

PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES A TIEMPO FIJO

G.A. Bo¹, I. Cutaia¹, P.S. Baruselli²

¹ Instituto de Reproducción Animal Córdoba, J.L. de Cabrera 106, X5000GVD Córdoba y Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba, Argentina

² Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP - Rua Prof. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil
e-mail: gabrielbo@iracbiogen.com.ar

INTRODUCCIÓN

La Inseminación Artificial (IA) y la Transferencia de Embriones (TE) son las técnicas reproductivas de mayor impacto en la producción ganadera. Sin embargo, la necesidad de observar celo dos veces por día sin importar las condiciones climáticas, época del año, feriados o vacaciones y otras actividades que debe hacer el personal en una explotación ganadera, hacen que se pierda eficiencia en esta actividad rutinaria y se comprometa considerablemente la productividad del sistema. La modificación de los ciclos para que todas las hembras presenten celo en un período breve de tiempo es el objetivo que ha estimulado el desarrollo de numerosas líneas de investigación por muchos años. La utilización de la ultrasonografía para estudiar el efecto de distintos tratamientos hormonales sobre la dinámica folicular en el bovino llevó al desarrollo de protocolos que permiten manipular eficientemente el ciclo estral y la ovulación. Existen hoy numerosos protocolos de sincronización de celos y ovulaciones y cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas. Por esto el médico veterinario debe tener un conocimiento profundo de la fisiología reproductiva del bovino para determinar cuál es el método más adecuado para los distintos ambientes y animales con los que debe trabajar. El presente trabajo tiene por objeto hacer una síntesis de los tratamientos disponibles para sincronizar la ovulación para programas de IA y TE en el ganado bovino.

SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y DE LA OVULACIÓN PARA PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL

Debido a la dificultad de la detección de celos, muchos grupos de investigación iniciaron estudios con el objetivo de sincronizar la ovulación y desarrollar de esta manera protocolos que permitan realizar la IATF con porcentajes de concepción aceptables. En esta parte presentaremos estos protocolos y los resultados de campo más significativos.

SINCRONIZACIÓN CON PGF

La PGF y sus análogos son ampliamente empleados con la finalidad de sincronizar las manifestaciones de celo del ganado bovino. La PGF causa la regresión del CL a partir del Día 5 del ciclo estral y su efecto luteolítico es máximo entre los Días 12 y 17⁽⁶⁰⁾. Sin embargo, el estadio del folículo dominante en el momento de la aplicación de la PGF va a producir una variación del momento del celo y la ovulación de 2 a 7 d⁽⁴⁴⁾. Además, aún cuando se confirma la presencia de un CL al momento del tratamiento, la respuesta estral del ganado *Bos indicus* es aproximadamente un 30% menor que el 90% reportado para ganado *Bos taurus*⁽⁴⁰⁾. Estas características fisiológicas, sumadas

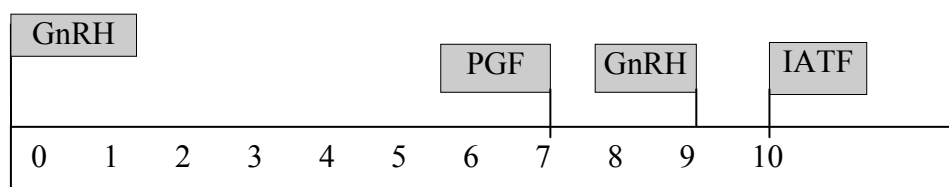
a la dificultad de la detección de celos en el *Bos indicus* explican los variables porcentajes de animales en celo, con índices menores al 50% ^(28,41,52) y mayores al 70% ^(46,61). Teóricamente, las dos aplicaciones de PGF con intervalos de 11 a 14 d son efectivas cuando hay una gran proporción de hembras ciclando, pero cuando hay hembras en anestro, condición bastante común en animales en pastoreo en zonas tropicales, hay bajos índices de sincronización y tasa de preñez ^(30, 45, 52).

SINCRONIZACIÓN CON GNRH/PGF/GNRH, TRATAMIENTOS “OVSYNCH”

Hace ya un tiempo, se diseñó en Estados Unidos un protocolo conocido como Ovsynch, cuya meta principal era disminuir la variación entre los animales en el momento de la ovulación luego del tratamiento con PGF ⁽⁶³⁾. Este protocolo utiliza análogos de GnRH, seguido de la aplicación de PGF luego de 7 d, una segunda GnRH a las 48 h de la PGF y se realiza la IATF a las 15 a 24 h de la segunda GnRH. La primera GnRH causa un pico de LH (2 h después) y esta a su vez provoca la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, surgiendo una nueva onda de crecimiento folicular 2 a 3 d después ^(50, 63). La PGF a los 7 d lisa el CL y la segunda GnRH sincroniza la ovulación ⁽⁶³⁾. Las tasas de concepción varían entre 26 a 55% en ganado *Bos taurus* ⁽⁶⁷⁾.

Existen también trabajos que analizaron la respuesta al protocolo Ovsynch en cebuínos ^(4, 73). Este protocolo fue probado tanto en vacas lactantes como en no lactantes y las tasas de preñez después de la IATF fueron similares a las informadas para ganado *Bos taurus*, oscilando entre el 42 y 48% ^(4,73). También como ocurre en el *Bos taurus*, los resultados de preñez en vaquillonas han sido variables, con porcentajes de preñez que oscilan entre el 21% y el 43% ^(27,52,73).

Barros y col. ⁽⁵⁾, diseñaron un protocolo de IATF similar al Ovsynch, pero sustituyendo el segundo tratamiento de GnRH por 1 mg de benzoato de estradiol (EB) que se administra a las 24 h de la PGF. En este caso se realiza la IATF alrededor de 30 a 34 h después del EB. Este protocolo fue probado en 53 vacas Nelore lactantes (60 a 90 d pos parto) que estaban ciclando (confirmado por la presencia de un CL por palpación rectal) y resultó en una tasa de preñez del 43,3% ⁽³⁸⁾. Sin embargo, las tasas de preñez en vacas en anestro fueron del 14,9% en 67 vacas tratadas con el protocolo Ovsynch y 19,1% en 68 vacas tratadas con el Ovsynch+EB ⁽³⁸⁾. Por lo tanto, estos tratamientos no son efectivos en animales en anestro y deben ser utilizados solamente con altas tasas de ciclicidad, condiciones no siempre encontradas en establecimientos productores de carne y leche en los trópicos.



Días

Figura 1 - Esquema de tratamientos del protocolo Ovsynch.

SINCRONIZACIÓN CON PROGESTÁGENOS Y ESTRADIOL

Desde hace más de 40 años se ha tratado de utilizar la P4 para la sincronización de celos en el ganado bovino. Los animales recibían inyecciones diarias del esteroide en dosis variadas por períodos de hasta 20 d. Con el paso del tiempo fueron desarrollados

otros métodos de administración y otros compuestos similares a la P4, dentro de los cuales podemos citar los de administración oral como el acetato de melengestrol (MGA), los implantes subcutáneos de norgestomet y los dispositivos intravaginales con P4.

a. Sincronización con Norgestomet y Valerato de Estradiol

Los implantes de progestágenos que hay actualmente en el mercado (Crestar, Intervet) contienen 3 mg de norgestomet y son colocados en forma subcutánea en la oreja por un período de 9 ó 10 d. Junto con la inserción del implante, se coloca una solución oleosa por vía im que contiene 5 mg de valerato de estradiol (EV, un estrógeno de vida media larga) y 3 mg de norgestomet. La solución oleosa será abreviada de aquí en adelante como NEV. El propósito original del NEV era inducir la luteólisis con el EV y obtener altos niveles inmediatos de progestágeno con los 3 mg de norgestomet (74). Luego se descubrió que el EV inducía también, a través de la supresión de los folículos presentes, el desarrollo de una nueva onda folicular 3 a 8 d después (16).

