

Actualización de protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)

Updating artificial insemination protocols at fixed time (FTAI)

Angie Julieth Rayo Vargas ¹.

¹ *Seminario de Profundización en Reproducción Bovina VII Cohorte*

Angie.rayov@campusucc.edu.co

Asesora

Dunia Yisela Trujillo Piso ¹

¹ *Médica veterinaria zootecnista. MSc. en Cirugía Veterinaria. Docente de Cirugía Veterinaria, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Ibagué, Colombia*

dunia.trujillo@campusucc.edu.co

facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad cooperativa de Colombia. Ibagué, Tolima, Colombia



Resumen

La inseminación artificial (IA) se ha convertido en una técnica de manejo reproductivo adecuado para el mejoramiento genético del ganado de leche y carne. Esta técnica ayuda a aumentar la rentabilidad de los hatos, con la posibilidad de determinar la época de preñez, aumentando la producción de terneros y reduciendo el intervalo entre partos, llevando a una inversión de la parte reproductiva con resultados de forma rápida. La inseminación artificial (IA) se utiliza especialmente en hatos lecheros especializados y en hatos que se encuentran en buen estado nutricional que aseguren la aparición de celos para obtener altos porcentajes de preñez, una de las mejores opciones para tener mayor número de animales inseminados son los protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) que permiten la manipulación del ciclo estral, con métodos para la sincronización del crecimiento folicular, control de la regresión del cuerpo lúteo (CL) y la inducción de la ovulación.

Palabras clave: IATF, GnRH, ovulación, folículo, cuerpo lúteo, dispositivo intravaginal

Abstract

Artificial insemination (AI) has become a technique of reproductive management suitable for genetic improvement of cattle for milk and meat. This technique helps to reduce the profitability of the herds, with the possibility of determining the time of pregnancy, increasing the production of calves and reducing interval between births leading to an investment of the reproductive part with results quickly. Artificial insemination (AI) is used especially in dairy herds and in those that are in good nutritional status that ensure the appearance of jealousy to obtain high percentages of pregnancy, so that one of the best options to have a larger number of animals inseminated are artificial insemination protocols on a fixed time (IATF) that allow the manipulation of the oestrus cycle, with methods for the synchronization of follicular growth, control of the regression of the luteum body (CL) and the induction of ovulation

Keywords: IATF, GnRH, ovulation, follicle, corpus luteum, intravaginal devices



Introducción

La inseminación artificial (IA) se ha convertido en una técnica de manejo reproductivo adecuado para el mejoramiento genético del ganado de leche y carne, ya que existen diversos factores que disminuyen la eficacia reproductiva como factores climáticos (altas temperaturas, humedad relativa), nutrición (nivel de energía, suplementación), estado de salud del hato, manejo [1,2,3], pero a la vez está rodeada por ciertas limitaciones o desventajas, debido a que no permite la detección del celo, su duración, y el momento en que la hembra lo manifiesta, por lo que lleva a pérdidas económicas con vacas inseminadas vacías, por lo que realizar el procedimiento con protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo es la mejor alternativa para lograr aprovechar las bondades de la técnica de

inseminación, pues con ella se logra tener un mayor número de animales inseminados en una producción y así mejorar las ganancias, permitiendo sincronizar celos y ovulaciones y concentrar los partos en una época del año, por medio de tratamientos hormonales para una mayor eficiencia reproductiva del hato [4,5].

La presente revisión busca describir y analizar los protocolos de IATF desde un punto de vista crítico que permita establecer sus diferencias y generar criterios para su aplicación en una producción

Hormonas relacionadas con la reproducción

El ciclo estral del bovino está regulado por varios órganos: eje hipotálamo-hipófisis, ovario, útero y las hormonas que

son las encargadas de llevar los mensajes químicos y regular las 4 fases del ciclo estral [6].

