracruz, obtuvieron un porcentaje de gestaciones por IA en el primer estro de 26% y en el segundo estro de 38%, siendo resultados similares a lo obtenido en el presente estudio. El trabajo citado se llevó a cabo en vacas Cebú, en el estado de Veracruz de junio a agosto, en temporada de lluvias, mientras que en el presente estudio se realizó entre invierno y primavera. Los autores mencionan que la observación de celos se llevó a cabo de 6:00 a 12:00 y de 15:00 a las 19:00 horas, mientras que las observaciones en el presente trabajo fueron de 6:00 a 7:00, de 12:00 a 13:00 y de 18:00 a 19:00.

Baca *et al.*, (1997), en el trópico seco de Costa Rica, utilizaron un hato de vacas adultas de 5 o más años de edad, cruces de BR con SM, Hereford y Angus, encontraron un porcentaje de gestación de 87% en la IA de vacas con un celo sincronizado con PGF_{2 α} y la repetición de celo, lo cual es mayor en comparación con el presente estudio. Se usaron vacas de 60 a 180 días de paridas con cría al pie, condición similar a la del presente trabajo.

En el presente estudio, en el caso de las vacas de la primera sincronización con CS se obtuvo un 59.46% (44/74) de presentación de celos, con intervalos de confianza $\pm 11.19\%$. Para las vacas que no presentaron celo post sincronización, que fueron resincronizadas 14 días después, se obtuvo un porcentaje de presentación de celos de 26.67% (8/30), con intervalos de confianza $\pm 15.82\%$.

Respecto a trabajos realizados en condiciones similares, en el trabajo de Orihuela *et al.*, (1989) obtuvieron un porcentaje de detección de estros de 54%; Orihuela *et al.*, (1983), encontraron en celo 56% de las vacas sincronizadas con PGF_{2α} sin presencia de toro celador, y el 62% de vacas en las mismas condiciones, pero con la presencia de toro; Landívar *et al.*, (1984) reportaron presentación de celos posterior a la aplicación de PGF_{2α} en el 46.38% de las vacas sin presencia de toro, a diferencia de las vacas que se encontraban en presencia de éste, las cuales presentaron una respuesta de 54.84%; Baca *et al.*, (1997), encontraron que el 61% de las vacas sincronizadas con PGF_{2α} fueron detectadas en celo entre las 72 y 168 horas post tratamiento, los resultados anteriormente citados son similares a los del presente estudio.

Pinheiro *et al.*, (1997), encontraron 46.4% en la presentación de celos, como respuesta a la administración de PGF_{2α} en presencia de un CL, en Brasil, obteniéndose un porcentaje de detección de celos menor a los del estudio actual. El trabajo citado se realizó en verano y otoño mientras que el presente estudio fue realizado entre invierno y primavera, tomando en cuenta que los resultados varían entre épocas del año.

Los resultados obtenidos en cuanto a presentación de celo post sincronización se encuentran en el rango inferior de lo reportado por Hernández (2012) (45-70%), aunque cabe destacar que el autor documentó estos resultados en vacas pluríparas productoras de leche en condiciones de clima templado.

En el presente estudio, de las 44 vacas que presentaron celo y fueron inseminadas posterior a la sincronización con CS, el 36.36% repitieron celo (16/44) con intervalos de confianza $\pm 22.15\%$. En lo que respecta a la segunda sincronización, de las 30 vacas que no mostraron celo tras la primera sincronización, solo entraron en calor 8 (26.67%), teniendo una respuesta mucho menor que en el caso de la primera sincronización, por lo que se decidió realizar una palpación en el último día en el que se esperaban celos de esa sincronización, encontrando que en el 86.67% de las vacas palpadas se encontraba un folículo pequeño y en el 13.33% restante se encontraba un CL. Esto indica que en la mayoría de las vacas resincronizadas el CS lisó el CL que estaba presente, pero no se presentó el celo, lo que significa que un gran porcentaje de estas vacas a pesar de que respondieron a la aplicación de CS, no mostraron celo. Esto pudo haberse debido a que las vacas presentaban deficiencias nutricionales, especialmente de energía.