Los trabajos que utilizaron implantes de norgestomet (+NEV) en bovinos demostraron que más del 90% de los animales manifiestan celo después de retirado el implante, con tasas de concepción (a la IA 12 h pos celo o la IATF 48 a 56 h de sacar el implante) del 33 al 68% (52,60). Las tasas de preñez más bajas estuvieron relacionadas con un alto porcentaje de animales en anestro y una baja condición corporal (43). En ganado *Bos indicus* se han encontrado resultados satisfactorios en vacas adultas sin cría pero muy variables en vacas con cría y vaquillonas. Se realizó un experimento donde se comparó las tasas de preñez en vaquillonas cruza *Bos indicus* x *Bos taurus* con el empleo del implante de Crestar, asociado a una inyección de NEV o EB+P4 en el Día 0 (8). Las vaquillonas del Grupo 1 recibieron un implante de Crestar y NEV im (Día 0). En el Día 8 se aplicó PGF y se sacaron los implantes en el Día 9. Las vaquillonas del Grupo 2 recibieron un Crestar y una inyección de 2 mg de EB + 50 mg de P4 en lugar del NEV (Día 0). En este caso los implantes fueron retirados en el Día 8, junto con la administración de PGF. Las IATF fueron realizadas alrededor de 54 h después de retirados los implantes en los dos grupos. La tasa de preñez fue superior ($P < 0,06$) cuando se empleó el EB (38,9%, 37/95) en lugar del NEV (29,9%, 25/93) en el inicio del tratamiento. Se ha especulado que la baja fertilidad en las vaquillonas tratadas con NEV puede ser causada por los altos y prolongados niveles circulantes de estradiol producidos por el NEV (7 d o más) versus el EB (2,5 a 3 d) que podrían inducir una supresión prolongada del desarrollo folicular (30,16,54). No obstante, esto no se ha observado en todos los rebaños de vaquillonas ni tampoco en vacas adultas. Obviamente, el menor tamaño corporal de algunas vaquillonas pueden hacer que las mismas se comporten diferente a las vacas en respuesta a los 5 mg de EV, por lo que se deberían evaluar dosis menores a 5 mg para algunas vaquillonas *Bos indicus* muy livianas. En trabajos recientes realizados con vaquillonas *Bos taurus*, la reducción de la dosis de EV a 1 ó 2 mg mejoró la sincronía y adelantó el comienzo de la nueva onda folicular, que en la mayoría de los animales comenzó a los 3 ó 4 d (51). Por último, la baja fertilidad no ha sido observada cuando se adicionó eCG en el momento de la remoción del implante en vaquillonas cruza *Bos indicus* tratadas con norgestomet+NEV por 9 d (45,53).

UTILIZACIÓN DE EB, ECG O GNRH EN LOS TRATAMIENTOS CON IMPLANTES DE NORGESTOMET

La aplicabilidad de los tratamientos con norgestomet+NEV en ganado *Bos indicus* requiere que se obtengan aceptables índices de preñez en protocolos de IATF. Se han informado resultados aceptables con IATF 48 a 56 h después del tratamiento clásico con el implante, pero también otros bajos (52,60) y se especuló que pueden estar

influenciados por variables intervalos entre la remoción del implante y la ovulación⁽³⁰⁾. Para evitar esta variabilidad se podría utilizar una inyección de GnRH a las 30 o 36 h de quitar el implante⁽⁷¹⁾ o 1 mg de EB a las 24 h de la remoción del implante⁽¹⁹⁾. Se realizaron dos experimentos con vacas con cría y vaquillonas cruce *Bos indicus*, en que todos los animales recibieron un implante Syncro-Mate-B (SMB, Merial) por 9 d y NEV en el Día 0. En el Día 10 la mitad recibió 1 mg de EB y la otra mitad no recibió ningún otro tratamiento (Control) y todos los animales fueron IATF a las 50-52 h pos SMB. El tratamiento con EB resultó en mayores índices de preñez en vacas con cría (56,7% [38/67] vs 39,1% [18/46]; $P < 0,05$), pero los resultados no fueron diferentes a los del Grupo Control en vaquillonas (36,5% [19/52] vs 34,4% [11/32]; $P > 0,05$).

Otra alternativa propuesta para sincronizar la ovulación es el uso de una dosis de eCG al final del tratamiento para estimular el desarrollo folicular^(19:30:43). El efecto de la eCG es distinto que el de la GnRH o el EB debido a que tiene un efecto estimulante del desarrollo folicular⁽⁵⁹⁾. Por lo tanto, estimulará el desarrollo final del folículo dominante y probablemente de esa manera sincroniza un poco la ovulación⁽³⁰⁾. Cavalieri y col.⁽³⁰⁾ informaron intervalos desde la remoción del implante hasta la ovulación de 60,8 a 82,5 h para las vacas tratadas con 400 UI de eCG y de 65,8 a 114,0 h para las no tratadas con eCG. En un experimento se trataron vacas cruce *Bos taurus x Bos indicus* con cría, con Crestar por 10 d y se comparó el uso de 500 UI de eCG en el momento de la remoción del Crestar o 1 mg de EB 24 h más tarde para sincronizar la ovulación⁽⁸⁾. La tasa de preñez, obtenida después de la IATF a las 54 h de la remoción del Crestar, fue mayor en las vacas del Grupo eCG (44,8% [30/67]; $P < 0,05$), mientras que la del Grupo EB sólo fue numéricamente (27,3% [18/66]), pero no significativamente, superior a las del Grupo Control (17,6% [12/68]). Estos resultados son indicativos de que la aplicación de EB no puede sustituir la aplicación de eCG en el tratamiento de sincronización con Crestar en vacas *Bos indicus* con cría al pie, cuando hay generalmente un alto porcentaje de vacas en anestro. Sin embargo, la sincronización de la ovulación con EB o GnRH podría ser útil en animales cíclicos y con buena condición corporal.

Otros trabajos han demostrado que el uso de eCG incrementa los porcentajes de preñez en vacas posparto con baja condición corporal^(43,58,65) pero no se han encontrado diferencias en vacas ciclando y con buena condición corporal^(21,22). Con respecto al uso de eCG en vaquillonas *Bos indicus*, se han encontrado diferencias significativas a favor de utilizar eCG y esta probablemente asociado a la presencia de animales prepuberes^(53:45:65).

También se realizaron dos experimentos con vacas cebuínas para evaluar el efecto de la asociación entre la estimulación del folículo dominante mediante con 400 UI de eCG cuando se quita el implante y la sincronización de la ovulación con 1 mg EB 24 h después^(8,19). Sumados los datos de los dos experimentos, los porcentajes de preñez no fueron diferentes, pero tendieron a ser numéricamente más bajos en los animales tratados con 400 UI de eCG en el momento de la remoción del implante y 1 mg de EB a las 24 h (43,4%, 69/159) que en los tratados sólo con eCG en el momento de la remoción (50,6%, 82/162). En el segundo experimento también se evaluó además la tasa de preñez en vacas tratadas con un Crestar reutilizado y una inyección de 2 mg de EB en lugar de los 5 mg de NEV en el Día 0 y en este caso los resultados favorecieron significativamente a las vacas tratadas con eCG+EB (53,9%, 40/63) que las tratadas sólo con eCG (31,6%, 19/60, $P < 0,05$)⁽⁸⁾. Estos resultados demuestran que la adición de 1 mg de EB a las 24 h del tratamiento con implantes de norgestomet por 9 d, más la inyección de NEV en el Día 0 y eCG a la remoción no aumenta los porcentajes de preñez. En cambio, los resultados son totalmente opuestos cuando se utiliza EB en lugar del NEV al comienzo del tratamiento. Nuevamente aquí se puede especular que la razón por la cual el NEV en el Día 0, más eCG y EB a la remoción del implante

puede producir niveles exageradamente altos de estrógenos y afectar la fertilización. Por el contrario, esto no ocurriría al asociar EB en el momento de la inserción del Crestar, que tiene una vida media mucho más corta que el EV y por lo tanto ya estaría totalmente metabolizado en el Día 9 y 10, cuando se administra la eCG y la segunda aplicación de EB. Alternativamente, se puede utilizar GnRH en lugar de EB para sincronizar la ovulación en vacas tratadas con NEV+eCG y evitar los efectos adversos de las altas concentraciones de estradiol en el momento de la IATF. En una prueba de campo se trataron 106 vacas con Crestar+NEV+eCG+GnRH y se obtuvo un 58,5% de preñez (62/106), mientras que de 49 vacas IATF con eCG pero sin GnRH resultaron preñadas 25 (51,0 %) ⁽²¹⁾. Estos resultados fueron confirmados recientemente en otro experimento donde las vacas tratadas con GnRH tuvieron una tasa de preñez del 48,0% (142/296), mientras que las no tratadas con GnRH tuvieron una tasa de preñez del 37,6% (114/303; $P < 0,05$; 66).

En uno de los experimentos descritos anteriormente ⁽⁸⁾ se evaluaron también las tasas de preñez en relación al biotipo animal, no encontrándose diferencias significativas entre las Nelore puras (63/137, 45,9%) y las Nelore x Simmental o Nelore x Angus (50/107, 46,7%). Por último este experimento tuvo también en cuenta la condición corporal de las vacas y se encontraron menores tasas preñez en las vacas con condición ≤ 3 (13/45, 28,8%) que las que tenían 3,5 (65/139, 46,7%) y las de ≥ 4 (35/60, 58,3%) y evidencian que si bien la eCG es especialmente útil en rodeos donde el porcentaje de anestro es alto, si la condición corporal es muy crítica los resultados son bajos ⁽⁴³⁾. Estos datos también concuerdan con otros resultados de campo, donde hemos obtenido porcentajes de preñez del 28,7 % en vacas Braford con cría, 60-90 d pos parto y pobre condición corporal (≤ 2 , escala del 1 al 5) y generalmente más de un 50 % de preñez en vacas con una condición corporal $\geq 2,5$ ⁽²¹⁾. En casos de rodeos con baja condición corporal el destete temporario (desde la remoción del implante hasta la IATF) es fundamental para aumentar el porcentaje de preñez y es aparentemente tan importante como la adición de eCG al retirar el implante ⁽⁶⁵⁾.