El hipotálamo es el órgano central del sistema neuroendocrino, es el encargado de la producción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que se difunde y llega a la adenohipófisis donde se estimula y activa la hormona folículo estimulante (FSH) que se encarga de promover el crecimiento y la maduración del folículo; y la hormona luteinizante (LH) que causa la ruptura de la pared folicular y ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo (CL) [1,7]. Los ovarios cumplen una función exocrina, que es la liberación de óvulos, y la endocrina que es la producción de hormonas como: estrógenos, son producidos en los folículos y se encargan del comportamiento sexual o del celo. También tienen un efecto de feedback

positivo sobre la secreción de hormona luteinizante (LH) aumentando la secreción de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) [8,9]; la progesterona, se produce en el cuerpo lúteo, prepara el endometrio para la implantación del embrión y la encargada de mantener la gestación [10,11]; y la inhibina que se produce en el folículo regula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH). El útero es el encargado de producir la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) el cual tiene un efecto de luteolisis o regresión del cuerpo lúteo [12,13,14].

El ciclo estral es el tiempo comprendido entre dos periodos de estro, varía de duración, presentación y momento de la ovulación [15]. El ciclo estral tiene una duración de 18 a 24 días, dependiendo de la raza, ambiente, nutrición, presencia de toro o lactación. Está dividido en 4 fases; Proestro, estro,

metaestro y diestro. El proestro tiene una duración de 3 días, ocurre cuando se presenta la regresión del cuerpo lúteo gracias a la acción de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) con la caída de los niveles de progesterona y el aumento de los niveles de estrógenos por el desarrollo de los folículos y se da el inicio del estro o celo en el que la vaca se vuelve receptiva al macho [16]. Se da un efecto de retroalimentación negativa donde comienza a aumentar la frecuencia de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) que estimulan el crecimiento folicular.

Estro: tiene una duración de 18 horas es el periodo en el que la vaca se vuelve receptiva al macho y comienza a mostrar unos signos especiales debido a los estrógenos que son provenientes de los folículos [17,18]. Cuando se presentan los niveles altos de estrógenos se da un efecto

de retroalimentación positiva y comienza la liberación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que es la responsable de la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH); la LH aumenta después que se comienza a presentar los signos de celo y se da el pico de la ovulación y los niveles de FSH incrementan con la primera onda folicular [19].

Metaestro: tiene una duración de 2 días, ocurre la ovulación, se produce una hemorragia y se forma el cuerpo hemorrágico el cual es el precursor del cuerpo lúteo [20].

Diestro: tiene una duración de 15 días, el cuerpo lúteo se mantiene en su plena funcionalidad en el ovario produciendo progesterona. Si la vaca es preñada los niveles de progesterona son altos para

mantener la gestación y se mantiene el cuerpo lúteo. Después del día 12-14 el útero comienza a secretar prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) ocasionando la regresión del cuerpo lúteo y terminando con esta fase [20].

Protocolos de IATF

La manipulación del ciclo estral consiste en la aplicación de protocolos en la sincronización del crecimiento folicular, la regresión del cuerpo lúteo (CL) e inducción de la ovulación. En la sincronización del crecimiento folicular se utilizan hormonas como: la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), estradiol y progesterona (P4). para la regresión del cuerpo lúteo se emplea hormonas como: prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$), progesterona (P4) y estradiol; y para la inducción de la ovulación

hormonas como: estradiol, hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona luteinizante (LH) y hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) [21].

Protocolo de sincronización basado en estradiol y progesterona

Los protocolos con estradiol y progesterona son utilizados para la formación de la onda folicular y la ovulación y consiste en la inserción de un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona(P4) el día 0, al igual que la administración de 2mg de benzoato de estradiol (BE) por vía intramuscular; las combinaciones de estos dos principios disminuyen la concentración de la hormona foliculo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH) y el crecimiento de folículos antrales; después de que el estradiol es metabolizado, la hormona foliculo estimulante (FSH)

aumenta y 4 días después de la aplicación de tratamiento aparece una nueva onda folicular. El dispositivo intravaginal se retira a los 7 u 8 días y se continua con la aplicación prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 2ml vía intramuscular para asegurar la luteolisis. a las 24 horas de retirar el dispositivo se procede a una nueva aplicación de benzoato de estradiol (BE) pero en una dosis más baja de 1mg para inducir y sincronizar un pico de hormona luteinizante (LH) que se realizaría en el día 9 y se procede a realizar la IATF a rededor de las 48 a 56 horas después [4,22,23,24].

