

Novedades sobre los *protocolos de IATF* en ganado *Bos indicus* para carne

Rodrigo L.O.R. Alves ^a, Mateus A. Silva ^a, Carlos E.C. Consentini ^a, Lucas O. e Silva ^a, Natália P. Folchini ^a, Abraham L. Oliva ^d, Alexandre B. Prata ^e, José Renato S. Gonçalves ^b, Milo C. Wiltbank ^c, y Roberto Sartori.
Ponencia presentada durante el 14 Simposio Internacional de Reproducción Animal. Instituto Reproducción Animal Córdoba -IRAC- Argentina 2022

En el ganado bovino *Bos indicus*, uno de los *protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF)* más utilizados se basa en la combinación de estradiol (*E2*) y progesterona (*P4*), denominados *protocolos IATF* basados en *E2/P4*. Estos *protocolos* comienzan con la colocación de dispositivos intravaginales *P4* y el tratamiento con un éster *E2*, principalmente benzoato *E2 (EB)*, para promover la atresia de los folículos en crecimiento y la aparición de una nueva onda folicular. En el momento de la extracción del *DIB P4*, se administra prostaglandina *F2α (PGF)* para inducir la luteólisis, junto con

gonadotropina coriónica equina (eCG) que se utiliza para estimular el crecimiento final del folículo preovulatorio].

Se han utilizado diferentes inductores de ovulación al final de los protocolos E2/P4 IATF, como el cipionato E2 (EC), administrado en el momento de la retirada del DIB P4, EB, administrado 24 h después de la extracción del DIB, o análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), administrados antes o en el momento de la IATF. Un estudio reciente [informó la sincronización de una nueva onda folicular en el 92.4% del ganado Nelore, después del tratamiento con EB y un DIB P4, y la ovulación al final del protocolo fue del 84.8%, mostrando una buena eficiencia de sincronización general con este protocolo.

Una modificación potencial en los protocolos IATF basados en E2/P4 es el tratamiento con PGF al comienzo del protocolo o antes de la retirada del DIB P4, con el fin de disminuir P4 durante el desarrollo del folículo y/o aumentar la longitud del proestro. La administración de PGF en el primer día de protocolos de sincronización en ganado bovino que se encuentra ciclando (*Bos indicus*, *Bos taurus* y vacas y vaquillonas de raza mestiza) promovió efectos positivos o ningún efecto en los resultados reproductivos. Dadarwal et al., reportan mayor diámetro de folículos preovulatorios, más ovulaciones, mayor CL, mayor P4 circulante y mayor preñez por IA (P/IA) en vacas Hereford y vaquillonas puberales tratadas con PGF al comienzo de un protocolo IATF. Por otro lado, Sá Filho et al., no reportaron diferencias en el diámetro folicular, tiempo de ovulación, incidencia de ovulación y P/IA en vaquillonas Nelore ciclando que recibieron o no PGF en el primer día de un protocolo IATF. Además, Hill et al., informan folículos más grandes y una mayor tasa de ovulación al comienzo de un protocolo CO-Synch + CIDR IATF, cuando las vacas *Bos taurus* (Angus y cruzadas) se pre-sincronizaron con PGF 3 d antes del inicio del protocolo, aunque la P/IA no fue influida por este tratamiento.

Un cambio adicional en los protocolos basados en E2/P4 es alterando la

dosis de EC en el momento de la extracción del DIB P4 (de 0,5 a 1,0 mg), tratando de aumentar la expresión del estro y la fertilidad. Torres-Júnior et al., informaron una mejor sincronización de las ovulaciones y mayor P/IA en vacas *Bos indicus* cuando se usaron 1,0 mg de EC en protocolos IATF con 8 d de DIB P4 (55,7% en comparación con 38,6% para 1,0 en comparación con 0,5 mg de EC, respectivamente). Por el contrario, Bosolasco et al., utilizando un protocolo basado en E2/P4 con 7 d de DIB P4, informaron mayor P/IA en vacas Hereford y Angus cruzadas que recibieron 0,5 mg en comparación con 1,0 mg de EC (60,4 vs. 50,4%).

Otra estrategia para mejorar la P/IA en el ganado vacuno es el tratamiento con GnRH en el momento de la IATF. Madureira et al. y Prata et al., informaron efectos positivos del tratamiento con GnRH en la IA sobre la fertilidad de las vacas Nelore detectadas o no en celo al final de los protocolos IATF utilizando 0,5 mg de EC como inductor final de la ovulación.

Por lo tanto, el objetivo principal del presente estudio fue evaluar los resultados reproductivos en vacas Nelore sometidas a protocolos IATF basados en E2/P4, con DIB de P4 mantenida durante 7 días, pero utilizando diferentes variaciones de tratamientos hormonales para: 1) Inducir la luteólisis mediante la administración de PGF al inicio del protocolo para tener P4 circulante más bajo durante el protocolo, 2) Aumentar la E2 circulante y la expresión de estro al final del protocolo mediante la administración de una dosis más alta de EC en la retirada del dispositivo P4 para inducir la ovulación final, y 3) Aumentar la ovulación y, tal vez, mejorar el tiempo de ovulación mediante el tratamiento con GnRH en el momento de la IA.

Se probaron tres hipótesis principales: 1) la administración de PGF en el Día -9 aumentaría el diámetro del folículo en el Día -2 y en IATF, la expresión de estro y P/IA en vacas cíclicas, 2) el aumento de la dosis de EC de 0,5 a 1,0 mg aumentaría la expresión de estro y P/IA, eliminando la necesidad de GnRH en el momento de la IA, y 3) la administración de GnRH en el momento de la IA aumentaría la P/IA general,

especialmente en vacas que no se habían detectado en estro en el momento de la IA.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en Londrina, Paraná, Brasil, en la Estación Experimental "Hildegard Georgina Von Pritzelwiltz" (Granja Figueira) y los datos se recopilaron en dos temporadas de reproducción consecutivas. Las vacas Nelore se mantenían en pasturas de *Brachiaria brizantha*, complementadas con sal mineral y tenían acceso al agua ad libitum. El Comité de Ética en Investigación Animal de la Facultad de Agricultura "Luiz de Queiroz" de la Universidad de São Paulo (ESALQ/USP) aprobó todos los procedimientos con animales (Protocolo # 2018-19).

Manejo de las vacas

Se inscribieron un total de 2897 vacas Nelore (*Bos indicus*) amamantando $59,4 \pm 24,1$ d después del parto. Al inicio de los protocolos de IATF (Día -9), el BCS se determinó utilizando una escala de 5 puntos [21] con incrementos de 0,25 (1 = demacrado; 5 = obeso). Las vacas primíparas (n = 962) y multíparas (n = 1935) tuvieron un BCS promedio de $2,9 \pm 0,01$ y $3,0 \pm 0,01$, respectivamente. Un total de 2012 vacas recibieron la primera IATF de la temporada de cría y las vacas no preñadas (n = 885) en el diagnóstico de preñez 30 días después de IATF fueron aleatorizadas al mismo diseño experimental durante el protocolo de resincronización, considerándose cada vaca no preñada como una nueva unidad experimental. La discrepancia entre el número de vacas re-sincronizadas y vacas no preñadas después de la primera IATF ocurrió por las siguientes razones: 1) grupos de vacas que recibieron la primera IATF después del manejo de la granja (no recibieron tratamientos experimentales) y se ingresaron en el experimento solo durante el protocolo de resincronización; 2) grupos de vacas que recibieron solo una IATF, siguiendo el diseño experimental.

Se utilizaron un total de 21 y 18 grupos de vacas (réplicas) en la primera IATF y el protocolo de re-sincronización, respectivamente.

Diseño experimental

El experimento utilizó una disposición factorial de 2x2x2 de ocho tratamientos, como se muestra en la Fig. 1. Los tres factores fueron: 1) tratamiento con PGF el día -9 (con PGF = PGF1 o sin PGF = PGF0); 2) dosis de EC el día -2 (0,5 EC = EC0,5 o 1,0 mg = EC1,0); y 3) tratamiento con GnRH en el momento de la IA (con GnRH = G1 o sin GnRH = G0).