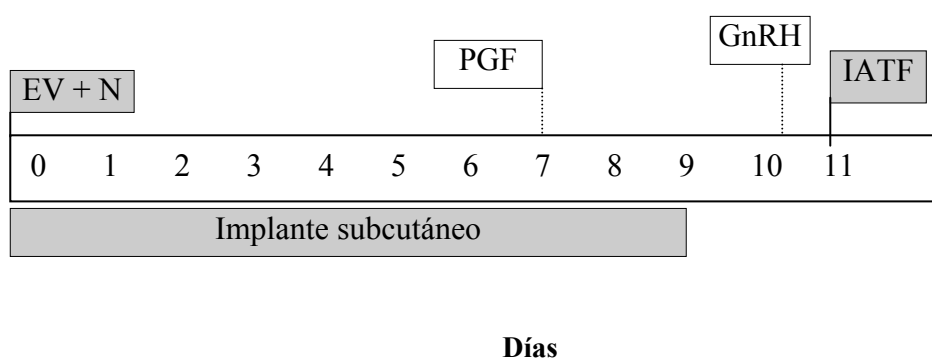


Figura 2 - Esquema de tratamientos con implantes con norgestomet (N). El tratamiento básico consiste en la inserción del implante por 9 d y se coloca 5 mg de valerato de estradiol (EV) y 3 mg de N en el momento de la inserción. Se realiza IATF a las 48 h de la remoción del implante en vaquillonas y a las 56 h en vacas. Variantes del tratamiento (indicadas con) incluyen la administración de PGF en el Día 7 o la sincronización de la ovulación con GnRH en el Día 10,5.

b. Sincronización con Progesterona, Benzoato de Estradiol y PGF

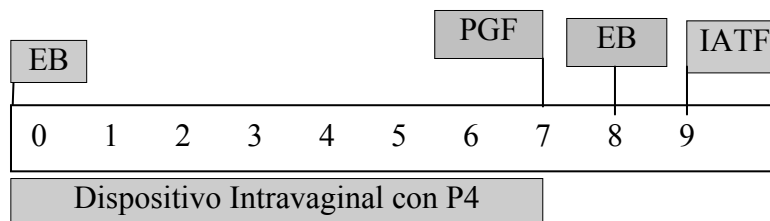
Existen actualmente en el mercado productos eficientes que liberan P4 y son colocados en la vagina por un período de 7 u 8 d ^(19,48). El tratamiento más utilizado en ganado

Bos indicus es igual al que se utiliza en ganado *Bos taurus* y consiste en administrar 2 mg de EB por vía im junto con la inserción del dispositivo (Día 0, para sincronizar el desarrollo folicular), remover el dispositivo y administrar PGF en el Día 7 (para inducir la luteólisis), y administrar 1 mg de EB en el Día 9 (para sincronizar la ovulación) (47). Se realiza la IATF entre las 52 y 56 h después de la remoción del dispositivo (32). Es necesario enfatizar que es fundamental la aplicación de estrógenos en el inicio del tratamiento para provocar la atresia de los folículos existentes e impedir de esta manera la formación de folículos persistentes que interfieren negativamente en la fertilidad (15). Como la atresia es seguida por el comienzo de una nueva onda folicular a los 4 d (15) se asegura de esta manera la presencia de un folículo nuevo y viable en el momento de retirar el dispositivo (18). Originalmente, el dispositivo era colocado en la vagina junto con una cápsula con 10 mg de EB, para inducir la regresión luteal y sincronizar el desarrollo folicular (48,64). Sin embargo desde el año 1996 se utiliza 2 mg de EB por vía im porque se demostró que la cápsula de EB no es efectiva para sincronizar el desarrollo folicular (17) y es menos eficaz que la PGF para inducir la luteólisis. Por último, la segunda administración de EB es fundamental para sincronizar la ovulación y obtener buenos índices de preñez a la IATF (23,34,32, 36).

Se han evaluado varios protocolos de sincronización con dispositivos con P4 en vacas y vaquillonas *Bos indicus*. En un experimento (32) se trataron vaquillonas cruce *Bos taurus* x *Bos indicus* con CIDR-B (1,9 g de P4, Pfizer Salud Animal) y 2 mg de EB más 50 mg de P4 en el Día 0. Se retiraron los CIDR-B en el Día 7 o Día 8 y todas las vaquillonas recibieron PGF cuando se sacaron los CIDR-B. Se administró 1 mg de EB a las 24 h de sacar el CIDR-B y se realizó la IATF entre las 52-54 h de retirado el CIDR-B. El porcentaje de preñez tendió ($P < 0,08$) a ser superior en el tratamiento de 8 d (54,1%, 40/74) que en el de 7 d (39,4%, 28/71) y sugieren que el tratamiento de 8 d podría ser más aconsejable que el de 7 d para vaquillonas *Bos indicus*. Otros experimentos (31) han dado diferencias numéricas en favor del tratamiento de 8 d (52,7% [77/146] vs 46,6 [71/146]). Sin embargo no se han encontrado diferencias significativas entre los 7 y 8 d en vaquillonas *Bos taurus* (32,19).

En teoría, la ventaja de un tratamiento de 8 d versus un tratamiento de 7 d es que en el tratamiento largo permitimos un mayor crecimiento del folículo dominante. Burke et al. (25) observaron en vacas *Bos taurus* en anestro que el folículo dominante debe tener más de 3 d desde su emergencia a la remoción del dispositivo con P4 (≥ 9 mm de diámetro) para ovular y formar un CL. Sin embargo, los autores observaron que en vaquillonas el folículo dominante puede tener un crecimiento compensatorio y llegar a ovular aunque sea más pequeño (25). Esto podría explicar por qué no hemos encontrado diferencias entre los tratamientos de 7 u 8 d en vaquillonas *Bos taurus*, pero también es posible que las vaquillonas *Bos indicus* se comporten como las vacas *Bos taurus* en anestro. En la práctica, nosotros creemos que es fundamental respetar los horarios, sobre todo el intervalo entre la inserción del dispositivo con P4 y la remoción del mismo. Si por diversas causas los tratamientos se terminan a la tarde del Día 0 y retiramos el dispositivo a la mañana temprano del Día 7, en realidad estamos retirando los dispositivos a los 6,5 d, lo cual puede afectar la fertilidad debido a que tendremos un folículo muy pequeño, sobre todo si estamos trabajando con vacas con cría. Por lo tanto, cuando tratamos un grupo grande de animales, el hecho de retirar el CIDR-B a los 8 d nos puede ayudar a que todas las vacas o vaquillonas estén en el Día 7,5 como mínimo y que tengan un folículo dominante desarrollado y con capacidad de ovular, lo que resultará en un mayor porcentaje de preñez. McGowan (52) tuvo también resultados satisfactorios (44,8%, 22/49) con vaquillonas *Bos indicus* en Australia que fueron tratadas con un CIDR-B por 8 d pero en este caso se sincronizó la ovulación con GnRH en el momento de la IATF. En un experimento reciente no encontramos

diferencias significativas en las tasas de preñez en 447 vaquillonas y 394 vacas *Bos indicus* tratadas por 7 (53,6%), 8 (44,4%) ó 9 d (51,3%; $P=0,34$; 2).



Días

Figura 3 - Esquema de tratamientos con dispositivos intravaginales con progesterona (P4). El tratamiento básico consiste en la inserción del dispositivo y la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (EB; Día 0). En el Día 7 se aplica PGF y se quita el dispositivo y en el Día 8 se aplica 1 mg de EB. Se realiza IATF a las 54 h de la remoción del dispositivo.

COMBINACIÓN DE DISPOSITIVOS CON P4 CON ECG

Aparte de los problemas asociados a la detección de celos, la vaca con cría manejada en condiciones pastoriles en las regiones subtropicales y tropicales tiene problemas nutricionales que prolongan el anestro posparto y producen importantes pérdidas económicas. La utilización de eCG al momento de la remoción de dispositivos con P4 es una alternativa para sincronizar el celo de animales en anestro^(48, 47). En general, la adición de eCG aumentó el porcentaje de ciclicidad y los porcentajes de preñez en vacas con estrés nutricional⁽⁴⁸⁾, pero hasta ahora no había trabajos que hayan evaluado el uso de la eCG en protocolos de IATF estrictos, realizados con dispositivos intravaginales con P4 en vacas *Bos indicus*. Recientemente realizamos una serie de trabajos con el objetivo de evaluar el porcentaje de preñez en vacas tratadas con un dispositivo con P4 más eCG en el momento de retirar el dispositivo y EB 24 h más tarde. En dos experimentos^(19,35), realizados con vacas Braford (3/8 Brahman x 5/8 Hereford), el porcentaje de preñez del grupo tratado con eCG (30,6%, 37/121) fue menor ($P<0,05$) que el obtenido con los animales tratados con EB (47,1%, 65/138)(19). Se especuló que la causa de esta diferencia podría estar en que el tratamiento con EB produciría una mayor sincronía de las ovulaciones que el eCG y esto resultó en un mayor porcentaje de preñez en las vacas tratadas con EB. En los otros experimentos (9, 35, 20) también se evaluó el efecto de la combinación de eCG a la remoción del dispositivo (para estimular el desarrollo folicular) y EB a las 24 h (para sincronizar la ovulación) en los porcentajes de preñez en vacas con cría. Las vacas eran Braford, cruce Nelore y Nelore puras y tenían 60 a 90 días posparto y con una CC de 1,5 a 2,5 (escala de 1 a 5) y había sólo un 30% (181/606) de vacas ciclando. La tasa final de preñez fue más alta en vacas tratadas con eCG que en las controles, debido al aumento del porcentaje de preñez en vacas en anestro (vacas con folículos medianos [50,9% vs 31,3%, $n=291$] o pequeños [54,2% vs 30,6%, $n=134$] a principios del experimento, mientras que las diferencias no fueron significativas en las vacas cíclicas (59,6% vs 52,7%, $n=181$).