En el siguiente estudio se evaluó el uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona. El cipionato de estradiol (ECP) obtuvo mejor tasa de preñez comparado con el benzoato de estradiol (BE). Se utilizaron 457 vacas sin

cría con una condición corporal de 2.5, a las cuales se les puso dispositivo intravaginal durante los primeros 8 días impregnado de progesterona (P_4), al inicio del tratamiento se aplicaron a todas las hembras 2mg de benzoato de estradiol (BE) y al momento del retiro del dispositivo fueron seleccionadas al azar para el diferente tratamiento según los esteroides de estradiol. A la mitad de las vacas se les aplico 1mg de benzoato de estradiol (BE) y 0,150 mg de Cloprostenol D y a la otra mitad 0,5 mg de cipionato de estradiol (ECP) y 0,150 mg de Cloprostenol D, y fueron inseminadas a las 48h después del retiro del dispositivo con semen del mismo toro. Los resultados obtenidos se observaron diferencias con un mejor porcentaje de preñez en los tratamientos con cipionato de estradiol (ECP) [25]

Experimento	% preñez	% preñez
	BE	ECP
1	57,0 (24/42)	69,3 (30/43)

2	45,0 (18/40)	56,4 (22/39)
3	56,7 (21/37)	69,2 (27/39)
4	38,8 (14/36)	51,0 (19/37)
5	37,8 (14/37)	69,5 (16/23)
6	59,0 (25/42)	69,0 (29/42)

Tabla tomada de: (Cesaroni, Butler, & Durand, 2007)

Ovsynch y Cosynch - Protocolos de sincronización basados en la combinación de prostaglandina F_{2α} (PGF) y GnRH

Los tratamientos a base de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) inducen la liberación de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) ayudando a la formación de la emergencia de una nueva onda folicular. Consiste en una primera aplicación en el día 0 de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) a una dosis de 100µg; seguido de la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) 2ml vía

intramuscular al día 7 para la regresión del cuerpo lúteo y luego una segunda aplicación al día 9 de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que se realizaría a las 36 a 48 horas, con la misma dosis de la primera administración, llevando a una nueva liberación de la hormona luteinizante (LH) y la ovulación de un folículo dominante aproximadamente a las 30 horas, por lo tanto se procede a realizar la IATF de 16 a 20 horas antes de la ovulación. Los protocolos Ovsynch son los más utilizados en las ganaderías de leche y los protocolos de Cosynch son los más utilizados en las ganaderías de carne donde se requiere de un manejo de los animales de solo 3 veces [26,27,28].

Estudios de los protocolos de Ovsynch han dado resultados muy similares a los de inseminación artificial (IA) con celo detectado porque en un tercio de los animales la ovulación no es sincronizada

adecuadamente. Se realizó un estudio con vacas de raza Holstein y se observó ovulación antes de la IATF en el 11% de los animales y no respondieron al tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$ el 12% de estos, como tampoco ovularon en la segunda aplicación con GnRH el 9% de las vacas tratadas [29].

Pre-Ovsynch

Este protocolo de presincronización se realiza con el fin de aumentar la cantidad de animales que respondan a la primera dosis de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) aumentando la posibilidad de obtener un folículo de tamaño ovulatorio. En el día 0 se aplica la primera dosis de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$), al día 14 se repite de nuevo la dosis de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$), y a los 12 días la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) aumentando la probabilidad de que a la hora de la

liberación de la hormona luteinizante (LH) ya esté presente un folículo y a los 7 días se vuelve aplicar la dosis de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) y a los 2 días de nuevo se administra la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y al día siguiente la IATF. [30,31,32].