Al inicio del protocolo IATF (Día -9), todas las vacas recibieron un DIB P4 de 1,0 g (Repro neo, GlobalGen vet science, Jaboticabal, Brasil), 2,0 mg de EB im (Syn-crogen, GlobalGen vet science) y recibieron (PGF1) o no (PGF0) 0,5 mg de cloprostenol sódico (PGF) im (Indusco, GlobalGen vet science). Siete días después (Día -2), se retiraron los DIBs P4, todas las vacas se trataron con 0,5 mg de PGF im, 300 UI de gonadotropina coriónica equina im (eCG; eCGen, Globalgen vet science) y 0,5 (EC0,5) o 1,0 mg (EC1,0) de EC (Cipion, GlobalGen vet science). El día 0 (48 h después de la eliminación del DIB), las vacas se trataron im (G1) o no (G0) con 8,4 µg de acetato de buserelina (GnRH; Maxrelin; GlobalGen vet science). La dosis de 8,4 µg de buserelina fue diferente de la comúnmente informada de 10 µg [22]. Esta dosis se utilizó en varios experimentos de nuestro laboratorio y proporcionó muy buenos resultados en términos de ovulación y P/IA [19,20]. Las vacas fueron inseminadas por uno de dos técnicos utilizando 20 x106 semen congelado/descongelado de 17 toros (STGenetics, Indaiatuba, Brasil y Genex, São Carlos, Brasil).

Por lo tanto, hubo ocho tratamientos resultantes, de acuerdo con la Fig. 1: 1) PGF0-EC0,5-G0 (n = 364); 2) PGF0-EC0,5-G1 (n = 363); 3) PGF1-EC0,5-G0 (n = 363); 4) PGF1-EC0,5-G1 (n = 360); 5) PGF0-EC1,0-G0 (n = 360); 6) PGF0-EC1,0-G1 (n = 363); 7) PGF1-EC1,0-G0 (n = 361); 8) PGF1-EC1,0-G1 (n = 363).

Para la expresión de la evaluación del estro, todas las vacas tenían la base de su cabeza de cola pintada con tiza de cola (Walmur, São Geraldo, Brasil) el Día -2 y se revisaron en el momento de la IA para detectar la ausencia de tiza de cola (más del 75% de eliminación), lo que indicó que las vacas expresaban estro antes de la IATF.

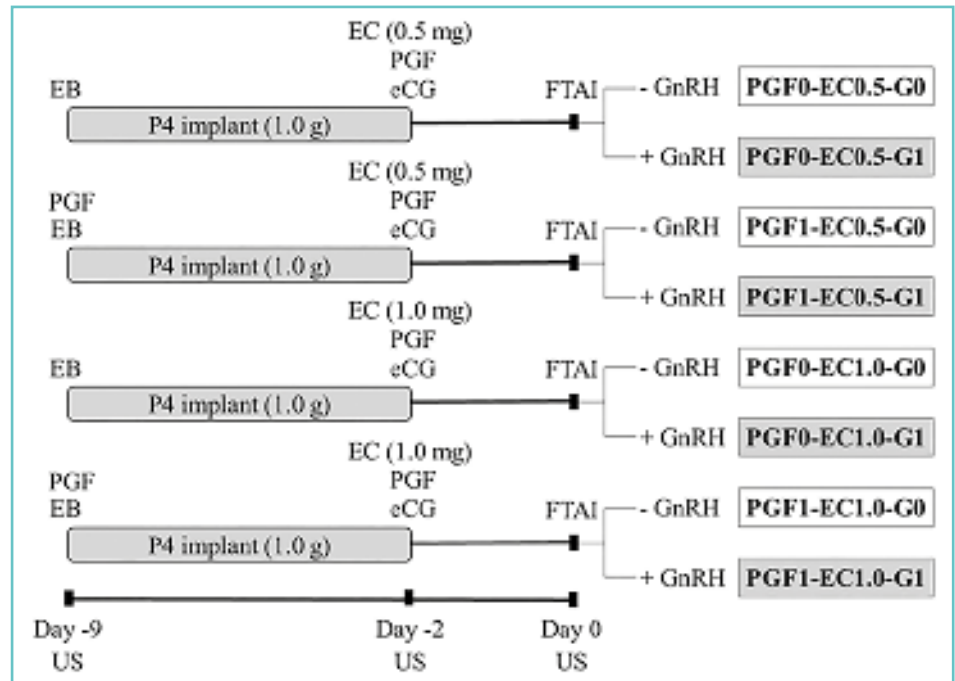


Figura 1: Diagrama esquemático del diseño experimental siguiendo una disposición factorial de 2x2x2. Los tres factores fueron: 1) cloprostenol sódico (PGF) el día -9 (con PGF = P1, o sin PGF = P0); 2) dosis de cipionato de estradiol (EC) el día -2 (0,5 EC = EC0,5, o 1,0 mg = EC1,0); y 3) acetato de buserelina (GnRH) en el momento de la inseminación artificial (IA; con GnRH = G1, o sin GnRH = G0). El día -9, las vacas recibieron un DIB que contenía 1,0 g de progesterona (P4), 2,0 mg de benzoato de estradiol (EB) im y recibieron (P1) o no (P0) 0,5 mg de PGF im. Siete días después (día -2), se retiraron los DIB, todas las vacas se trataron con 0,5 mg de PGF im, 300 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) im y 0,5 (EC0,5) o 1,0 mg (EC1,0) de EC. El día 0 (48 h después de la eliminación del DIB), las vacas se trataron im (G1) o no (G0) con 8,4 µg de GnRH y se inseminaron.

Evaluaciones ecográficas

Se realizaron exámenes ováricos transrectales por ultrasonido en modo B con un transductor lineal de 7.5 MHz (DP-2200 VET, Mindray, Shenzhen, China) los días -9 y -2 del protocolo de sincronización, en un subgrupo de vacas, con el fin de evaluar la presencia o ausencia de CL. Aproximadamente el 20% de las vacas primíparas y múltiparas se sometieron al azar a un examen de ultrasonido de los ovarios para evaluar el diámetro (mm) del folículo más grande (LF) en el Día -2 (primíparas = 223; múltiparas = 507) y en el momento de la IA (primíparas = 218; múltiparas = 488). Todas las mediciones fueron realizadas por el mismo operador. La incidencia de ovulación al final del protocolo (n = 696) se calculó mediante la presencia de CL 7 d después de la IA (día 7). El porcentaje de vacas con ovulación múltiple se calculó como la proporción de vacas con dos o más CL dividida por el número de vacas que ovularon.

El diagnóstico de preñez fue realizado por el mismo operador entre 30 y 33 días después de la IATF (Día 30) mediante ultrasonido transrectal al confirmar la presencia de un embrión viable con un latido cardíaco. La P/IA se calculó como la proporción de vacas preñadas dividida por el número de vacas inseminadas. Para analizar la pérdida embrionaria/fetal, también se realizó una evaluación ecográfica entre 60 y 63 días después de la IATF (Día 60) en aproximadamente el 40% de las vacas (n = 1063), y solo durante la segunda temporada de reproducción.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS, Versión 9.4 para Windows SAS Institute Inc., Cary, NC). Los análisis de las variables de resultado binomial (presencia de CL en el día -9, expresión de estro, ovulación después de IATF, P/IA y pérdidas de preñez) se realizaron utilizando el procedimiento GLIMMIX ajustando

una distribución binomial con la función *Link Logit*. Los resultados continuos (diámetro del folículo en el Día -2 y el Día 0) se evaluaron utilizando el procedimiento *GLIMMIX* con una distribución gaussiana, después de la prueba de normalidad de los residuos de acuerdo con la prueba de *Shapiro-Wilk* utilizando el procedimiento *UNIVARIADO*. Además, la opción *ddfm = kenwardroger* se incluyó en el modelo para ajustar los grados de libertad para las variaciones.