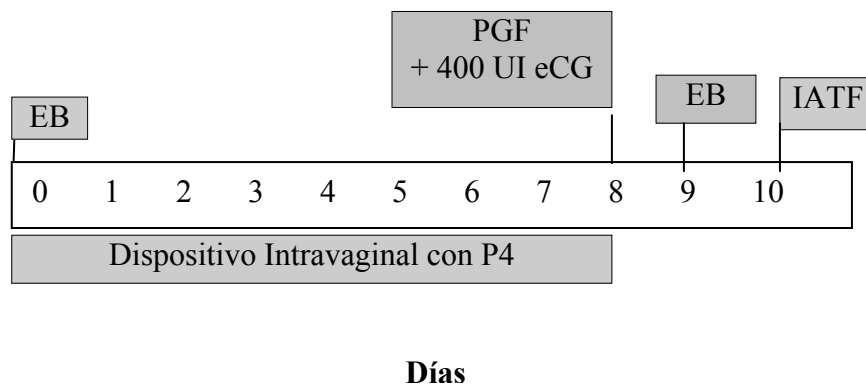


Figura 4. Esquema de tratamientos con dispositivos intravaginales con progesterona (P4) y eCG. El tratamiento consiste en la inserción del dispositivo y la administración de 2 mg de benzoato de estradiol (EB; Día 0). En el Día 8 se aplica PGF más 400 UI de eCG y se quita el dispositivo. En el Día 9 se aplica 1 mg de EB. Se realiza IATF a las 54 h de la remoción del dispositivo.

DESTETE TEMPORARIO, ENLATADO Y ECG EN VACAS CON CRÍA

Realizamos un experimento con el objetivo de evaluar el efecto de un destete temporario y la aplicación de eCG en vacas crúza cebú con cría y en pobre condición corporal (37). Se utilizaron 393 vacas con cría al pie (60 a 80 días pos parto) y con una CC de entre 2 y 2,5 (escala 1 a 5). Las vacas fueron asignadas a uno de 4 grupos, en un diseño 2 x 2 factorial. Todas las vacas recibieron, en el Día 0, un DIB (Syntex, Argentina) nuevo o reutilizado, asignados en forma equitativa en cada uno de los grupos de tratamiento. En el momento de colocado el DIB se inyectaron 2 mg de EB im (Día 0), en el Día 8 se aplicó una dosis de 150 µg de D (+)Cloprostenol im (Ciclase, Syntex) y la mitad de las vacas recibieron 400 UI de eCG im (Novormón 5000, Syntex). A su vez, cada grupo fue subdividido en dos subgrupos, en uno se mantuvieron los terneros con sus madres mientras que en el otro subgrupo se realizó un destete temporario de los terneros desde el momento de retirado el DIB hasta el momento de la IATF. Los terneros fueron separados de sus madres por una distancia de aproximadamente 1000 m para evitar cualquier tipo de contacto visual, auditivo u olfativo entre vacas y terneros. Todas las vacas recibieron 1 mg de EB im 24 h luego de retirado el DIB y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirado el mismo. Se realizó diagnóstico precoz de preñez por medio de ultrasonografía a los 42 días de la IATF. No se encontraron diferencias ($P=0,1$) entre los dispositivos nuevos (85/204; 41,6%) y reutilizados (87/195; 44,5%) por lo que los datos fueron combinados para su análisis. Como puede observarse en la Tabla 1, el uso de eCG incrementó ($P=0,07$) la tasa de preñez. Sin embargo, no hubo diferencias ($P=0,3$) en los porcentajes de preñez entre las vacas a las cuales se les realizó destete temporario y las que estuvieron con sus terneros, tal vez debido a que las vacas no mejoraron sustancialmente su condición corporal durante el período de servicio.

Tabla 1. Porcentajes de preñez en vacas con cría tratadas con dispositivos con P4 y EB con o sin 400 UI de eCG en el momento de retirar el dispositivo (Día 8) y destete temporario desde la remoción del dispositivo con P4 hasta la IATF.

	ECG	No eCG	Total
Destete	45/94 (47,9%)	41/97 (42,3%)	86/191 (45,0%) ^c
Sin Destete	49/98 (50,0%)	38/104 (36,5%)	87/202 (43,1%) ^c
Total	94/192 (49,0%) ^a	79/201 (39,3%) ^b	

^{a,b} Valores totales en la misma fila que tienden a ser diferentes (P=0,07).

^c Valores totales en la misma columna que no difieren (P=0,3).

En el segundo experimento realizado en Brasil, se evaluó el efecto de la eCG y el destete temporario sobre los porcentajes de preñez en 457 vacas Nelore con cría ⁽⁶²⁾. En este experimento las vacas utilizadas tenían un período posparto de 67,3±15,2 d y una CC promedio de 3,0±0,3 (escala de 1 a 5). Los animales fueron distribuidos según edad, CC y días posparto en uno de cuatro tratamientos en un diseño 2 x 2 factorial. En el día de inicio del tratamiento (Día 0), a todos los animales se les aplicó un implante subcutáneo Crestar (Intervet), 3 mg de norgestomet y 5 mg de valerato de estradiol im. En el Día 9 se les retiró el implante y la mitad de las vacas recibieron 400 UI de eCG im (Folligón, Intervet). A su vez, cada uno de los grupos fue subdividido en dos subgrupos, a uno de ellos se mantuvieron los terneros con sus madres mientras que en el otro subgrupo se realizó un destete temporario de los terneros desde el momento de retirado el implante hasta el momento de la IATF (54 h). Como se ve en la Tabla 2, el tratamiento con eCG incrementó (P<0,05) la tasa de preñez y en este experimento el efecto del destete también fue significativo (P<0,05).

Tabla 2. Porcentajes de preñez en vacas con cría tratadas con implantes de norgestomet y valerato de estradiol, con o sin 400 UI de eCG en el momento de retirar el implante (Día 9) y destete temporario desde la remoción del implante hasta la IATF.

	eCG	No eCG	Total
Destete	66/113 (58,4%)	54/114 (47,4%)	120/227 (52,9%) ^c
Sin Destete	59/112 (52,7%)	44/118 (37,3%)	103/230 (44,8%) ^d
Total	125/225 (55,6%) ^a	98/232 (42,2%) ^b	

^{a,b} Valores totales en la misma fila con diferentes superíndices difieren (P<0,05).

^{c,d} Valores totales en la misma columna con diferentes superíndices difieren (P<0,05).

Estos trabajos indican que la utilización de un destete temporario y la eCG, siempre y cuando sea asociado a un tratamiento hormonal con dispositivos con P4 o implantes de Norgestomet y estradiol, son herramientas muy valiosas para mejorar la preñez en vacas cebuínas con cría.

Finalmente, realizamos otro experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de la placa nasal en los terneros (enlatado) y eCG sobre la tasa de preñez ⁽³⁾. Se utilizaron 399 vacas de carne de segundo servicio, con cría al pie (60 a 80 días pos parto) y con una CC de entre 2 y 2,5 (escala 1 a 5). Las vacas fueron asignadas a cuatro grupos de tratamiento, en un diseño 2 x 2 factorial. Todas las vacas recibieron un DIB nuevo o reutilizado distribuidos en forma equitativa en cada uno de los grupos de tratamiento. En el momento de colocado el DIB se inyectaron 2 mg de EB im (Día 0), en el Día 8 se aplicó una dosis de PGF y la mitad de las vacas recibieron 400 UI de eCG im

(Novormón 5000, Syntex). A su vez, cada uno de los grupos fue subdividido en dos subgrupos, en uno se realizó enlatado de los terneros desde el momento de iniciado el tratamiento hasta el momento de la IATF y en el otro subgrupo no se realizó enlatado de los terneros. Todas las vacas recibieron 1 mg de EB 24 h luego de retirado el DIB y fueron IATF entre las 52 y 56 h de retirado el mismo. Se realizó diagnóstico de preñez por medio de ultrasonografía a los 60 días de la IATF. No se encontraron diferencias significativas ($P=0,1$) entre los dispositivos nuevos (87/195; 44,5%) y reutilizados (86/196; 43,9%) por lo que los datos fueron combinados para su análisis. Como puede observarse en la Tabla 3, la restricción del amamantamiento incrementó ($P=0,03$) los porcentajes de preñez. Mientras tanto, no se encontraron diferencias ($P=0,82$) en los porcentajes de preñez entre las vacas tratadas o no con eCG.