En estudios de diferentes autores se ve reflejado un aumento de la tasa de preñez en vacas tratadas con el protocolo de Pre – Ovsynch respecto a las tratadas solo con el protocolo de Ovsynch [33]. La aplicación de las dosis de prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$), en el protocolo presynch hace que el ciclo avance hasta hallarse en un periodo funcional del CL o estaría comenzando el proceso de regresión del mismo.

Doble Ovsynch

Protocolo que incluye una presincronización tanto de la prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) como de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). se requiere de un protocolo de ovsynch seguido de otro con el propósito de iniciar en el momento preciso del ciclo estral para mejorar los resultados de fertilidad. En el día 0 se administra una dosis de $100\mu\text{g}$ de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), en el día 7 una dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), a los 3 días se vuelve aplicar una dosis de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y 7 días después de nuevo se administra una dosis de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), luego, a los 3 días se suministra prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) y 3 días después hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), seguidamente

entre las 16 a 20 horas se procede a realizar la IATF. [16,34,35]

En estudios realizados donde se comparan protocolos de doble ovsynch con Presynch, los doble ovsynch han tenido mejores resultados de preñez en vacas primíparas con el 65% vs 45% pero no en vacas multíparas 38% vs 40% [36]. La tasa de preñez mejora con la posibilidad de que en la tercera aplicación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) exista un folículo dominante que ovule y mayor concentración circulante de progesterona antes de la segunda aplicación de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) [18].

Protocolo de sincronización basado en Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La gonadotropina coriónica equina (eCG) también llamada gonadotropina de

suero de yegua preñada, es una hormona con un efecto similar a la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), aumenta la concentración de progesterona después de la ovulación, teniendo mejor desarrollo embrionario y mantenimiento de la gestación [37].

La hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) ha tenido un efecto positivo de vacas en anestro posparto o condiciones caporales muy bajas. El tratamiento se inicia el día 0 con la aplicación de un dispositivo intravaginal impregnado de progesterona (P4) y una dosis de 2mg de benzoato de estradiol (BE), el día 6 se debe aplicar una dosis de gonadotropina coriónica equina (eCG) de 400(UI), a las 48 horas que sería el día 8 se procede a retirar el dispositivo intravaginal y se aplica una dosis de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), a las 24 horas se aplica 1mg de

benzoato de estradiol (BE) y a las 54 horas de haber retirado el dispositivo intravaginal se hace la IATF que sería en el día 10. [1,38,39,40].

En un estudio se realizó un protocolo utilizando gonadotropina coriónica equina (eCG) con diferentes tiempos de aplicación; primer tratamiento se administraba dosis de 400UI de eCG en el día 6 del protocolo; segundo tratamiento el día 6 con una dosis de eCG y 2mgde hormona liberadora de gonadotropina (GnRH); el tercer tratamiento el día 8 dosis de eCG; el cuarto tratamiento el día 8 dosis de eCG y GnRH y el día 10 la IATF. Los resultados para estado de preñez arrojo que el tratamiento 1 obtuvo un porcentaje más alto donde la aplicación de eCG se realizaba al día 6 y el tratamiento con GnRH que tuvo mayor porcentaje de preñez era el tratamiento 4 donde se realizaba al día 8; de acuerdo a estos

autores la aplicación de la gonadotropina coriónica equina (eCG) en el día 6 aumenta el diámetro del folículo preovulatorio, mejorando la tasa de concepción. [41,42,43,44,45].

Comparación de protocolos IATF

Protocolos	Hormonas	Valor	Total	Días de manejo	Fin
Basado en estradiol y progesterona	Dispositivo intravaginal(DIB) 0,5gr BE (Benzoato de estradiol - syntex) PGF _{2α} (D-Cloprostenol)	X10= \$180.000 50ml= \$41.300 20ml= \$47.600	= \$268.000	4d	Carne y leche
Ovsynch y Cosynch	GnRH (Fertagyl) PGF _{2α} (D-Cloprostenol)	5ml= 26.700 20ml= \$47.600	= \$74.300	4d	Carne
Pre-Ovsynch	PGF _{2α} (D-Cloprostenol) GnRH (Fertagyl)	20ml= \$47.600 5ml= 26.700	= \$47.600	6d	Carne y leche
Doble Ovsynch	GnRH (Fertagyl) PGF _{2α} (D-Cloprostenol)	5ml= 26.700 20ml= \$47.600	= \$47.600	7d	Vacas primíparas