El análisis se realizó como un diseño factorial 2x2x2, en el que el modelo para P/IA a los 30 y 60 días después de la IA y la expresión de estro incluyó efectos principales (con o sin PGF el día -9, 0,5 o 1,0 mg de EC el día -2, y con o sin GnRH el día 0) y las interacciones de 2 y 3 vías. Además, se incluyeron los efectos de la paridad (primíparas o multíparas), el número de IA (primera IA o resincronización), la presencia de CL en el día -9 (presencia o ausencia), BCS en el día -9 (< 3 o ≥ 3) y la expresión de estro (con o sin estro – incluido solo para el modelo P/IA). También se evaluaron todas las interacciones (bidireccionales y tridireccionales) entre los tratamientos y las variables de resultado descritas.

La selección del modelo que mejor se ajusta a cada variable de resultado de interés se realizó encontrando el modelo con el valor más bajo para el *Criterio de Información de Akaike Corregido (IACC)* utilizando el procedimiento de selección escalonada que incluyó resultados e interacciones con $P < 0,20$ del modelo. Además, los efectos principales y la interacción factorial de los efectos se forzaron en el modelo final en todos los análisis.

Cuando las interacciones fueron significativas ($P \leq 0,05$), se utilizó el comando *SLICE* en el *LSMEANS* para interpretarlas. Se realizó la prueba post hoc de diferencia significativa honesta de Tukey para determinar las diferencias. Las diferencias significativas fueron declaradas cuando $P \leq 0,05$, mientras que las tendencias fueron consideradas cuando $0,10 \geq P > 0,05$. Los valores se presentan como porcentaje (%; *variables binomiales*). Los resultados de las variables de resultado continuo se expresan como media ± error estándar de la media.

El procedimiento *LOGÍSTICO* se utilizó para la regresión logística para

modelar la probabilidad de expresión de estro, ovulación después de la IATF y preñez en el Día 30 de acuerdo con el diámetro del folículo más grande en el Día -2 y el Día 0 (*este análisis se realizó por separado para cada día*). Las curvas de regresión logística se crearon utilizando los coeficientes proporcionados por el análisis interactivo de datos de SAS y la fórmula $Y = \exp(\alpha \times X + \beta) / [1 + \exp(\alpha \times X + \beta)]$, donde Y = probabilidad de ocurrencia; \exp = exponencial; α = pendiente de la ecuación logística; β = intercepción de la ecuación logística; y X = resultado analizado. Para las curvas de probabilidad, se establecieron puntos de corte para la selección de vacas en función de la fisiología del ciclo estral, considerando el tiempo de aparición de la onda folicular, 2 a 5 días después del Día -9, y la tasa de crecimiento folicular, 0,5 a 2,0 mm/d [10,23,24]. Por lo tanto, el punto de corte utilizado en el Día -2 varió de 5,0 mm (*valor mínimo; folículo que emerge el Día -4 y crece 0,5 mm/d*) a 14,0 mm (*valor máximo; folículo que emerge el Día -7 y crece 2,0 mm/d*). Además, el punto de corte definido en el Día 0 varió de 6,0 mm (*valor mínimo; folículo que mide 5,0 mm en el Día -2 y crece 0,5 mm/d*) a 18,0 mm (*valor máximo; folículo que mide 14,0 mm en el Día -2 y crece 2,0 mm/d*).

Resultados

Dinámica ovárica

Al inicio del protocolo (Día -9), independientemente del número de IA, la proporción de vacas primíparas con CL fue menor ($P < 0,001$) que la de vacas

multíparas, como se muestra en la **Tabla 1**. Al inicio del protocolo de resincronización, más ($P < 0,001$) vacas (38,8% [352/907]) tenían CL que las del primer IA posparto (18,5%). Además, más vacas ($P < 0,001$) con $BCS \geq 3,0$ tuvieron CL el Día -9 en comparación con vacas con $BCS < 3,0$ (33,0 [470/1424] vs. 16,9% [236/1397]). Ni la administración de PGF el día -9 ni la presencia de CL el día -9 influyeron en el diámetro del LF el día -2 (con PGF: $9,4 \pm 0,09$ mm [n = 255]; sin PGF: $9,2 \pm 0,09$ mm [n = 283]; con CL: $9,4 \pm 0,14$ mm [n = 125]; sin CL: $9,2 \pm 0,07$ mm [n = 411]), o el día 0 (con PGF: $12,2 \pm 0,12$ mm [n = 273]; sin PGF: $12,0 \pm 0,12$ mm [n = 295]; con CL: $12,2 \pm 0,18$ mm [n = 135]; sin CL: $12,0 \pm 0,09$ mm [n = 431]). Además, la dosis de EC en el Día -2 no afectó ($P = 0,27$) el diámetro del LF en el Día 0 (0,5 mg: $12,1 \pm 0,12$ mm [n = 287]; 1,0 mg: $12,0 \pm 0,12$ mm [n = 281]). La **Tabla 1** también muestra que las vacas multíparas tenían mayor diámetro del LF que las vacas primíparas, tanto en el Día -2 (*extracción de DIBs*) como en el Día 0. Además, $BCS \geq 3,0$ se asoció con un diámetro mayor ($P < 0,001$) del LF que $BCS < 3,0$, en los días -2 ($9,8 \pm 0,11$ [n = 408] vs. $9,1 \pm 0,13$ mm [n = 322]) y 0 ($11,8 \pm 0,13$ [n = 399] vs. $10,7 \pm 0,17$ mm [n = 307]).

La tasa de ovulación después del día -9 fue baja (9.1%), lo que se esperaba ya que el tratamiento con EB al principio no debería inducir una ovulación. Además, la ovulación después del Día -9 fue similar ($P = 0,87$) en vacas con (10,3%) y sin CL (8,8%). Considerando solo las vacas con CL en el Día -9, el porcentaje de vacas

Variable	Paridad			Valor de P
	Primíparas	Multíparas	En general	
CL el día -9, % (n/n)				
Primera IA	7,6 (43/565)	23,1 (311/1349)	18,5 (354/1914)	<0,001
re-sincronización	23,6 (86/364)	49,0 (266/543)	38,8 (352/907)	<0,001
En general	13,9 (129/929)	30,5 (577/1892)	25,0 (706/2821)	<0,001
Diámetro LF, mm (n)				
Día -2	$8,1 \pm 0,12$ (223)	$10,1 \pm 0,10$ (507)	$9,5 \pm 0,08$ 730	<0,001
Día 0 (hora de la IA)	$9,7 \pm 0,18$ (218)	$12,0 \pm 0,12$ (488)	$11,3 \pm 0,11$ (706)	<0,001

Tabla 1. Presencia de cuerpo lúteo (CL), mayor diámetro folicular (LF) en el Día -2 y en el momento de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF; Día 0) de la primera IA y resincronización en vacas primíparas y multíparas sometidas a protocolos IATF basados en estradiol/progesterona.

Tabla 2. La ovulación después de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se basa en la paridad, la puntuación de la condición corporal (BCS) y la presencia de cuerpo lúteo (CL) el día -9, la dosis de cipionato de estradiol (EC) el día -2, el tratamiento con GnRH en IA (día 0) y la expresión de estro en vacas sometidas a protocolos de IATF basados en estradiol/progesterona.

Variable	Ovulación, % (n/n)	Valor de P
Paridad		
Primíparas	81,7 (165/202)	0,005
Múltiparas	92,9 (459/494)	
BCS el día -9		
<3,0	83,9 (266/317)	0,001
≥ 3,0	94,5 (358/379)	
CL el día -9*		
Sin CL	86,9 (419/482)	0,02
Con CL	95,8 (203/212)	
Tratamiento el día -2		
0,5 mg CE	88,2 (307/348)	0,69
1,0 mg CE	91,1 (317/348)	
Tratamiento el día -2		
Sin GnRH	87,2 (299/343)	0,005
Con GnRH	92,1 (325/353)	
Expresión del estro (entidad observable)		
Sin estro	77,1 (108/140)	0,004
Con estro	92,8 (514/554)	

*Algunas vacas no fueron evaluadas por ultrasonido transrectal el día -9.
**Algunas vacas no fueron evaluadas para la expresión de estro.

con regresión de CL entre los Días -9 y -2 fue mayor ($P < 0,001$) en las vacas que recibieron PGF en el Día -9 que las vacas que no recibieron PGF (74,7 vs 53,9%).