Tabla 3. Porcentajes de preñez en vacas con cría tratadas con dispositivos con P4 y EB, con o sin 400 UI de eCG en el momento de la remoción del dispositivo con P4 y colocación de placas nasales (enlatado) en los terneros desde la inserción del dispositivo hasta la IATF.

	eCG	No eCG	Total
Terneros con placa	38/89 (42,3%)	53/106 (50,0%)	91/195 (46,6%) ^b
Terneros sin placa	44/103 (43,7%)	37/101 (36,6%)	81/204 (39,7%) ^c
Total	82/192 (42,7%) ^a	90/207 (43,4%) ^a	

^a Valores totales en la misma fila no difieren ($P=0,82$).

^{b,c} Valores totales en la misma columna con diferentes superíndices difieren ($P=0,03$).

Concluimos que el enlatado de los terneros por un período de 10 días puede mejorar las tasas de preñez en vacas primíparas tratadas con dispositivos con P4 e IATF. Sin embargo, este tratamiento afectó ($P=0,001$) el peso al destete de los terneros, que fueron 10 kg más livianos que los terneros que no fueron enlatados (190,1±1,9 kg y 200,4±2,1 kg para los terneros enlatados o no enlatados, respectivamente). Esta disminución de peso debe tomarse en cuenta cuando se realiza el análisis económico del uso del enlatado para aumentar la tasa de preñez.

EVALUACIÓN DE DIFERENTES FACTORES QUE AFECTAN LOS PORCENTAJES DE PREÑEZ EN IATF

La vaca con cría presenta en nuestra región problemas nutricionales debido a las condiciones extensivas de pastoreo que prolongan el anestro posparto y se traducen en importantes pérdidas económicas para el sector de producción de carne. Es conocida la importante relación que existe entre el nivel nutricional de las hembras y su fertilidad. La condición corporal de un animal se relaciona con la cantidad de tejido de reserva que el animal dispone. En vacas de cría adultas toda pérdida o ganancia de peso se reflejará en una variación del estado corporal. Este estado corporal tiene una influencia directa sobre la fertilidad ya que la partición de nutrientes se orienta primero a mantener la vida de la vaca y luego a la propagación de la especie. Los ciclos estrales generalmente pueden ser mantenidos si la condición corporal es de 2 (escala 1-5) o más, aunque esto podría diferir según otros factores, como la raza y si el animal está en un plano de aumento o disminución de peso.

Se analizaron por medio de regresión logística datos de las IATF realizadas por nuestro grupo de trabajo entre diciembre de 2000 y diciembre de 2003, teniendo en cuenta diferentes factores como la condición corporal, el estadio fisiológico del vientre, el

biotipo y el grado de ciclicidad del rodeo. Los datos fueron recogidos de 9609 IATF realizadas en vacas con cría, vacas secas y vaquillonas, cruza cebú y británicas. Se obtuvo un 52,9% de preñez general, con un mínimo de 28,7 % (vacas con cría con una CC de 2) y un máximo de 75 % (vaquillonas con una CC de 3). Como bien puede observarse en el Gráfico 1, la CC es un factor determinante en los resultados de preñez a IATF. Los resultados presentados aquí y en otros trabajos sugieren que los animales deben tener una condición corporal mínima de 2,5 (escala 1 al 5) o idealmente 3 para obtener buenos resultados de preñez. Se obtuvo una correlación $R^2=0,9$ entre el porcentaje de preñez y la condición corporal (Figura 5).

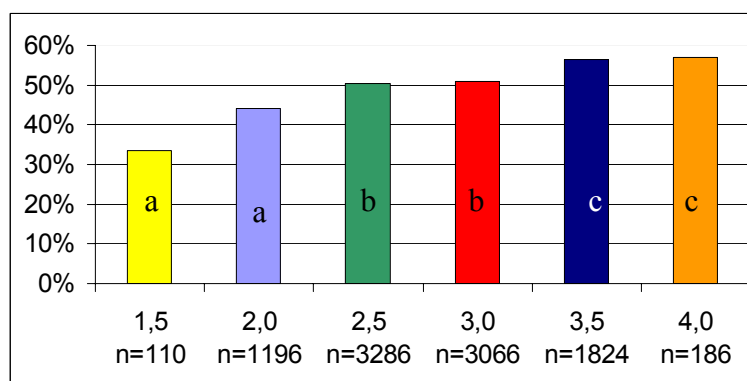


Figura 5. Porcentajes de preñez en función de la condición corporal. ^{abc} Columnas con distintas letras difieren significativamente ($P<0,0001$).

Con respecto al estadio fisiológico de los animales, en la Figura 6 puede observarse que se obtuvo un menor porcentaje de preñez en las vacas secas con respecto a las vacas con cría y vaquillonas.

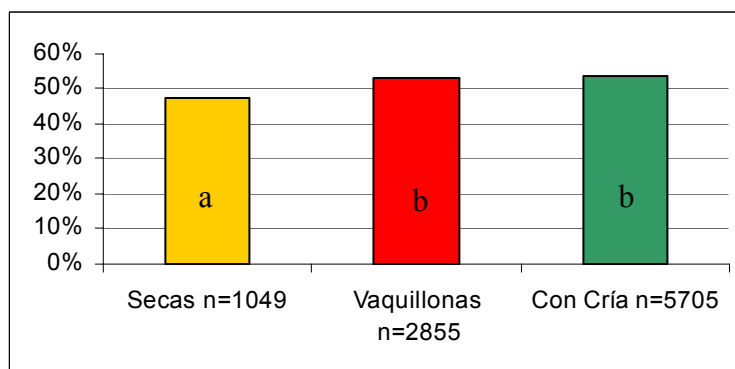


Figura 6. Porcentaje de preñez en función del estadio fisiológico de los animales. ^{ab}Columnas con letras diferentes difieren ($P=0,0002$).

Esta diferencia entre los porcentajes de preñez de vacas secas con las vacas con cría y vaquillonas podría deberse al hecho de que el rodeo de vacas secas está compuesto por vacas que están secas por haber quedado vacías en la temporada de servicio anterior. Por lo tanto algunas de estas vacas pudieron haber quedado vacías por problemas nutricionales mientras que otras podrían haber quedado vacías por ser de baja fertilidad.

Se evaluó también el impacto del porcentaje de ciclicidad del rodeo sobre los porcentajes de preñez. Se determinó ciclicidad como la presencia de un CL a la palpación rectal o signos de celo al momento de iniciado el tratamiento y anestro

cuando sólo tenían folículos. En la Figura 7 se observa un mayor porcentaje de preñez en vacas cíclicas con respecto a las vacas en anestro.

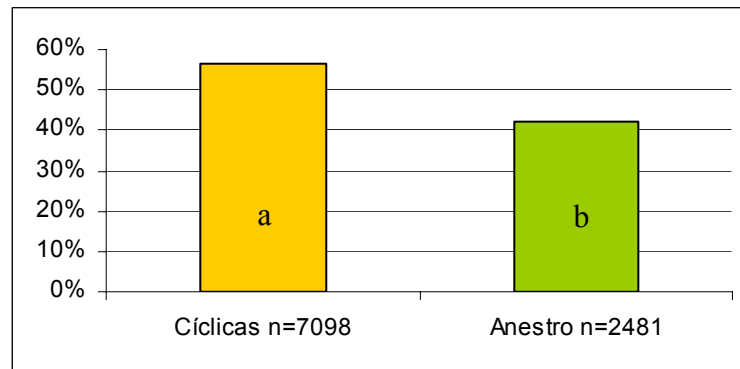


Figura 7. Porcentaje de preñez en función del porcentaje de ciclicidad del rodeo (los porcentajes difieren, $P=0,0001$).

Otro factor que influye sobre los porcentajes de preñez es el biotipo de los animales con que se trabaja. Se encontró un menor porcentaje de preñez ($P=0,05$) en IATF realizadas en rodeos de animales cruza índicas que en los rodeos de británicas (Figura 8).

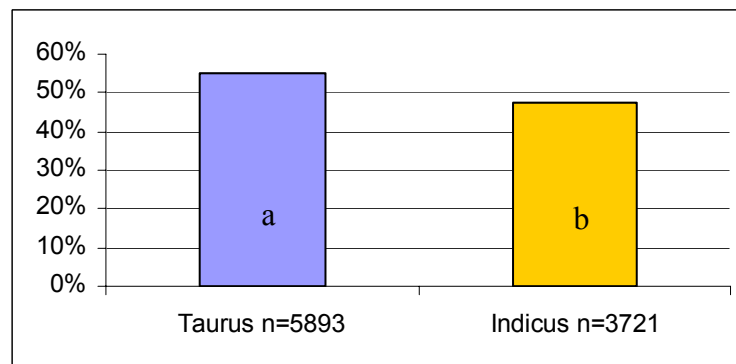


Figura 8. Porcentaje de preñez en función del biotipo (los porcentajes difieren, $P=0,007$).