En el invierno de esta zona geográfica los forrajes no son de buena calidad en cuanto a energía se refiere, por lo que este factor nutricional pudo haber influido en que el porcentaje de presentación de celos como respuesta al CS no fuera alto. Perry *et al.*, (1991) en Estados Unidos evaluaron el efecto de la nutrición pre y posparto en vacas Hereford x Angus de 4 años de edad en un experimento con alimentación baja (70%) o alta (150%) en contenido energético antes y/o después del parto. Los resultados en el caso de la ovulación fueron los siguientes: las vacas que recibieron niveles más bajos de energía preparto tuvieron tiempos entre el parto y primera ovulación más largos, lo cual indica que el intervalo entre el parto y la primera ovulación está altamente relacionada con el aporte energético de la dieta desde los últimos meses de la gestación. Estas vacas eran de razas europeas, mientras que en la presente tesis las vacas tienen encaste con Cebú. La actividad de las vacas Cebú en esta época del año suele disminuir debido a que la disponibilidad y la calidad del forraje son bajas, por lo que a pesar de las condiciones citadas.

Por otro lado, de acuerdo a Robson *et al.*, (2007), el efecto inhibitorio del amamantamiento es uno de los factores que tiene más influencia en el anestro posparto en bovinos. Otro de los factores está relacionado con la nutrición; si la ingesta de nutrientes es inadecuada y las reservas corporales son escasas, el número de días entre el parto y el primer estro se incrementa y es la causa principal por la que las vacas fallan en concebir durante la temporada de servicio. Mencionan también que la disminución en la ingesta de nutrientes en el preparto, reflejada en una pobre CC al momento del parto, prolonga el periodo de anestro. Entre otros factores se encuentra la edad de la vaca, ya que las vacas primíparas poseen un intervalo posparto más prolongado que las pluríparas. Además de estos factores se encuentra la época de partos, ya que las vacas que paren en otoño-invierno tendrían un intervalo más largo entre el parto y el reinicio de la actividad reproductiva que aquellas paridas en primavera-verano. Estos factores posiblemente influyeron en el presente trabajo para que un gran porcentaje de las vacas sincronizadas no hayan presentado celo.

Se debe tomar en cuenta también que la fecha de este experimento abarcó los meses de enero a abril, fechas en las cuales los forrajes son deficientes en nutrientes debido a la menor temperatura ambiental. Esta época fue acompañada por una carencia de lluvias, lo que disminuyó la cantidad de forraje en los potreros.

La sincronización con $\text{PGF}_{2\alpha}$ en ganado de carne puede resultar más complicada que en ganado de leche debido a que éste último se encuentra más accesible en los momentos en que se realiza la detección de celos. La detección adecuada de celos fue crucial en este estudio para que la sincronización de celos con $\text{PGF}_{2\alpha}$ tuviera buenos resultados en porcentaje de gestación (61.54%). Aunque se debe tomar en cuenta que en la observación de calores se pueden presentar errores, independientemente de la experiencia que el personal tenga. Por lo tanto, el hecho de haber contado con una sola persona con experiencia en la detección de celos evitó la inclusión de una importante variable que se hubiera presentado en caso de que dicha detección la hubieran realizado diferentes personas o personal sin experiencia. Además, ir a detectar celos a los potreros donde se encuentra el ganado implica una inversión tanto en dinero como en tiempo que el personal puede utilizar en otras actividades del rancho.

Hacer uso de herramientas como la pintura para la detección de celos hizo más eficiente la observación e identificación de las vacas que se encontraban en estro.

La sincronización con $\text{PGF}_{2\alpha}$ en ganado de carne resulta una manera económica y efectiva de sincronizar estros si se tiene personal capacitado el cual invierta el tiempo necesario para realizar la detección de celos. En este caso el costo de cada dosis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ fue de \$17.00 pesos mexicanos (menos de un dólar americano).