En general, la ovulación después de la IA fue del 89,7% (624/696) y fue influenciada por la paridad, BCS y la presencia de CL en el Día -9, el tratamiento con GnRH en el Día 0 y la expresión del estro (Tabla 2). Por el contrario, el porcentaje de vacas que ovularon no se vio influenciado por el tratamiento con PGF el día -9 o por la dosis de EC el día -2. Hubo una interacción ($P = 0,02$) entre BCS el día -9 y el tratamiento el día -2 en el porcentaje de vacas que ovularon después de la IA. Más vacas ($P = 0,02$)

con BCS <3,0 ovularon cuando se administró 1,0 mg de EC que cuando se trataron con 0,5 mg de EC (88,1 vs. 79,8%). Considerando vacas con BCS ≥ 3,0, no hubo diferencia ($P = 0,24$) en la ovulación después de la IA entre 0,5 y 1,0 mg de EC (95,3 vs. 93,7%), respectivamente).

Hubo una tendencia ($P = 0,10$) de una interacción entre la expresión de estro y el tratamiento con GnRH a la ovulación después de la IATF, en la que el tratamiento con GnRH aumentó ($P = 0,006$) la ovulación solo en vacas sin expresión de estro (83,6 vs. 71,2%, con y sin GnRH, respectivamente). Por el contrario, considerando las vacas que expresaron estro, la GnRH no impactó sobre la ovulación

después de la IATF (94,0 [vs. 91,5%, con y sin GnRH, respectivamente])

La Figura 2A muestra que la probabilidad de ovulación después de la IA no difirió en función del diámetro folicular en los Días -2 ($P = 0,45$) o 0 ($P = 0,20$). Por el contrario, las vacas que ovularon después de la IA tenían folículos más grandes que las vacas que no ovularon, en ambos Días -2 ($9,5 \pm 0,15$ [n = 189] vs. $7,5 \pm 0,51$ mm [n = 22]; $P < 0,001$) y 0 ($11,8 \pm 0,17$ [n = 185] vs. $8,3 \pm 0,65$ mm [n = 21]; $P < 0,001$).

La Figura 2B representa la probabilidad de expresión de estro en función del diámetro folicular en el Día -2 ($P = 0,02$) o el Día 0 ($P = 0,008$) del protocolo IATF. A medida que aumentaba el diámetro del LF, también aumentaba la expresión del estro. Las vacas que expresaron estro tenían folículos más grandes ($P < 0,001$) que las vacas que no expresaron estro el Día -2 ($9,7 \pm 0,10$ [n = 537] frente a $8,5 \pm 0,16$ mm [n = 174]) y el Día 0 ($11,7 \pm 0,11$ [n = 533] frente a $10,1 \pm 0,23$ mm [n = 172]).

La Figura 2C presenta la probabilidad de P/IA en el Día 30 en función del diámetro del folículo ovulatorio en los Días -2 y 0, mostrando que P/IA aumentó a medida que el diámetro del folículo más grande aumentó en el Día -2 ($P < 0,001$) y en el Día 0 ($P < 0,001$). Las vacas preñadas en el día 30 tenían folículos más grandes ($P < 0,001$) en ambos días -2 ($9,9 \pm 0,10$ [n = 434] frente a $8,8 \pm 0,14$ mm [n = 296]) y 0 ($12,0 \pm 0,11$ [n = 422] frente a $10,2 \pm 0,19$ mm [n = 284]) en comparación con las vacas no preñadas.

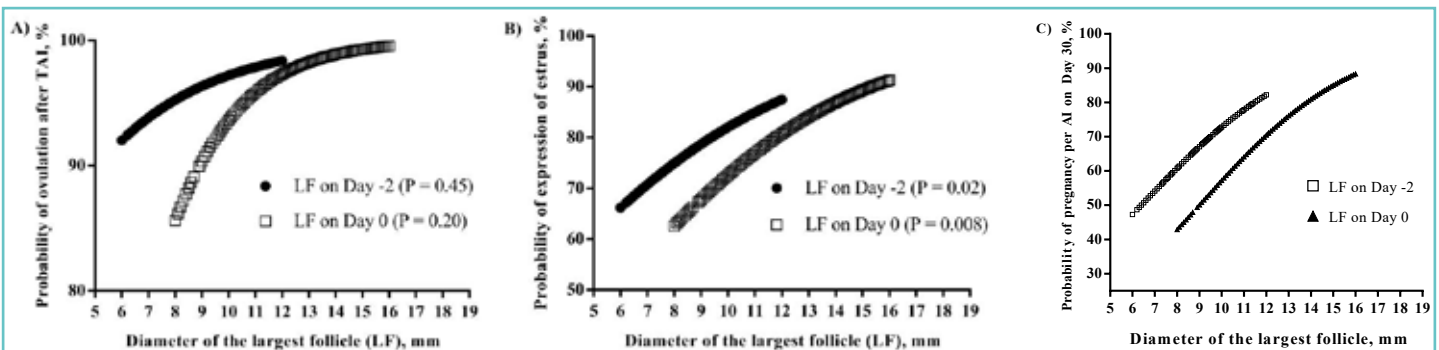


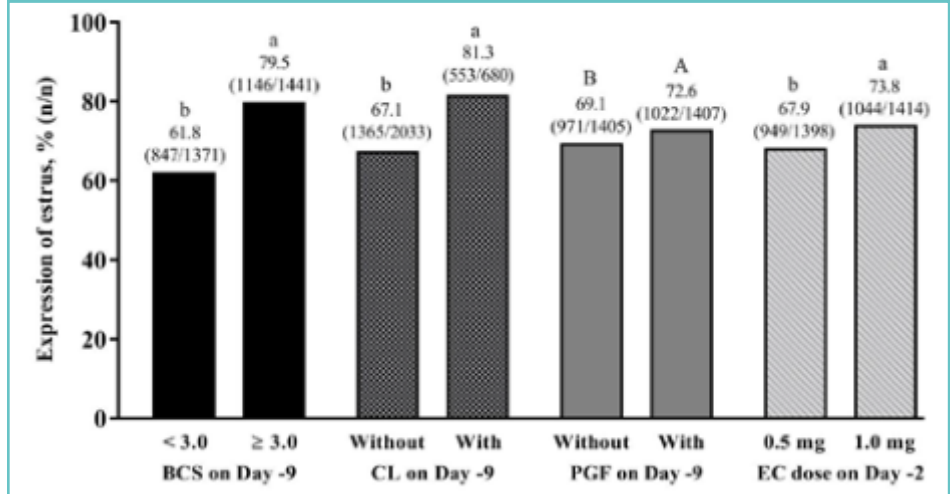
Figura 2. Probabilidad de ovulación después de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF; Panel A; n = 110), expresión de estro (Panel B; n = 366) y preñez por IA (P/IA) el Día 30 (Panel C; n = 366) en función del diámetro del folículo más grande (LF) el Día -2 y en el momento de la IA en vacas sometidas a protocolos de IATF basados en estradiol/progesterona. Ovulación después de IA = $0,7823 + 0,2772 \cdot$ diámetro del LF en el Día -2 ($P = 0,45$). Ovulación después de IA = $-1,8356 + 0,4526 \cdot$ diámetro del LF en el Día 0 ($P = 0,20$). Expresión de estro = $-0,5999 + 0,212 \cdot$ diámetro del LF en el Día -2 ($P = 0,02$). Expresión de estro = $-1,3232 + 0,2299 \cdot$ diámetro del LF en D0 ($P = 0,008$). P/IA = $-1,7473 + 0,2732 \cdot$ diámetro del LF en el Día -2 ($P = 0,0008$). P/IA = $-2,5984 + 0,289 \cdot$ diámetro del LF en el Día 0 ($P = 0,0002$).