Basado en Gonadotropina coriónica equina (eCG)	Dispositivo intravaginal(DIB)	X10= \$180.000	=\$239.080	5d	Anestro posparto o cc baja
		50ml= \$41.300			
	BE (Benzoato de estradiol - syntex)	\$150.000			
	eCG (Novormon 5000 – Syntex)	20ml= \$47.600			
	PGF _{2α} (D- Cloprostenol)				

Fuente: Angie Rayo

Factores a considerar para la implementación de la IATF

Algunos factores influyen en el éxito de la técnica para poder obtener altos porcentajes de concepción [46,47].

La raza: se encuentra menor porcentaje de preñez en animales *Bos indicus* que en animales *Bos Taurus*, esta afirmación puede estar relacionada con factores de temperamento, fisiología reproductiva y condiciones ambientales, ya que la

mayoría de estos animales se encuentran en zonas subtropicales [48].

La etapa: estudios han demostrado que no encuentran diferencia significativa de preñez en novilla y en vacas, pero si se puede ver en aquellas novillas que no pasan de 15 meses donde no se puede establecer de las que están ciclando y las que no [47]; en las vacas secas se obtiene un porcentaje bajo de preñez ya que son vacas que pudieron quedar vacías por deficiencia nutricional o problemas de

fertilidad [48]. la lactancia hace crecer los requerimientos de los vientres ya que niveles nutricionales deben ir adecuándose a estos incrementos y para mantener la fertilidad se realiza el destete temprano para sincronizar las vacas con buena condición corporal [2].

Condición corporal, esta se debe evaluar antes de cualquier protocolo de IATF, los animales se deben encontrar en una condición de 3. estudios han demostrado que los animales que se encuentran en una condición caporal de 2.5 tuvieron porcentajes de preñez muy bajos comparados con la condición corporal de 3 [49,50].

Conclusión

Los protocolos de IATF ayudan en la manipulación del ciclo estral para la sincronización del crecimiento folicular, la regresión del cuerpo lúteo (CL) y la inducción de la ovulación, siendo utilizado

en vacas con problemas reproductivos y obtener mejores resultados en todos los parámetros reproductivos, así mismo se pueden concentrar todos los partos en una misma época del año donde no haya escases de alimento y los animales no se encuentren bajo estrés calórico; con la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se evita la detección de celos ya que es uno de los mayores problemas en el hato, además de que disminuye las enfermedades transmitidas por el toro a la hora de la monta natural.

Referencias bibliográficas

1. Contreras Parra, S. E. (2017). *evaluación de diferentes metodologías de sincronización de la onda folicular y la ovulación sobre la eficiencia reproductiva en hembras bovinas doble proposito* . Fusagasuga: Universidad de cundinamarca, Facultad de ciencias agropecuarias.
2. Huanca L, W. (Jul/Dic de 2011). Inseminacion artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. *Scielo*, 12(2), 2.
5. Wilde, O., de la Vega, A., & Cruz, M. (s.f.). *Catedra de zootecnia general I*. Obtenido de Manual de inseminacion artificial de la hembra bovina .
6. Lamb, G., Smith, M., Perry, G., Atkins, J., Risley, M., Busch, D., & Pattherson, D. (2009). Reproductive Endocrinology and Hormonal Control of the Estrous Cycle. *North Florida Research and Education Center, University of Florida*.
7. Viñoles, C. (2003). Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. (S. U. Sciences, Ed.) *Thesis of Doctor of Philosophy*.
3. Sanchez Sanchez, A. (2010). *Parametros reproductivos de bovinos en regiones tropicales de mexico*. Veracruz .
4. Machado, L., Larsen, R., Cabodevila, J., & Callejas, S. (2017). *Descripción del porcentaje de preñez post IATF en vacas con cría (segundo servicio y adultas)*. Tandil: Facultad de ciencias veterinarias UNCPBA.
8. Espey, L., & Richards, J. (2006). Ovulation. *Physiology of Reproduction*. (Knobil , & Neill's, Edits.) *Elsevier*, 425, 74.
9. Duggavathi, R. (2004). Dynamics and regulation of ovarian antral follicular waves in sheep. (U. o. Saskatchewan, Ed.) *Thesis of Doctor of Philosophy*.
10. Spencer , T., Johnson , G., Burghardt , R., & Bazer, F. (2004). Progesterone and Placental Hormone Actions on the Uterus: Insights from Domestic Animals. *Biol. Reprod*, 71, 2-10.
11. Spencer, T., & Bazer, F. (2002). *Biology of progesterone action*