La palpación y el uso de ultrasonografía son técnicas muy importantes para seleccionar las vacas que serán sometidas a la sincronización con CS, ya que si las vacas en ese momento no cuentan con un CL, el fármaco aplicado no tendrá sitio de acción y el efecto buscado no se dará. Por otro lado, si la vaca se encuentra gestante, la aplicación de CS provoca la regresión del CL de gestación generando la pérdida de esta.

Con el uso del semen de los toros utilizados se introdujeron genes de bajo peso al nacimiento, alto peso al destete y al año, rasgos relacionados con la facilidad de parto para evitar distocias, favoreciendo condiciones como precocidad y pesos que facilitan el nacimiento de las crías, rasgos que también están relacionados con un bajo gasto energético en condiciones de agostadero y con una buena conversión alimenticia al tener una dieta a base de pasto.

Todo esto fue posible al haberse utilizado en este proyecto toros de razas cárnicas con pruebas confiables, lo que le permitirá al ganadero tener un mayor progreso genético y una

comprobación de los resultados cuando evalúe el comportamiento de las crías. Esto en contraste con el uso tradicional de toros sin pruebas genéticas ni sanitarias, sin resultados de evaluaciones productivas ni de genes recesivos semiletales, letales o que depriman la producción, esto último sería el caso con individuos sin pruebas, que pueden tener números negativos y que en realidad son utilizados de manera tradicional.

9. Conclusiones

En el Experimento I, al comparar los porcentajes de gestación en un programa de IATF, utilizando BE, DIV con P₄, CE, D-Cloprostenol y eCG se obtuvo que la aplicación de AG en el momento de la inseminación dentro del programa de IATF no mejoró el porcentaje de gestación en este programa de IATF.

En el Experimento II, al comparar los porcentajes de gestación de un programa de sincronización y TE, puede concluirse que un programa previo de sincronización de celos e IATF permite realizar programas de TE con embriones producidos *in vivo* congelados en EG y con embriones frescos PIV, resultando en buenos porcentajes de gestación. Los resultados para ambos tipos de embriones no tuvieron diferencias entre sí.

En el Experimento III, después de evaluar el porcentaje de gestación obtenido en un programa de sincronización de estros utilizando CS con IA a celo detectado, puede concluirse que este tipo de programas son económicos con respecto al uso de fármacos y resultan en buenos porcentajes de gestación.

La conclusión general de este estudio es que se espera que las biotecnologías reproductivas como la IA a celo detectado, la IATF, la TE y el uso de ultrasonografía mejoren la eficiencia reproductiva, la genética de las crías, la productividad y se ve reflejado en la cosecha de becerros en los sistemas de producción comerciales en México. Las experiencias obtenidas de este estudio contribuyen a la aplicación de estas tecnologías de manera exitosa en las condiciones citadas.

10. Referencias

Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69: 72-80.

Adams GP, Singh J. 2015. Ovarian follicular and luteal dynamics in cattle. En: Hopper RM (ed). *Bovine Reproduction*. Iowa, USA: Ed. Wiley Blackwell, pp. 219-244.

Aerts MJM, Bols PEJ. 2010. Review article. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reproduction Domestic Animals*, 45: 180-187.

Albertini DF. 2015. The mammalian oocyte. En: Plant TM, Zeleznik AJ (eds). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 4th edition. USA: Ed. Elsevier, pp. 59-97.

Angus Genetics Inc (AGI) [actualización: 8 abr 2016]. Saint Joseph, MO, Estados Unidos de Norteamérica. <https://www.angus.org/AGI/GenomicCalibrationRelease.pdf> [consulta: 10 oct 2016].

Atuesta JE, Gonella DAM. 2011. Control hormonal del ciclo estral en bovino y ovino. *Spei Domus*. 7(14): 15-25.

Baca FJR, Pérez GE, Galina HCS. 1997. Comportamiento reproductivo de vacas *Bos Taurus* x *Bos indicus* bajo programas de inseminación artificial a estro sincronizado y natural en condiciones del trópico seco de Costa Rica. *Revista Veterinaria México* 29(1): 67-73.