Expresión del estro (en el momento de la IATF)

En general, el celo se detectó en el 70,9% (1993/2812) de las vacas y las multíparas expresaron más celo ($P < 0,001$) que las vacas primíparas (76,9 vs. 59,1%). Como se muestra en la Fig. 3, $BCS \geq 3,0$ y la presencia de CL en el Día -9 aumentó ($P < 0,001$) la expresión de estro y las vacas que se trataron con 1,0 mg de EC expresaron más estro que las vacas que recibieron 0,5 mg. El tratamiento con PGF el día -9 tendió ($P = 0,07$) a aumentar la expresión del estro (Fig. 3), sin embargo, no interactuó ($P = 0,28$) con la presencia de CL el día -9 (vacas con CL: con PGF = 83,6 vs sin PGF = 78,6%; vacas sin CL: con PGF = 68,4 [676/989] vs sin PGF = 66,0%).

Hubo interacciones para la expresión del estro con la paridad y otros factores, como la presencia de CL o BCS el día -9, el tratamiento con PGF el día -9 y la dosis de EC el día -2, como se muestra en la Tabla 3. La presencia de

Figura 3. Expresión de estro en vacas sometidas a protocolos de IATF basados en estradiol/progesterona basados en la puntuación de condición corporal (BCS) y la presencia de cuerpo lúteo (CL) el día -9, tratamiento con cloprostenol sódico (PGF) el día -9 y dosis de cipionato de estradiol (EC) en el momento de la retirada del DIB de progesterona (día -2). a,b Hubo efectos de BCS ($P < 0,001$), presencia de CL en el Día -9 ($P < 0,001$) y dosis de EC en el Día -2 ($P = 0,002$). A,B Hubo una tendencia a los efectos de PGF en el Día -9 ($P = 0,07$).



CL al inicio del protocolo aumentó la expresión de estro tanto en vacas primíparas como multíparas, pero el efecto fue mucho mayor ($P = 0,04$) en primíparas (32,6% de aumento) que en vacas

multíparas (12,3% de aumento). Además, el $BCS \geq 3,0$ dio como resultado una mayor expresión de estro ($P < 0,05$) en vacas multíparas y tendió a aumentar la expresión de estro ($P = 0,10$) en

PAISAGRO

Productos para el campo Veterinarios Colombiano





"Productos Veterinarios"
Un gran equipo al servicio del campo

Encuentre una amplia línea de productos para ganadería, Medicamentos, Biológicos (vacunas), sales y minerales.

Bogotá
Pereira

Tel: (601) 212 4715
Tel: (606) 323 6030

Avenida Cra 30 #70 -58/Cra 29c #70 - 59
Kilometro 7 Vía Pereira - Cerritos

Tabla 3. Expresión de estro (%) de vacas multíparas y primíparas sometidas a protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a base de estradiol/progesterona basados en la presencia de cuerpo lúteo (CL) el Día -9, tratamiento con cloprostenol sódico (PGF) el Día -9, puntuación de condición corporal (BCS) el Día -9 y dosis de cipionato de estradiol (EC) el Día -2.

Variable	Expresión de estro, % (n/n)				Valor de P		
	Primíparas		Multíparas		Paridad	CL	Paridad × CL
CL el día -9	Sin	Con	Sin	Con			
	56,4 ^b (436/773)	74,8 ^a (95/127)	73,7 ^b (929/1260)	82,8 ^a (458/553)	<0,001	<0,001	0,04
PGF el día -9	Sin	Con	Sin	Con	Paridad	PGF	Paridad × PGF
	58,6 (290/495)	59,6 (268/450)	74,8 (681/910)	78,8 (754/957)	<0,001	0,07	0,13
BCS el día -9	<3,0	≥ 3,0	<3,0	≥ 3,0	Paridad	BCS	Paridad × BCS
	53,8 ^y (272/506)	65,1 ^x (286/439)	66,5 ^y (575/865)	85,8 ^x (860/1002)	<0,001	<0,001	<0,001
Dosis de EC en el día -2	0,5 mg	1,0 mg	0,5 mg	1,0 mg	Paridad	EC	Paridad × CE
	58,4 (289/495)	59,8 (269/450)	73,1 (660/903)	80,4 (775/964)	<0,001	0,002	0,08

^{a,b} Efecto de CL en el día -9 dentro de la paridad (P < 0,05),
^{x,y} Efecto de BCS en el día -9 dentro de la paridad (P < 0,05),
^{x,y} Efecto de BCS en el día -9 dentro de la paridad (P = 0,10),

Figura 4. La preñez por inseminación artificial (P/IA) determinada 30 días después de la IA de vacas sometidas a protocolos de IA a tiempo fijo (IATF) a base de estradiol/progesterona, con o sin cloprostenol sódico (PGF) el día -9, usando 0,5 o 1,0 mg de cipionato de estradiol (EC) en el momento de la eliminación del DIB de progesterona (día -2), y con o sin acetato de buserelina (GnRH) en IATF. a,b Diferencia entre vacas que recibieron 1,0 frente a 0,5 mg de CE el día -2 (P = 0,05), y recibieron o no GnRH en el momento de la IA (P < 0,001). No hay diferencias entre el tratamiento con PGF el día -9 (con o sin PGF; P = 0,4).

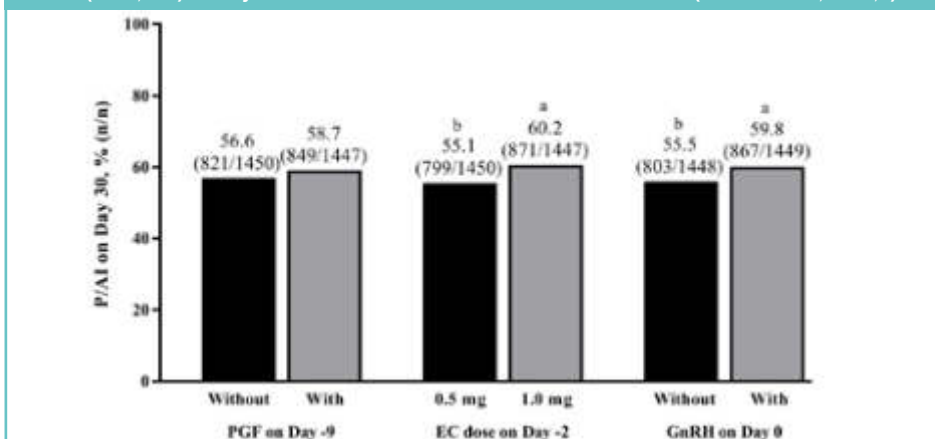
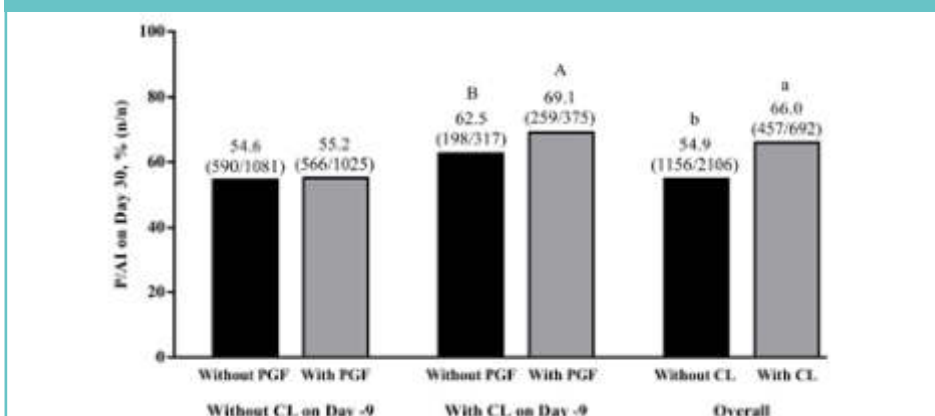


Figura 5. La preñez por inseminación artificial (P/IA) determinada 30 días después de la IA en vacas sometidas a protocolos de IA a tiempo fijo (IATF) basados en estradiol/progesterona basados en la presencia de corpus luteum (CL) el Día -9 del protocolo, y recibiendo o no cloprostenol sódico (PGF). a,b Efecto de la presencia de CL en el día -9 (P < 0,001). A,B Efecto de la administración de PGF en el día -9, considerando vacas con CL (P = 0,07)



vacas primíparas. Hubo una tendencia a una interacción (P = 0,08) de la dosis de EC en el Día -2 con paridad, indicada por la observación de que 1,0 mg de EC aumentó (P < 0,001) la expresión de estro en vacas multíparas, pero no (P = 0,4) en vacas primíparas (Tabla 3).