- during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci*, 7, 1879-1898.
12. Shirasuna, K. (2010). Nitric oxide and luteal blood flow in the luteolytic cascade in the cow. *Reprod. Dev*, 56, 9-14.
 13. Roche, J. (1996). Control and regulation of folliculogenesis—a symposium. *Rev. Reprod*, 1, 19-27.
 14. Stevenson, J. (2007). Clinical reproductive In: Youngquist RS, Threlfall. (M. Louis, Ed.) *Large Animal Theriogenology*, 258-270.
 15. Echeverria, J. (2004). Endocrinología Reproductiva: Hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH). Revisión bibliográfica. *Boletín técnico elaborado para Laboratorio Biogénesis S.A.*
 16. Hafez, E., & Hafez, B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en. En M. H. Interamericana (Ed.). Mexico: Séptima Edición.
 17. Shearer, J. (2003). Reproductive Anatomy and Physiology of. *Science Department, Florida Cooperative*.
 18. Wiltbank, M., Souza, A., Carvalho, P., Bender, R., & Nascimento, A. (2012). Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reprod Fertil Dev*, 24, 238-243.
 19. Lucy, M. (2006). Estrus: Basic Biology and Improving Estrous. *Proc. Dairy Cattle Reproductive Conference*, 29-37.
 20. Rivadeneira, V. (2013). Ciclo estral bovino. Sistema de revisiones en investigación. *Sirivs – UNMSM*.
 21. Huanca L, W. (Jul/Dic de 2011). Inseminacion artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. *Scielo*, 12(2), 2.
 22. Colazo, M., Martinez, M., Kastelic, J., & Mapletoft, R. (2003). Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, 60, 855-865.
 23. Martinez, M., Kastelic, J., Bo, G., Caccia, M., & Mapletoft, R. (2005). Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotropin release and ovarian follicular



- dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci*, 86, 37-52.
24. Erkan, S., Coban, S., Nak, Y., Nak, D., Kara, U., White, S., . . . Kasimanickman, R. (2016). Fertility of holstein heifers after two doses of PGF2a in 5-day CO-Synch progesterone-based synchronization protocol. *Theriogenology*, 1-6.
 25. Cesaroni, G., Butler, H., & Durand, M. (10 de Mayo de 2007). *Sincrovac*. Obtenido de Evaluación del uso de dos ésteres de estradiol sobre la tasa de fertilidad a la IATF en vacas secas, tratadas con un dispositivo intravaginal con progesterona.
 26. Diskin, M., Aultin, E., & Roche, J. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endroc*, 23, 211-228.
 27. Diskin, M., Aultin, E., & Roche, J. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endroc*, 23, 211-228.
 28. Bridges, G., Helser, L., Grum, D., Mussard, m., Gasser, C., & Day, M. (2008). Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates beef cows. *Theriogenology*, 69, 843-851.
 29. Colazo, M., Gordon, M., Rajamahendran, R., Mapletoft, R., & Ambrose, D. (2009b). Pregnancy rates to timed-AI in dairy cows treated with gonadotropin releasing hormone or porcine luteinizing hormone. *Theriogenology*, 72, 262-270.
 30. Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C., Mattos, R., Lopes, F., & Thatcher, W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 84, 1646-1649.
 31. Rantala, M., Katila, T., & Taponen, J. (2009). Effect of time interval between prostaglandin F 2 alfa and GnRH treatments on occurrence of short estrous cycles in cyclic dairy heifers and cows. *Theriogenology*, 71, 930-8.
 32. Taponen, J., Hjerppe, P., Kopra, E., Rodrigues-Martinez, H., Katila, T., & Kindahl, H. (2003). Premature prostaglandin F2 alfa secretion causes luteal regression in GnRH induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. *Theriogenology*, 60, 379-93.
 33. El-Zarkouny, S., Cartmil, J., Hensley, B., & Stevenson, J. (2004). Presynchronization of estrous cycles before Ovsynch and progesterone in d
 34. Dirandeh, E., Roodbari, A., & Colazo, M. (2015). Double-Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy cows. *Theriogenology*, 83(3), 438-443.
 35. Giordano, J., Wiltbank, M., Fricke, P., Bas, S., Pawlisch, R., Guenther, J., & Nascimento, A. (2013). Effect of increasing GnRH and