El menor porcentaje de preñez en las vacas *Bos indicus* podría ser debido a una suma de factores entre los que se encuentra su temperamento, fisiología reproductiva y a las condiciones ecológicas a las cuales están expuestas⁽¹³⁾. Esto es debido a que en la mayoría de los casos este tipo de animales se encuentra en zonas subtropicales (sub-húmedas y húmedas) o semiáridas y las complicaciones relacionadas con la subnutrición y deficiencias minerales son más comunes en animales que se encuentran en condiciones de pastoreo en estas zonas. No obstante, tampoco debe descartarse el hecho de que estos animales no se adaptan tanto como el *Bos taurus* a un manejo de manga frecuente que puede desencadenar situaciones de estrés que resulten en una alteración o inhibición del pico preovulatorio de LH y la ovulación.

SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y DE LA OVULACIÓN PARA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES

SINCRONIZACIÓN CON PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$ (PGF)

En programas de TE, generalmente se utilizan tratamientos con dos dosis de PGF con 11 a 14 días de intervalo y detección por 5-7 días después de la segunda aplicación de PGF ^(24,49,60). Teóricamente, estas dos aplicaciones de PGF son efectivas cuando hay una gran proporción de hembras ciclando y un 80% de ellas deberían ser observadas en celo. Pero los problemas de detección de celos hace que el porcentaje real de receptoras que son seleccionadas para recibir un embrión raramente supere el 50% ⁽¹⁴⁾. Esta situación puede ser más grave aún cuando se trabaja con receptoras cebú o cruza-cebú en condiciones de campo. Como puede observarse en la Tabla 4, en un trabajo en el que se utilizó el protocolo de doble dosis de PGF en distintos establecimientos de Sudamérica se observó una baja eficiencia en la detección de los celos, que llevó a un bajo porcentaje de receptoras preñadas ⁽²⁶⁾.

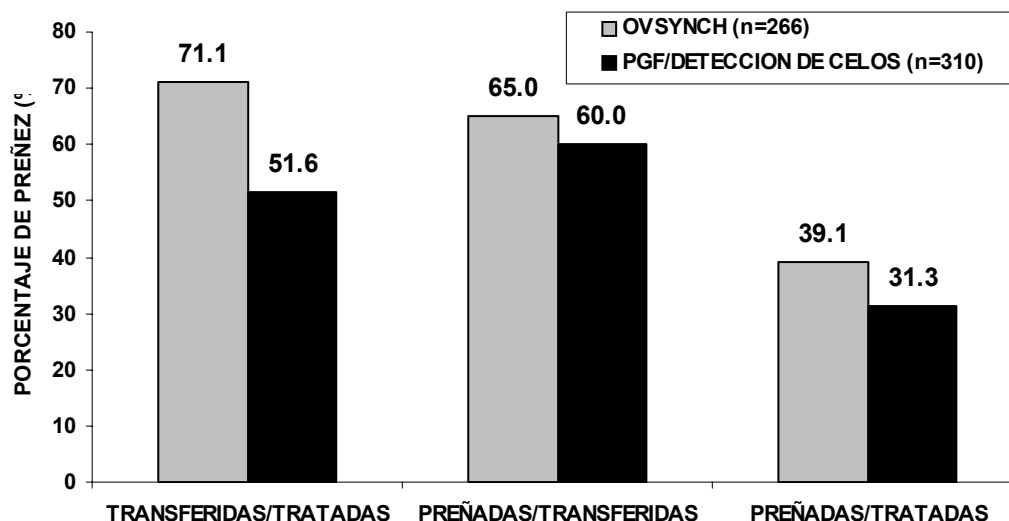
Tabla 4. Número de vacas en celo, seleccionadas para recibir un embrión (transferidas) y porcentajes de preñez en receptoras de embriones sincronizadas con PGF (Burry E., comunicación personal; ²⁶).

	Tratadas	En celo/ Tratadas	Transferidas/ Tratadas	Preñadas/ Transferidas	Preñadas/ Tratadas
Matto Grosso (Brasil, 2000)	854	384/854 (45,0%)	226/854 (26,5%)	89/226 (39,4%)	89/854 (10,4%)
Santa Cruz (Bolivia, 2001)	700	479/700 (68,4%)	223/700 (31,9%)	111/223 (49,8%)	111/700 (15,9%)
Total	1554	863/1554 (55,5%)	449/1554 (28,9%)	200/449 (44,5%)	200/1554 (12,9%)

Estos resultados demuestran que la utilización de PGF para la sincronización de celos en receptoras de embriones resulta en una muy baja tasa de aprovechamiento de receptoras que afectan considerablemente los porcentajes de preñez general.

SINCRONIZACIÓN UTILIZANDO EL PROTOCOLO OVSYNCH.

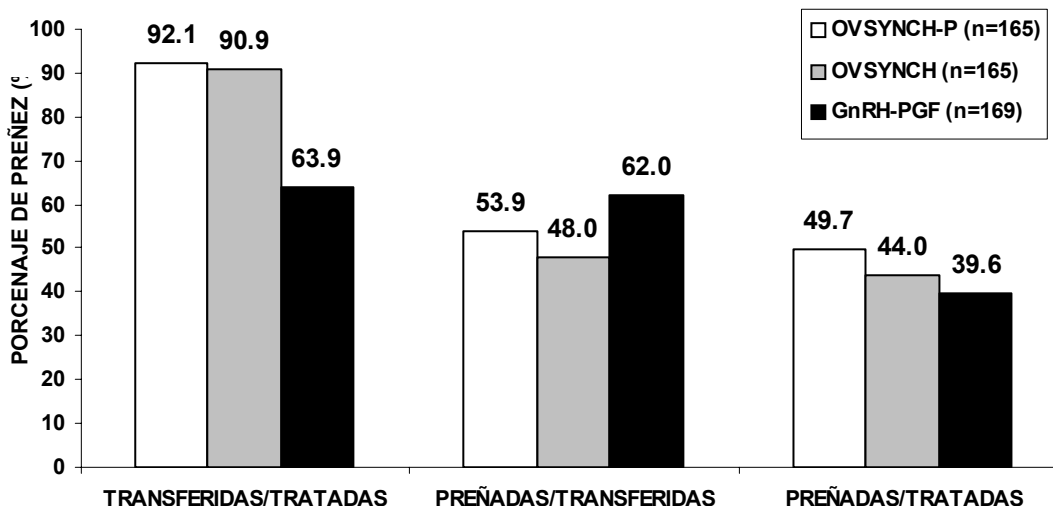
Los protocolos Ovsynch también han sido utilizados para sincronizar la ovulación en receptoras que recibieron embriones producidos *in vivo* (6,42,75) o *in vitro* ⁽¹⁾. En dos estudios realizados con vaquillonas ^(6,75) o con vacas cruza cebú ⁽⁷⁵⁾, la mitad de los animales recibieron una dosis simple de PGF y se detectó celo por 5 días y la otra mitad, se sincronizaron con un protocolo Ovsynch sin detección de celos. En este experimento, 7 días después del celo (Grupo PGF) o después de la segunda GnRH (Grupo Ovsynch), las receptoras con un CL detectado por US ⁽⁶⁾ o por palpación rectal ⁽⁷⁵⁾, fueron seleccionadas para recibir un embrión por transferencia directa. Como puede observarse en la Figura 9, la tasa final de preñez fue mayor en las receptoras tratadas con el protocolo Ovsynch y se debió principalmente a que un mayor número de receptoras en este grupo recibió embriones debido a que el protocolo Ovsynch no dependió de la detección de celos. Es de destacar que en uno de los estudios ⁽⁶⁾, el 53,7% de las vaquillonas tratadas con PGF fueron observadas en celo, reflejando la dificultad de la detección de celo en el ganado bovino cruza cebú ^(29,13).



* Proporciones difieren significativamente ($P < 0.05$)

Figura 9. Porcentajes de preñez en receptoras de embriones tratadas con una dosis de PGF y transferidas a los 7 días de detectado el celo o receptoras que recibieron un tratamiento Ovsynch sin detección de celos y fueron trasferidos a los 7 días de la segunda GnRH. Adaptado de Baruselli y col., 2000⁽⁶⁾ y Zanenga y col. 2000⁽⁷⁵⁾.