Preñez por IA el día 30 y el día 60

El P/IA general el día 30 fue del 57,6% y el día 60 fue del 53,2%. En general, la pérdida de preñez entre los días 30 y 60 fue del 4,9% y no se vio afectada por los tratamientos experimentales. El P/IA en el día 30 fue mayor (P = 0,05) en la primera IATF en comparación con los protocolos de resincronización (58,9 vs. 54,9%).

Los principales efectos de los tratamientos sobre la P/IA se representan en la Fig. 4. El tratamiento con PGF el día -9 no influyó en la P/IA (P = 0,4). Sin embargo, 1,0 mg de EC aumentó la P/IA (P = 0,05). Además, P/IA fue mayor (P < 0,001) cuando las vacas fueron tratadas con GnRH en el Día 0.

La P/IA en el día 30 para cada grupo experimental fue: PGF0-EC0,5-G0 (50,0), PGF0-EC0,5-G1 (57,0), PGF1-EC0,5-G0 (52,6), PGF1-EC0,5-G1 (60,8), PGF0-EC1,0-G0 (59,4), PGF0-EC1,0-G1 (60,1), PGF1-EC1,0-G0 (59,8) y PGF1-EC1,0-G1 (61,4).

Las vacas que expresaron celo tuvieron una fertilidad mayor (P < 0,001) que las vacas no detectadas en celo (62,5 vs. 45,1%). La presencia de CL en el día -9 se asoció con un aumento (P = 0,001) de P/IA, y el PGF tendió (P = 0,07) a aumentar la P/IA solo en vacas con CL en el día -9 (Fig. 5).

No hubo interacciones (P = 0,79) de la dosis de EC el Día -2 (0,5 o 1,0 mg) y BCS el Día -9 en P/IA (Fig. 6); sin embargo, las vacas con BCS ≥ 3,0 tuvieron mayor (P = 0,002) P/IA que las vacas con BCS < 3,0 (62,2 vs. 52,9%). Además, no hubo interacción (P = 0,26) entre la paridad (primíparas o multíparas) y la dosis de EC (Fig. 6) en P/IA, pero las vacas multíparas tuvieron mayor (P < 0,001) P/IA que las vacas primíparas (63,5 vs. 45,8%).

Hubo interacciones para P/IA con el tratamiento con GnRH el día 0 y otros factores, como BCS el día -9,

Figura 6. La preñez por inseminación artificial (P/IA) determinada 30 días después de la IA en vacas sometidas a protocolos de IA cronometrada (IATF) dos basados en estradiol/progesterona basados en la puntuación de condición corporal (BCS) en el Día -9, paridad y dosis de cipionato de estradiol (EC) en el momento de la eliminación del DIB de progesterona (Día -2).

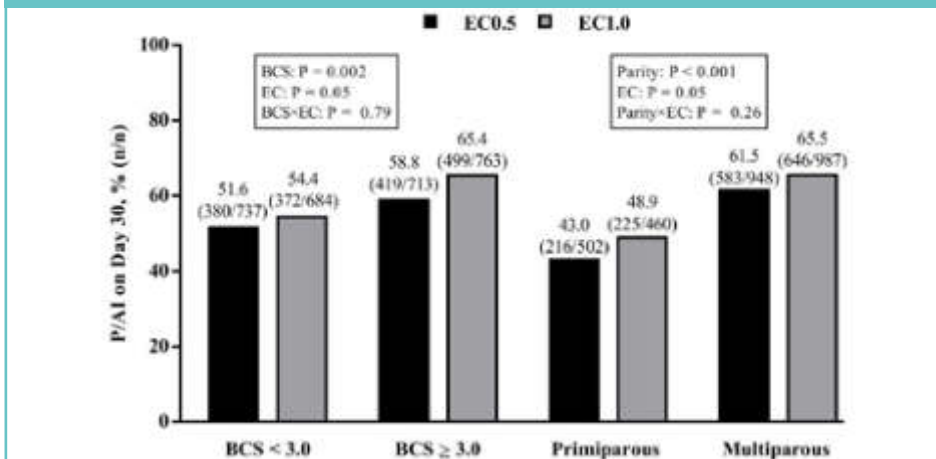


Tabla 4. La preñez por IA (P/IA) determinada al día 30 para vacas sometidas a protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) basados en estradiol/progesterona basados en la puntuación de afección corporal (BCS) en el Día -9, paridad, dosis de cipionato de estradiol (EC) en el Día -2, expresión de estro y tratamiento con GnRH en el momento de la IA (Día 0).

Variable	Tratamiento con GnRH ¹		Valor P*		
	Sin	Con	T	V	T×V
BCS el día -9					
<3,0	48,6 ^b (339/698)	57,1 ^a (413/723)	0,001	0,002	0,05
≥ 3,0	61,9 (464/750)	62,5 (454/726)			
Paridad					
Primíparas	41,9 ^b (208/497)	50,1 ^a (233/465)	0,001	<0,001	0,05
Múltiparas	62,6 (595/951)	64,4 (634/984)			
Dosis de EC en el día -2					
0,5 mg	51,3 ^b (373/727)	58,9 ^a (426/723)	0,001	0,05	0,1
1,0 mg	59,6 (430/721)	60,7 (441/726)			
Expresión del estro (entidad observable)					
Sin	38,1 ^b (160/420)	52,7 ^a (207/393)	0,001	<0,001	0,003
Con	62,4 (607/972)	62,5 (628/1004)			

¹ El tratamiento fue GnRH en el momento de la IA (con o sin).

* T= Efecto del tratamiento con GnRH; V= efecto variable; T×V= tratamiento por interacción variable.

paridad y expresión de estro, como se muestra en la **Tabla 4**. El tratamiento con GnRH el día 0 aumentó (P < 0,001) P/IA en vacas con BCS < 3,0, pero no hubo diferencia (P = 0,11) en vacas con BCS ≥ 3,0. Además, el tratamiento con GnRH en el Día 0 aumentó (P = 0,003) P/IA en primíparas pero no cambió P/IA en vacas múltiparas. Además, las vacas que no expresaron estro tuvieron mayor (P < 0,01) P/IA cuando se administró GnRH en el Día 0, pero no se observó ningún efecto (P = 0,46) de GnRH en las vacas que expresaron estro.

La **Tabla 4** también muestra una tendencia (P = 0,10) para una interacción sobre la P/IA determinada el día 30 entre la dosis de EC en el Día -2 y GnRH en el Día 0. Por lo tanto, GnRH en el Día 0 aumentó (P < 0,001) P/IA en vacas que recibieron 0,5 mg de EC en el Día -2, pero no influyó en P/IA en vacas que recibieron 1,0 mg de EC.

Cuando sólo las vacas que ovularon después de IATF se incluyeron en el análisis de P/IA en el Día 30, no hubo efecto (P = 0,44) del tratamiento con GnRH en IATF ni interacción (P = 0,84) entre este factor y la expresión de estro (vacas sin

expresión de estro = 55,4 vs. 53,9%; vacas con expresión de estro = 67,4 vs. 62,8%, con y sin GnRH, respectivamente).