Ball PJH, Peters AR. 2004a. The ovarian cycle. *Reproduction in Cattle*. 3rd ed. Padstow, Cornwall, Great Britain: Ed. Blackwell Publishing.

Ball PJH, Peters AR. 2004b. *Bos* Reproductive Biotechnologies. *Reproduction in Cattle*. 3rd ed. Padstow, Cornwall, Great Britain: Ed. Blackwell Publishing.

Baruselli PS, Sá Filho MF, Martins CM, Nasser LF, Nogueira MFG, Barros CM, Bó GA. 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 65: 77-88.

Beal WE, Perry RC, Corah LR. 1992. The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *ACSESS Digital Library* 70(3): 924-929. <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/70/3/924> [consulta: 22 oct 2014].

- Berardinelli JG and Adair R. 1989. Effect of prostaglandin F_{2α} dosage and stage of estrous cycle on the estrous response and corpus luteum function in beef heifers. *Theriogenology* 301-314.
- Bertolini M, Bertolini LR. 2009. Advances in reproductive Technologies in cattle: from artificial insemination to cloning. *Rev Med Vet Zoot* 56: 184-194.
- Betteridge KJ. 2000. Reflections on the golden anniversary of the first embryo transfer to produce a calf. *Theriogenology* 53: 3-10.
- Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science* 78: 307-326.
- Bó GA, Mapletoft RJ. 2014. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology* 81: 38-48.
- Bullock D. 2014. Genetic practices to improve beef cattle reproduction. *Extension*. Beef Cattle. <http://articles.extension.org/pages/72667/genetic-practices-to-improve-beef-cattle-reproduction> [consulta: 26 sep 2016].
- Butler HM, Butler A, Echeverry E, Cesaroni GC. 2011. Efecto de la dosis de cipionato de estradiol al finalizar un tratamiento con progesterona sobre el porcentaje de gestación a la IATF en vaquillonas. *Revista Taurus*, Bs As: 13(52): 40-45.
- Callesen H, Liboriussen T, Greve T. 1996. Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. *Animal Reproduction Science* 42: 215-226.
- Cliff LG, Mercadante VRG. 2015. Selection and management of the embryo recipient herd for embryo transfer. En: Hopper RM (ed). *Bovine Reproduction*. Iowa, USA: Ed. Wiley Blackwell, pp.724-732.
- Cunningham JG, Klein BG. 2009. Control del desarrollo de las gónadas y los gametos. *Fisiología veterinaria*. 4ª ed. Barcelona, España: Ed. Elsevier Saunders.
- Cutaia L, Tríbulo R, Tegli J, Moreno D, Bó GA. 2002. The use of estradiol and progesterone devices during mid-diestrus to synchronize return to estrus in beef cows and heifers. *Theriogenology* 57: 373.

De Rensis F, López-Gatius F. 2014. Use of Equine Chorionic Gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reproduction in Domestic Animals*.49: 177-182.

Do Nascimento RA, Romeiro OMG, Alves EA. 2013. Recursos genéticos e estratégias de melhoramento. En: Do Nascimento RA, Nunes ME, Romeiro de Olivera MG, Campo SLO (eds). *Melhoramento genético aplicado em gado de corte*. Brasília, DF, Brasil: Programa Geneplus-Embrapa, pp. 11-26.

FAOSTAT [actualización: dic 2015]. Roma, Italia: FAO. <http://faostat3.fao.org/home/S> [consulta: 25 ene 2016].

Frasinelli CA, Casagrande HJ, Veneciano JH. 2004. La condición corporal como herramienta de manejo en rodeos de cría bovina. INTA – Estación Experimental Agropecuaria San Luis. Información técnica No. 168.

Furtado AD, Tozzietti SD, Avanza BMF, Dias GGLG. 2011. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*. Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia de Garça. São Paulo, Brasil. Ano IX, Número 16, Janeiro 2011.