En otro estudio^(10,42), 499 vacas *Bos taurus* lactando (28 a 92 días posparto) fueron asignadas a 3 tratamientos. Las vacas en el Grupo Control fueron tratadas con GnRH en el Día 0 y PGF en el Día 7 (Grupo GnRH+PGF). Las vacas en los otros 2 grupos fueron tratadas con un protocolo Ovsynch solo (Grupo Ovsynch) o un protocolo Ovsynch más un implante de norgestomet (Syncro-Mate-B, USA) que fue colocado entre el Día 0 y 7 (Grupo Ovsynch+P). A los 6 a 8 días después del celo en el Grupo GnRH+PGF o a los 7 días después de la segunda GnRH en el los grupo Ovsynch y Ovsynch+P, se examinaron las vacas por palpación rectal y aquellas con un CL recibieron embriones por transferencia directa. A pesar de que la tasa de preñez (preñadas/transferidas) tendió a ser mayor en las vacas del Grupo GnRH+PGF ($P < 0,07$), el porcentaje de preñez general no fue significativamente diferente entre los grupos, principalmente debido a que hubo mayor número de receptoras seleccionadas en los grupos Ovsynch y Ovsynch+P (Figura 10).



* Proporciones difieren entre el grupo GnRH+PGF y los grupos Ovsynch y Ovsynch+P ($P < 0.01$).

** Proporciones difieren entre el grupo GnRH+PGF y los grupos Ovsynch y Ovsynch+P ($P < 0.07$).

Figura 10. Porcentajes de preñez en receptoras de embriones tratadas con GnRH+PGF y transferidas a los 6 a 8 días de detectadas en celo y las que recibieron el protocolo Ovsynch o un Ovsynch más un implante de progestágeno (Ovsynch-P) y fueron transferidas 7 días después de la segunda inyección de GnRH, sin detección de celos. Adaptado de Beal, 1999⁽¹⁰⁾ y Hinshaw, 1999⁽⁴²⁾.

Los mismos investigadores también realizaron nuevos tratamientos involucrando 1.637 receptoras tratadas con Ovsynch más un implante de Syncro Mate-B o con CIDR-B y que fueron transferidas sin detección de celos y obtuvieron una tasa de preñez final de 59,9% (11). En resumen, los resultados de estos estudios indican que se puede obtener una aceptable tasa de preñez cuando se transfieren embriones a receptoras que recibieron un tratamiento para sincronizar la ovulación sin la necesidad de detectar el celo.

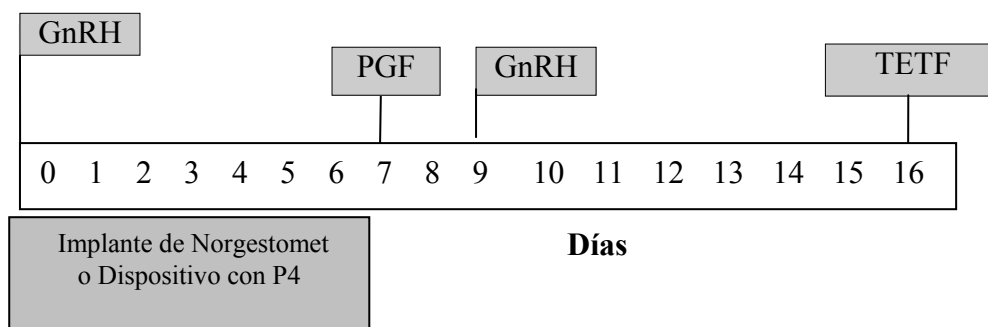
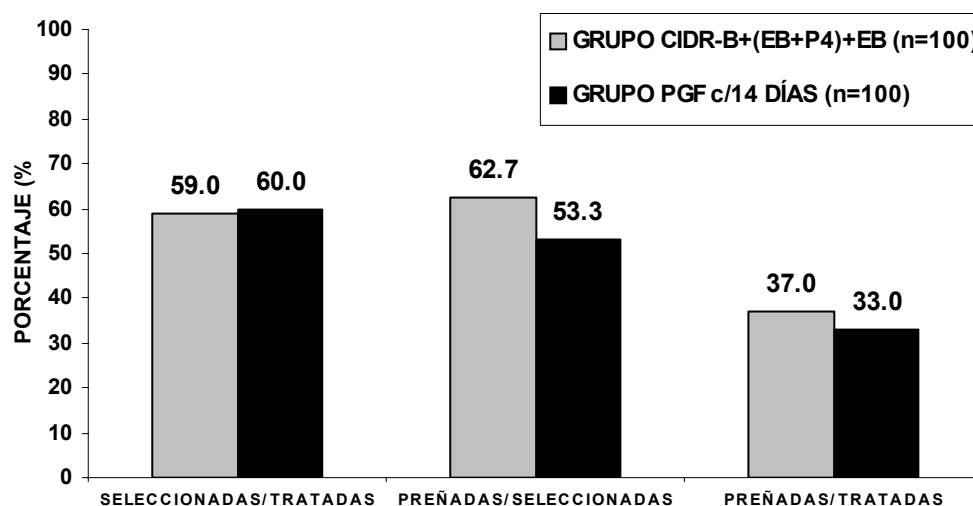


Figura 11. Protocolo Ovsynch o Ovsynch asociado a un dispositivo con progestágeno/progesterona (Ovsynch+P4) para TETF e receptoras. El protocolo Ovsynch consiste en la aplicación de GnRH en el Día 0, seguido por la administración de PGF en el Día 7 y una segunda aplicación de GnRH en el Día 9. En el tratamiento Ovsynch+P4, se coloca un implante de norgestomet o u dispositivo con P4 en el Día 0 y se lo quita en el Día 7. No se efectúa detección de celos y se transfieren los embriones en el Día 16 (receptoras con un CL).

SINCRONIZACIÓN CON PROGESTÁGENOS Y ESTRADIOL

Se desarrolló una serie de trabajos con el objetivo de evaluar si era posible adaptar los esquemas de sincronización de la ovulación utilizados en los programas de IATF en la TETF realizó un experimento preliminar con el objetivo de comparar las tasas de preñez en receptoras de embriones tratadas con CIDR-B y transferidas a tiempo fijo con vacas tratadas con dos dosis de PGF cada 14 días y transferidas 7 días después de detectado el celo (69). Se utilizaron 200 vacas cruce Brahman (1/4 a 3/4 Brahman) que fueron divididas al azar en dos grupos. Las vacas en el Grupo Control fueron sincronizadas con dos dosis de PGF (0,15 mg D(+)-cloprostenol, Preloban, Intervet) cada 14 días y observadas por síntomas de celo por 5 días después de la segunda PGF. Las vacas en el otro grupo, recibieron un CIDR-B combinado con 2 mg de BE y 50 mg de P4 en el día 0, PGF en el momento de la remoción del CIDR-B (día 7) y 1 mg de BE a las 24 h de retirado el dispositivo (Grupo CIDR-B). En este grupo no se observó celo y se consideró arbitrariamente al día 9 como el día de celo. Todas las vacas recibieron embriones congelados excelentes y buenos (Grado 1, IETS) a los 7 días del celo en el Grupo Control o en el día 16 en el Grupo CIDR-B. La proporción de vacas utilizadas como receptoras y el porcentaje de preñez obtenidos están resumidos en la Figura 12.



Los porcentajes no difieren ($P > 0,6$).

Figura 12. Porcentajes de preñez en receptoras de embriones tratadas con CIDR-B y transferidas a tiempo fijo y receptoras sincronizadas con PGF y transferidas a los 7 días de observado el celo. Adaptado de Tríbulo y col., 2000 ⁽⁶⁹⁾.

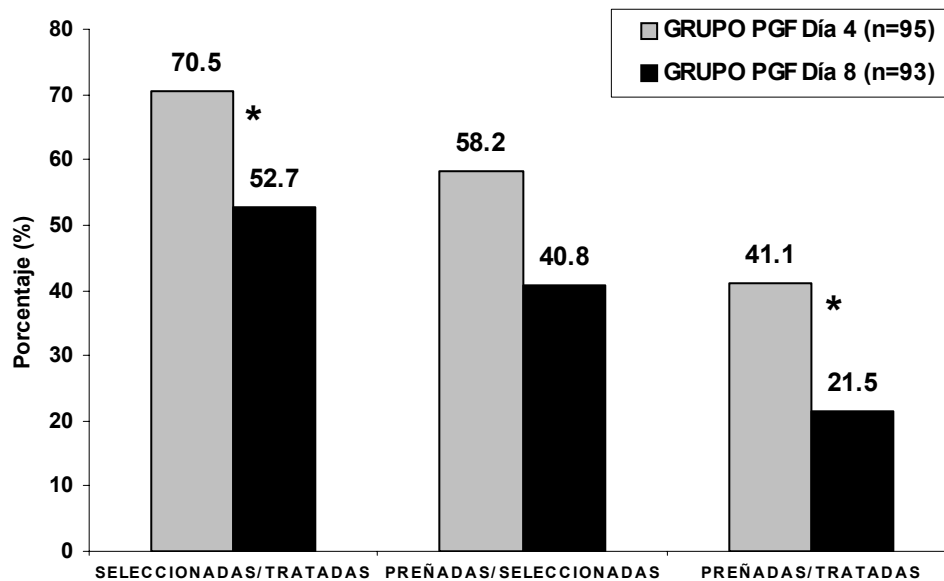
Estos resultados demostraron que los dispositivos intravaginales con P4, combinados con BE+P4 al momento de la colocación del dispositivo y BE 24 h después de su retiro, pueden ser utilizados para sincronizar la ovulación, eliminando la necesidad de la detección de celos en grupos de receptoras de embriones.