Discusión

Con un alto número de vacas para la evaluación de la fertilidad y la dinámica ovárica, este estudio muestra la importancia de los ajustes en los tratamientos hormonales dentro de los protocolos de IATF y describe las interacciones de estos ajustes con varias variables, como la paridad, BCS, expresión del estro, estado de ciclicidad y ovulación después de la IA. Además, este estudio ha demostrado que la P/IA se puede mejorar en > 10 puntos porcentuales cuando se administran tratamientos optimizados en lugar de usar el protocolo tradicional (sin PGF en el día -9, 0,5 mg EC en el día -2 y sin GnRH en la IA).

Más vacas con mayor BCS y con CL al inicio del protocolo IATF expresaron estro y posteriormente tuvieron mayor P/IA. Es bien sabido que la reanudación de la ciclicidad se ve afectada por muchos factores, incluidos el estado nutricional, la lactancia, la paridad, el cambio en el peso corporal después del parto y el BCS, y también que estos factores pueden afectar el rendimiento reproductivo. Nuestros resultados corroboran los datos reportados por Ayres et al., que describieron un menor porcentaje de vacas con CL al inicio de un protocolo de sincronización (42 días después del parto) cuando el BCS fue < 3,0, en comparación con vacas con BCS > 3,0 (33,8 vs. 43,4%). En el presente estudio, más vacas con mayor BCS tuvieron CL en el Día 0, y esto se asoció con una mayor expresión de estro y P/IA, confirmando informes previos que describieron una reanudación más temprana de la ciclicidad y un mejor rendimiento reproductivo cuando las vacas de carne aumentaron de peso o perdieron menos BCS en el período posparto y tuvieron mayor BCS al inicio del protocolo.

Como se informó anteriormente, las vacas primíparas de razas de carne tienen períodos postparto más largo y una fertilidad más baja que las vacas múltiparas. En nuestro estudio, un mayor porcentaje de vacas múltiparas tuvo una CL al inicio del protocolo en comparación con vacas primíparas, lo que concuerda con los resultados de Dimmick et al., que

describió un intervalo más largo entre el parto y la primera ovulación en vacas primíparas que en vacas multíparas (112 vs. 46 d). *Guedon et al.*, también informaron que la primera ovulación posparto se produjo antes en vacas de razas de carne multíparas que primíparas (7,7 frente a 9,9 semanas).

En nuestro estudio, el diámetro del LF en la eliminación del dispositivo P4 y en la IA influyó en la expresión del estro, la incidencia de ovulación y la P/IA, como se observó anteriormente. Pueden ocurrir varios impactos negativos en los resultados reproductivos al reducir el tamaño del folículo ovulatorio, como menor circulación de E2 durante el proestro [que conduce a un entorno inapropiado en el útero y el oviducto, disminución de la expresión del estro, menos ovulaciones después de IATF, desarrollo de CL más pequeño con menor secreción de P4 y peor P/IA. De hecho, *Vasconcelos et al.*, generaron folículos ovulatorios más pequeños en las vacas *Holstein* y observaron menor E2 circulante antes de la ovulación, menor volumen de CL y menos concentraciones de P4 circulante en el siguiente diestro, así como menor fertilidad/IA en comparación con las vacas con folículos ovulatorios más grandes.

En el presente estudio, las vacas multíparas con mayor BCS tuvieron folículos más grandes en los días -2 y 0 que las vacas con menor BCS y todas las vacas primíparas, lo que resultó en una mayor expresión de estro, ovulación después de IA y P/IA. Estos resultados son consistentes con hallazgos previos, que describieron una mayor probabilidad de expresión de estro y P/IA cuando las vacas tenían folículos más grandes antes de IATF. A pesar de los folículos más grandes antes de IATF, la probabilidad de ovulación después de IATF no se vio afectada por el diámetro del folículo en los días -2 y 0. La falta de diferencia en la respuesta ovulatoria puede haber ocurrido porque los límites para el diámetro del folículo que utilizamos durante estos estudios excluyeron a las vacas con folículos demasiados pequeños que tienen menos probabilidades de ovular. Además, incluso sin efectos sobre la probabilidad de ovulación en función del diámetro folicular, las vacas que ovularon

después de IATF tuvieron folículos más grandes en los días -2 y 0, lo que confirma el efecto positivo del diámetro folicular sobre la posibilidad de ovulación. El impacto de las clases de paridad y BCS en P/IA puede explicarse por las diferencias en el estado de ciclicidad al inicio del protocolo IATF y las diferencias posteriores en el diámetro de los folículos ovulatorios y la expresión del estro.

Una de las ventajas de usar protocolos IATF basados en E2/P4 es que estos protocolos pueden inducir ciclicidad en vacas anovulares posparto. La presencia del DIB P4, que proporciona concentraciones subluteales de P4 (*vacas sin CL*), conduce a un aumento de la frecuencia del pulso de LH, estimulando el crecimiento folicular en animales antrópicos y la ovulación al final del protocolo.

En el presente estudio, el porcentaje de vacas con CL fue mayor al inicio del protocolo de resincronización que al inicio del primer protocolo IATF. Sin embargo, la observación de que la mayoría de las vacas no tenían una CL al inicio del protocolo de resincronización (61,2%), especialmente vacas primíparas (76,4%), indica que las vacas permanecen en una condición anovular incluso después de la fase lútea que sigue a la inducción de la ovulación después de un protocolo IATF.

Por lo tanto, el uso de estrategias para la resincronización de la ovulación utilizando protocolos IATF que inducen la ovulación puede ser particularmente importante durante los programas reproductivos para el ganado vacuno, con el fin de aumentar el número de reproducciones que ocurren en comparación con el uso de toros solamente para la reanimación y, por lo tanto, aumentar el porcentaje de vacas preñadas al principio de la temporada de reproducción.

La ovulación al final del protocolo es obviamente un determinante crítico de la fertilidad en los programas de IATF. Todos los protocolos en el presente estudio generaron grandes porcentajes de ovulación después de la IA (89,7%), consistente con estudios previos que informaron una ovulación final que oscilaba entre el 80 y el 94%. La probabilidad de ovulación fue mayor en las vacas tratadas con GnRH en el momento de la IA que en los controles, lo que explica por qué la GnRH mejoró la fertilidad

en el estudio. Además, muchos de los otros factores que mejoraron la P/IA también aumentaron el porcentaje de vacas ovulando al protocolo, como la presencia de CL en el día -9, BCS en el día -9 y la expresión de estro al final del protocolo IATF. Otra observación fue la incidencia de doble ovulación del 8,8% encontrada en nuestro experimento, similar al 8,0% reportado en estudios previos utilizando vacas *Nelore* sometidas a protocolos IATF basados en E2/P4 con inserciones P4 mantenidas durante 7 días. Además, la pérdida total de la preñez fue del 4,9%, que es similar a lo que se ha informado previamente.

Las mayores concentraciones de P4 suprimen la frecuencia del pulso LH e impactan negativamente el crecimiento folicular, la eficiencia de la ovulación y la fertilidad en el ganado vacuno. *Carvalho et al.*, describieron concentraciones más bajas de P4 circulante en vaquillonas de razas de carne en ciclo que recibieron PGF el Día -9 de un protocolo IATF basado en E2/P4, lo que resultó en un mayor diámetro del folículo dominante y una mayor incidencia de ovulación al final del protocolo (78,8 vs. 54,0%).

Por lo tanto, nuestra primera hipótesis se basó en la idea de que la administración de PGF al inicio del protocolo induciría la luteólisis en vacas cíclicas, lo que resultaría en un mayor diámetro folicular y mejores resultados de fertilidad. Esta hipótesis fue parcialmente respaldada ya que más vacas retrocedieron su CL (*cuando estaban presentes en el Día -9*) si se trataban con PGF y hubo una tendencia a un efecto de PGF en el Día -9 en la expresión del estro, aunque no se detectaron efectos en P/IA o en el diámetro del folículo.