García E. 2004. *Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen*. 5a edición. México, D. F.: Ed. UNAM.

García WM. 2011. La ganadería en México: su contribución a la seguridad alimentaria. Resumen de la presentación hecha en la Reunión de la Academia Mexicana de Ciencias: “Ciencia y Humanismo”; Enero. México DF, México. http://cisnex.amc.edu.mx/congreso/Ciencias_Naturales/Agrociencias/Soberania_Seguridad/ponencias/Garcia_Winder_pdf.pdf [consulta: 21 ene 2016].

Garrick DJ. 2011. The nature, scope and impact of genomic prediction in beef cattle in the United States. *Genetics Selection Evolution*. 43(17): 1-11. gsejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9686-43-17 [consulta: 07 oct 2016].

Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Wiltbank MC. 1997. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*, 48: 75-85.

Greiner PS. 2009. Understanding expected progeny differences (EPDs). *Virginia Cooperative Extension*, Virginia Tech. Virginia State University, 400-804. <https://pubs.ext.vt.edu/400/400-804/400-804.html> [consulta: 26 sep 2016].

Gutiérrez ACG. 2014. Manejo hormonal del ciclo estral. En: Galina HC, Valencia MJ (eds). *Reproducción de Animales Domésticos*. 3ª edición. México, D.F.: Ed. Limusa, pp. 117-125.

Hafez ESE, Hafez B. 2002. Foliculogénesis, maduración del óvulo y ovulación. En: Hafez ESE, Hafez B (eds). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 7ª edición. México D. F.: Ed. McGraw-Hill Interamericana, pp. 70-83.

Hasler JF. 2014. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology* 81: 152-169.

Hernández CJ. 2007. Sincronización de estros. En: Hernández CJ, Zavala RJ. (eds). *Reproducción bovina*. México D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México. División del Sistema de Universidad Abierta, Coordinación de Especializaciones, Especialización en producción animal bovinos, pp. 157-168.

Hernández CJ. 2012. Ciclo Estral. *Fisiología Clínica de la Reproducción de Bovinos Lecheros*. México, D. F.: Ed. UNAM.

Joint FAO/IAEA Programme. Nuclear Techniques in Food and Agriculture [actualización: 2014]. Vienna International Centre, PO Box 100, A-1400 Vienna, Austria. [www-naweb.iaea.org/nafa/aph/resources/technology](http://www.naweb.iaea.org/nafa/aph/resources/technology) [consulta: 04 oct 2016].

Johnson SK. 2005. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology*. 64(3): 639-656.

Landívar C, Galina CS, Duchateau A, Navarro-Fierro R. 1984. Fertility trial in zebu cattle after a natural or controlled estrus with prostaglandin F2 alpha, comparing natural mating with artificial insemination. *Theriogenology* 23(3): 421-429.

Lehman F, Lauderdale JW. 2015. Use of technology in controlling estrus in cattle. En: Hopper RM (ed). *Bovine Reproduction*. Iowa, USA: Ed. Wiley Blackwell, pp. 655-661.