- PGF2a dose during double-ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 80(7), 773-783.
36. Rivadeneira, V. (2013). Ciclo estral bovino. Sistema de revisiones en investigación. *Sirivs – UNMSM*.
 37. Ospina, C., & Ramos, C. (2013). efecto de la gonadotropina coriónica equina (eCG), sobre el crecimiento del folículo preovulatorio y la tasa de preñez pos iatf, en vacas y novillas normando. *Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC)*.
 38. Huguenine, E., Feracchia, S., Benitez, R., Martini, H., Cledou, G., Bó, G., & Callejas, S. (2013). Efecto de la utilización del protocolos Co-Synch – 5 días combinado o no con eCG en vacas con cría en anestro postparto. *Resúmenes de X Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC*, 313.
 39. Marins, T., Talamoni, M., Sponchiado, J., Maio, G., Nogueira, G., & Pugliesi, M. (2017). Impact of estradiol cypionate prior to TAI and progesterone supplementation at initial. *Theriogenology*, 35.
 40. Honnens, A., Niemann, H., Paul, V., Meyer, H., Bollwein, H., & Herzog, K. (2009). Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. *Anim reprod Sci*, 113, 1-10.
 41. Dorneles, R., Ferreira, R., Tonello don Santos, J., Silveira de Andrade Neto, Barreta, M., Oliveira, J., . . . Neves, J. (2013). The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. (C. S. Campus Universitário Curitibaanos, Ed.) *Theriogenology*, 1204-1209.
 42. Nuñez, O. (2011). Utilización de gonadotropina coriónica equina (eCG) en vacas de carne, sobre la tasa de preñez y pérdidas embrionarias en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo. *Instituto de Reproducción Animal Córdoba*.
 43. Sales, J., Crepaldi, R., Giroto, A., Souza, P., & Baruselli. (2011). Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Animal Reproduction Science*, 124, 12-18.
 44. Martemucci, G., & D'Alessandro, A. (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixedtime, Department of Progettazione e Gestione dei Sistemi Agro-Zootecnici e Forestali - PRO.GE.S.A. (U. o., Ed.) *Animal Reproduction Science*, 132, 32-39.



45. Lopez Valiente, s., Maresca, S., Rodriguez, A., Garriz, M., & Bartolome, J. (2013). Utilizacion de eCG en vaquillonas con deficiente desarrollo genital. *Revista Argentina de Producción Animal*, 33(1), 1-16.
46. Bó, G., Chesta, P., & Cutaia, L. (2008). Claves para una IATF exitosa en. 14-32.
47. Butler, H. (2008). Claves para una IATF exitosa en rodeos de cría. *Taurus*. 34-47.
48. Komański, G., Berisso, R., & Rodríguez, G. (2015). Factores que afectan los resultados de la IATF y. *Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA*, 90.
49. Callejas, S. (2008). Claves para una IATF exitosa en rodeos de cría. *Taurus*. 8-12.
50. Cutaia, L. (2002). *abspecplan*. Obtenido de Programas de inseminacion artificial a tiempo fijo: analisis de costos e implantacion .