Por el contrario, considerando solo las vacas que tenían CL al inicio del protocolo IATF, el tratamiento con PGF tendió a aumentar la P/IA (69.1 vs. 62.5%). Este resultado puede explicarse parcialmente por la alta proporción de vacas sin CL al inicio del protocolo (>70%). *Sá Filho et al.*, tampoco detectaron diferencias en el diámetro del folículo, la incidencia de ovulación y la P/IA entre las vaquillonas *Nelore* que estaban ciclando que recibieron o no PGF en el primer día de un protocolo IATF basado en E2/P4. Además, *Surjus et al.*, no detectaron ningún efecto

sobre la expresión de estro o *P/IA* en vaquillonas *Nelore* tratadas o no con *PGF* en el primer día de un protocolo *IATF* basado en *E2/P4*. Sin embargo, *Dadarwal et al.*, informaron folículos más grandes en el momento de la *IA* y mayor *P/IA* en vacas *Hereford* y vaquillonas puberales que recibieron *PGF* al inicio del protocolo de sincronización.

La expresión del estro antes de la *IA* se asocia con una mayor *P/IA* tanto en vacas primíparas como multíparas. Las concentraciones suficientes de *E2* para iniciar el estro están relacionadas con la probabilidad de ovulación, ya que el *E2* elevado, en ausencia de *P4*, induce un aumento de *GnRH* y un aumento posterior de *LH*, esenciales para la ovulación. En los protocolos de *IATF*, se pueden usar diferentes inductores de ovulación con resultados similares para la sincronización de la ovulación, la expresión del estro y la *P/IA*, y se han probado algunos ajustes en términos de tipo y dosis de inductores. *Torres-Júnior et al.*, compararon dos inductores de ovulación (0,5 o 1,0 mg de *EC*, administrados en el momento de la extracción del *DIB P4*, y *EB*, administrado 24 h después) en vacas *Nelore* sometidas a un protocolo *IATF* basado en *E2/P4* con *DIB P4* mantenido durante 8 días, y no informaron diferencias en el diámetro del folículo (24 h después de la eliminación del *DIB P4*) o porcentaje de vacas que ovulan a los protocolos. Además, 1,0 mg de *EC* dio como resultado un intervalo más corto para la ovulación que 0,5 mg (71,1 ± 3,6 vs. 78,0 ± 3,5 h), una mejor sincronización de la ovulación (ovulación en un intervalo de tiempo más corto) y mayor *P/IA*.

Por el contrario, como se mencionó anteriormente, *Bosolasco et al.*, utilizando un protocolo *IATF* basado en *E2/P4* con *DIB P4* mantenido durante 7 días, informaron una mayor *P/IA* en vacas *Hereford* y *Angus* cruzadas multíparas posparto cuando se administraron 0,5 mg de *EC* en comparación con 1,0 mg de *EC*. Además, en el mismo estudio, los autores informaron un intervalo de ovulación más corto para 1,0 en comparación con 0,5 mg de *EC* (58,7 ± 2,7 vs. 66,7 ± 2,5 h) y una interacción entre la dosis de *EC* y el tiempo de inseminación en *P/IA*. Cuando se administró 1,0 mg de *EC*, *P/IA* fue mayor si *IATF* se realizó 46-50 h después de la

extracción del *DIB P4* en comparación con 52-56 h (54,0 vs. 46,7%).

En este contexto, nuestra segunda hipótesis fue que el tratamiento de las vacas con 1,0 mg de *CE* y la inseminación 48 h después de la retirada del *DIB P4* aumentaría la expresión de estro y *P/IA*, reduciendo el requisito de *GnRH* en el momento de la *IA*. De hecho, 1,0 mg de *EC* aumentó la expresión de celo (73,8%) y *P/IA* en el día 30 (60,2%), con resultados similares en la fertilidad en comparación con las vacas que recibieron *GnRH*, lo que respalda nuestra hipótesis. Sin embargo, una dosis más alta de *EC* no alteró ni el diámetro del *LF* en el momento de la *IA* ni la frecuencia de ovulación, lo que concuerda con los resultados de *Torres-Júnior et al.* Por lo tanto, en el presente estudio, 1,0 mg de *EC* puede haber promovido una ovulación más sincronizada (en un período más corto), debido a una mayor estimulación del aumento de *LH* pre-ovulatorio. Además, la mayor dosis farmacológica de *E2* probablemente produjo un ambiente uterino más adecuado después de *IATF*, proporcionando un mejor apoyo para la fertilización y el desarrollo temprano del embrión.

Nuestra tercera hipótesis fue respaldada porque el tratamiento simultáneo con *GnRH* en *IATF* aumentó la *P/IA* general. Además, dado que la *GnRH* aumentó la *P/IA* de las vacas que no expresaron estro en el momento de la *IA*, este tratamiento mejoró la fertilidad de los grupos de vacas que no expresaron estro, como primíparas, vacas más delgadas y vacas tratadas con 0,5 en lugar de 1,0 mg de *EC* en el Día -2. Estos resultados podrían justificarse por un aumento de la ovulación después de la *IA* (sin *GnRH*: 87,2 frente a con *GnRH*: 92,1%), especialmente en vacas sin expresión de estro (sin *GnRH*: 71,2 frente a con *GnRH*: 83,6). Además, aunque no se evalúa en el presente estudio, es muy probable que el tratamiento con *GnRH* proporcionara una mejor sincronización de la ovulación, evitando una aparición retardada de un aumento espontáneo de *LH*, optimizando el tiempo de *IATF* en relación con la ovulación.

Con esto en mente, realizamos un análisis utilizando solo vacas que ovularon después de *IATF*, en el que no

hubo efecto del tratamiento con *GnRH* en *IATF* ni interacción entre este factor y la expresión de estro (vacas sin expresión de estro = 55,4 vs. 53,9% vacas con expresión de estro = 67,4 vs. 62,8%, con y sin *GnRH*, respectivamente). Además, posiblemente debido a la disminución en el número de animales en este análisis, tampoco se detectó el efecto de la expresión de estro en *P/IA*, a pesar de 11 puntos porcentuales mayor *P/IA* en vacas que expresan estro. De manera similar, dos estudios recientes de nuestro laboratorio informaron mejores resultados de fertilidad cuando se incluyó el tratamiento con *GnRH* en el momento de la *IA*. *Madureira et al.*, después de someter a las vacas *Nelore* a protocolos *IATF* con *DIB P4* mantenido durante 7 días, informaron que el tratamiento con *GnRH* en *IATF* mejoró la *P/IA* de las vacas que no expresaron estro en el momento de la *IA* (59.1 vs. 48.2%). *Prata et al.*, compararon la duración del protocolo en vacas *Nelore* y el tratamiento o no con *GnRH* en *IATF*. La duración del protocolo no influyó en la *P/IA*, pero el tratamiento con *GnRH* tuvo un efecto positivo sobre la fertilidad. En el *experimento 1*, la *GnRH* tendió a aumentar la *P/IA* general de las vacas que no expresaban estro, aunque en el *experimento 2* esta tendencia se encontró solo en las vacas que expresaban estro, contrastando con nuestros hallazgos, ya que no encontramos un efecto del tratamiento con *GnRH* en la *P/IA* en las vacas que expresaban estro.

En conclusión, los folículos más grandes en el momento de la extracción del *DIB P4* y en *IATF* se asociaron con una mayor expresión de estro, probabilidad de ovulación y *P/IA*. El tratamiento con *PGF* al inicio de los protocolos *IATF* tiene un beneficio potencial en los resultados de fertilidad en vacas con *CL*. La administración de 1,0 de *CE* en la retirada del *DIB P4* mejoró la expresión de celo y *P/IA*, reduciendo la necesidad de tratamiento con *GnRH* en *IATF*. Finalmente, la *GnRH* en el momento de la *IA* mejoró la *P/IA*, especialmente en vacas que no expresaron estro, como vacas primíparas más delgadas (*BCS* < 3,0) y vacas tratadas con 0,5 mg de *EC*. 6

***Autor para correspondencia.**
robertosartori@usp.br