- López LE. 2009. *La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y su papel en la reproducción bovina* [Monografía Profesional (Licenciatura)]. Veracruz, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana. Cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/143/1/EricLopezLanda.pdf [consulta: 04 oct 2016]
- Maraña D. 2016. Efecto del destete temporario y la aplicación de eCG sobre las tasas de vacas cruza de Cebú inseminadas a tiempo fijo. *Entorno Ganadero*, 75. <http://bmeditores.mx/efecto-del-destete-temporario/> [consulta: 10 may 2016].
- Martínez ICA. 2009. *Evaluación de cuatro protocolos de sincronización de celos a los 35 días posparto en vacas cruzadas Bos Taurus por Bos indicus sobre el porcentaje de preñez y días abiertos con I.A.T.F.* [tesis de licenciatura]. Bogotá, DC, Colombia. Universidad de La Salle, Facultad Ciencias Agropecuarias. <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6734/T13.09%20M366e.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [consulta: 19 may 2016].
- Mesquita HM, Fritsch M. 2014. Gametogénesis. En: Galina HC, Valencia MJ (eds). *Reproducción de Animales Domésticos*. 3ª edición. México, D.F.: Ed. Limusa, pp. 43-58.
- Miller S. 2010. Genetic improvement of beef cattle through opportunities in genomics. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39: 247-255. www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-359820 [consulta: 07 oct 2016].
- Montes VD, Vergara GO, PrietoME, Rodrpiguez PA. 2008. Estimación de los parámetros genéticos para el peso al nacer y al destete en ganado bovino de la raza Brahman. *Revista MVZ Córdoba* 13(1): 1184-1191.
- Murphy BD. 2012. Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction* 9(3): 223-230.
- Nabors B, Linford R. 2015. Anatomy of the reproductive system of the cow. En: Hopper RM (ed). *Bovine Reproduction*. Iowa, USA: Ed. Wiley Blackwell, pp. 191-194.
- Nogueira E, Zocal MG, Corallo NA. 2013. Biotécnicas reproductivas para aceleração do melhoramento genético. En: Do Nascimento RA, Nunes ME, Romeiro de Olivera MG,

Campo SLO (eds). *Melhoramento genético aplicado em gado de corte*. Brasília, DF, Brasil: Programa Geneplus-Embrapa, pp. 195-211.

Orihuela A, Galina C, Escobar J, Riquelme E. 1983. Estrous behavior following prostaglandin F_{2α} injection in zebu cattle under continuous observation. *Theriogenology* 19 (6): 795-809.

Orihuela A, Galina CS, Duchateau A. 1989. The efficacy of estrus detection and fertility following synchronization with PGF_{2α} or synchro – mate B in zebu cattle. *Theriogenology* 32(5): 745-753.

Pangas SA. 2012. Regulation of the ovarian reserve by members of the transforming growth factor beta family. *Molecular Reproduction Development* 79: 666-679.

Pangas SA, Rajkovic A. 2015. Follicular development: mouse, sheep and human models. En: Plant TM, Zeleznik AJ (eds). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 4th edition. USA: Elsevier, pp. 947-995.

Páramo RRM. 2014. Morfofisiología de los órganos genitales del macho y de la hembra. En: Galina HC, Valencia MJ (eds). *Reproducción de Animales Domésticos*. 3^a edición. México, D.F.: Ed. Limusa, pp. 27-42.

Pepling ME. 2012. Follicular assembly: mechanisms of action. *Reproduction* 143: 139-149.

Peralta TJA, Aké LJR, Centurion CFG, Magaña MJG. 2010. Comparación del cipionato de estradiol vs benzoato de estradiol sobre la respuesta a estro y tasa de gestación en protocolos de sincronización con CIDR en novillonas y vacas *Bos indicus*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia CCBA-UADY. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792010000200004 [consulta: 18 abr 2016]

Perry RC, Corah LR, Cochran RC, Beal WE, Stevenson JS, Minton JE, Simms DD, Brethour JR. 1991. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *Animal Science Journal* 69: 3762-3773.

Pineda MH. 2003. En: Female reproductive system. Pineda MH, Dooley MP (eds) *McDonnald's veterinary endocrinology and reproduction*. 5th ed. Iowa, USA: Ed. Blackwell Publishing.

Pinheiro OL, Barros CM, Figueiredo RA, do Valle ER, Encarnação RO, Padovani CR. 1997. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandina F2 α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 49: 667-681.

Pontes JHF, Nonato Junior I, Sanches BV, Ereno-Junior JC, Uvo S, Barreiros, Olivieira JÁ, Hasler JF, Seneda MM. 2009. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology* 71: 690-697.

Quiroz MMA. 2014. Estrategias para repoblar el hato ganadero de bovinos de carne. Memorias del XXXVIII Congreso de Buiatría; julio 31-agosto 2. Villahermosa, Tabasco, México: Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C.

Ramírez LCA. 2013. *Tasa de concepción con la utilización de dispositivos intravaginales de primer y segundo uso, con y sin eCG en ganado bovino* [Tesis de licenciatura]. Veracruz, Veracruz, México. Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32116/1/ramirezlopezcindy.pdf> [consulta: 16 abr 2016].

Rasby R, Deutscher G. [actualización: 2016] Synchronizing Estrus In Beef Cattle [en línea]. En: *University of Nebraska-Lincoln. Institute of Agriculture and Natural Resources. UNL BEEF*. beef.unl.edu/learning/estrussynch.shtml [consulta: 04 oct 2016].

Robertson EG. 2015. Embryo collection and transfer. En: Hopper RM (ed). *Bovine Reproduction*. Iowa, USA: Ed. Wiley Blackwell, pp. 703-717.

Robson C, Aller JE, Callejas S, Cabodevila J, Alberio RH. 2007. Factores que afectan el anestro posparto en bovinos. *Revista Taurus*, 9(33): 8-25. http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/cria/96-anestro.pdf [consulta: 18 may 2016].

Romano GF, Cliff LG, Romualdo WR, Formighieri BMA, Saporski SM, Rangel AACM, Ernandes KL. 2015. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and equine chorionic gonadotropin (eCG) improve the pregnancy rate on protocols for timed-artificial insemination in beef cattle. *Veterinária e zootecnia*, sep 22(3): 471-480.

Rowson LEA, Tervit R, Brand A. 1972. Synchronization of estrus in cattle by means of prostaglandin F_{2α}. *Proc. VII Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.* 2:865.

Ruiz CJG, Hernández AI. 2013. *Farmacología para médicos veterinarios zootecnistas*. [eBook, actualización 3 jul 2013]. Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. [Consulta; 12 abr 2016].

Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC Vasconcelos JLM. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72: 210-218.

Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva RCP, Rodrigues CA, Madureira EH, Bó GA, Baruselli PS. 2010. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet –based, time artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology* 73: 651-658.

Sistema Nacional de Identificación de Identificación de Ganado. 2005. Inventario bovino estatal del padrón ganadero nacional al 18 de enero de 2016 [en línea, base de datos, actualización: 18 ene 2016]. SINIIGA. Ciudad de México, México: Padrón Ganadero Nacional. http://www.pgn.org.mx/_documents/EstadisticaPGNBovinos.pdf [consulta: 18 mzo 2016].

Skinner MK. 2005. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Human Reproduction Update* 11: 461-471.

Squires EJ. 2006. Manipulación endocrina de la reproducción. *Endocrinología Animal Aplicada*. Zaragoza, España: Ed. Acribia S.A.

Stroud B, Hasler JF. 2006. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology* 65:65-76.

Uslenghi G, Chayer R, Callejas S. 2010. Efectividad del cipionato de estradiol inyectado al final de un tratamiento con progesterona sobre la eficiencia reproductiva. Reproducción en vacas. *Revista Veterinaria* 21(1): 55-58.

Vázquez CJF, Olivera AM. 2010. Artículo de revisión. Señalización celular en el folículo antral bovino. *Orinoquia* 14: 178-187.

Wiltbank MC, Pursley JR. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 81: 170-185.

Wright JM. 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle: embryo-recipient interactions. *Theriogenology* 15(1): 43-56.

Wu B, Zan L, 2012. Enhance beef cattle improvement by embryo biotechnologies. *Reproduction in Domestic Animals* 47, 865-871.

Zarco QLA, Hernández CJ. 2007. Manejo hormonal de la reproducción bovina. En: Hernández CJ, Zavala RJ. (eds). *Reproducción bovina*. México D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México. División del Sistema de Universidad Abierta, Coordinación de Especializaciones, Especialización en producción animal bovinos, pp. 239-250.

Zarco QLA. 2014. Endocrinología de la reproducción. En Galina HC, Valencia MJJ (eds). *Reproducción de animales domésticos*. 3ª edición. México, D.F.: Ed. Limusa, pp. 59-83.