Resultados de otros experimentos confirmaron los anteriores en protocolos con CIDR-B de 7 u 8 días ⁽¹²⁾. Sin embargo, en todos los estudios el porcentaje de vacas con un CL detectado por palpación rectal en el momento de la transferencia fue bastante bajo (<60 %) y los índices de preñez finales (preñadas/tratadas) no superaban el 40%, lo que representa un alto costo en tratamientos y receptoras no utilizadas. Se especuló que el bajo porcentaje de receptoras seleccionadas en los experimentos anteriores podría estar relacionado con los altos niveles circulantes de P4 de las receptoras durante el tratamiento de sincronización. La razón de esta hipótesis es que, como en

estos experimentos se utilizaron solamente animales cíclicos (con CL funcional) y la administración de PGF fue realizada en el momento del retiro del dispositivo, la mayoría de las vacas habrían tenido niveles altos de P4 (del CL y del dispositivo) durante el tratamiento. Los altos niveles de P4 habrían disminuido la frecuencia de pulsos de LH y consecuentemente el desarrollo folicular⁽⁶⁸⁾. Se ha demostrado que el crecimiento y persistencia de un folículo dominante depende principalmente de la secreción pulsátil de LH⁽⁶⁸⁾. Consecuentemente, si un folículo crece en condiciones de baja P4, el tamaño del folículo ovulatorio y del CL que se forma después de la ovulación podrían ser mayores que los de vacas en las cuales el CL esta presente durante el tratamiento. Un trabajo publicado recientemente ha sugerido que el tamaño del folículo ovulatorio está relacionado con el tamaño del CL que forma y los índices de preñez resultantes⁽⁷²⁾.

Por lo tanto, se diseñaron dos experimentos para evaluar si el momento de la aplicación de PGF en el tratamiento de sincronización de la ovulación con dispositivos con P4 y BE podría resultar en un aumento del número de receptoras transferidas^(56,57). En el primer experimento se evaluó el desarrollo folicular realizando ultrasonografías diarias⁽⁵⁷⁾ y se observó que adelantar la aplicación de la PGF del día 8 al día 4, resultó en un folículo preovulatorio de mayor tamaño en el día 9 ($13,2 \pm 0,2$ mm vs. $11,5 \pm 0,2$ mm; $P < 0,05$), una ovulación más temprana y sincrónica ($66,6 \pm 0,4$ h vs $70,8 \pm 2,3$ h; $P < 0,01$) y una mayor concentración plasmática de P4 en el día de la transferencia de embriones ($6,9 \pm 0,8$ ng/ml vs $5,2 \pm 0,6$ ng/ml; $P = 0,08$).

En el segundo experimento se utilizaron 188 vacas de carne ciclando que recibieron en el día 0 un dispositivo DIV-B más 2 mg de BE y 50 mg de P4⁽⁵⁶⁾. En el día 4 (día de comienzo de la onda folicular) los animales fueron divididos al azar en dos grupos: la mitad de las vacas recibieron una dosis de 500 µg de cloprostenol im en el día 4, mientras que la otra mitad de las vacas recibieron cloprostenol en el día 8. En ambos grupos los DIV-B fueron retirados en el día 8 y se inyectó 1 mg de BE im en el día 9. No se realizó detección de celo y se determinó arbitrariamente al día 10 como el día de celo. El día anterior a la transferencia de embriones (día 16) se examinaron todos los animales por medio de ultrasonografía con el objetivo de determinar el tamaño del CL y las vacas con un CL >10 mm de diámetro fueron seleccionadas y recibieron en el día 17, embriones Grado 1 (Excelentes y buenos, n=65), Grado 2 (Regulares, n=33) y Grado 3 (Malos, n=18) asignados equitativamente a ambos grupos. Se determinó la tasa de preñez por ultrasonografía a los 23 días después de la transferencia (30 días de gestación). A pesar de que no se encontraron diferencias significativas en el diámetro del CL (Día 4: $16,5 \pm 0,5$ mm vs Día 8: $16,4 \pm 0,5$ mm; $P > 0,5$), las proporciones de receptoras seleccionadas y preñadas fueron mayores ($P < 0,02$) en el grupo que recibió PGF en el día 4 (Figura 13).



* Porcentajes difieren $P < 0,02$

Figura 13. Efecto del momento de la aplicación de PGF sobre el porcentaje de vacas seleccionadas como receptoras de embriones y porcentaje de preñez en vacas tratadas con dispositivos DIV-B y EB. Adaptado de Moreno y col. 2002⁽⁵⁶⁾.

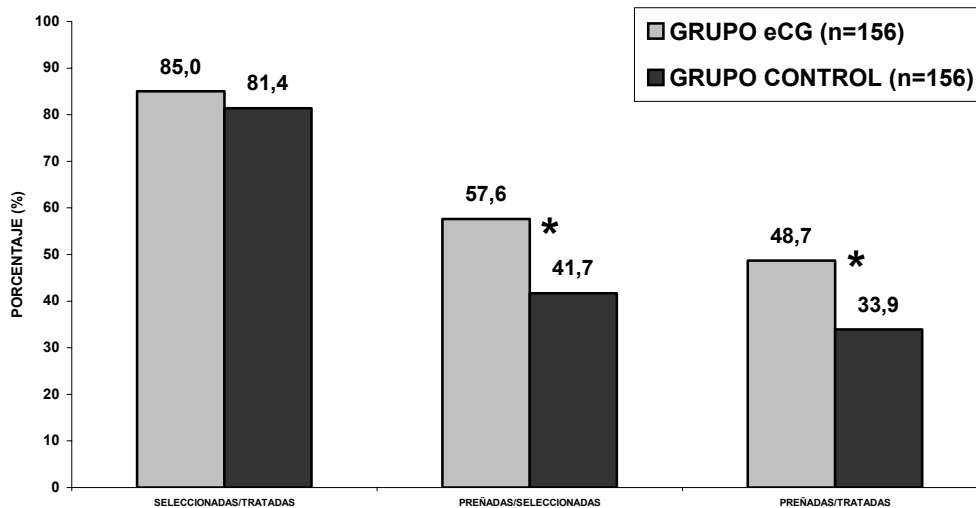
UTILIZACIÓN DE ECG EN EL TRATAMIENTO DE SINCRONIZACIÓN DE RECEPTORAS CON DISPOSITIVOS CON PROGESTERONA

Otra alternativa para incrementar los niveles circulantes de P4 en receptoras de embriones es la inducción de ovulaciones múltiples mediante la utilización de gonadotrofina coriónica equina (eCG) durante el tratamiento de sincronización de la receptora. Fuentes y de la Fuente (39) reportaron datos de un experimento en el que se utilizaron vaquillonas Holstein que fueron divididas en cuatro grupos. El primer grupo fue formado por vaquillonas a las que se les observó un celo natural (CN; n=52) y fueron transferidos 7 días luego de la detección del celo (Control). El resto de los animales fueron sincronizados. Las vaquillonas del Grupo PGF (n=58) recibieron una dosis única de 500 μg de cloprostenol im (Estrumate, Schering- Plough). Las vaquillonas del Grupo PRID (n=54) recibieron en el día 0 un PRID (CEVA, 1,55 g de P4) y una cápsula con 10 mg de BE y cloprostenol cuando se retiró el dispositivo en el día 10. Las vaquillonas del Grupo PRID+eCG (n=29), recibieron un PRID (sin la cápsula) junto con 5 mg de estradiol-17 β y 100 mg de P4 im en el día 0, 1.000 UI de eCG im en el día 4, cloprostenol en el día 6 por la mañana y se retiraron los dispositivos en el día 7 por la tarde. En este experimento se detectó celo en todos los grupos y las vaquillonas fueron transferidas a los 7 días de la observación de los celos. Como puede observarse en la Tabla 5, el tratamiento con PRID+eCG produjo un incremento en el número de receptoras transferidas y aumentó el porcentaje final de preñez (preñadas/tratadas).

Tabla 5. Porcentajes de vaquillonas seleccionadas como receptoras de embriones y porcentaje de preñez utilizando receptoras de embriones transferidas a los 7 días de la observación de celos naturales o inducidos por diferentes tratamientos de sincronización. Adaptado de Fuentes y de la Fuente, 1997 ⁽³⁹⁾.

	Control	PGF	PRID	PRID+eCG	Valor P
Transferidas/tratadas	26/52 (50,0%) ^a	26/58 (44,8%) ^a	26/54 (48,9%) ^a	26/29 (89,7%) ^b	0,0001
Preñadas/transferidas	15/26 (57,7%)	11/26 (42,3%)	12/26 (46,1%)	17/26 (65,3%)	0,1
Preñadas/tratadas	15/52 (28,8%) ^a	11/58 (18,9%) ^a	12/54 (22,2%) ^a	17/29 (58,6%) ^b	0,008

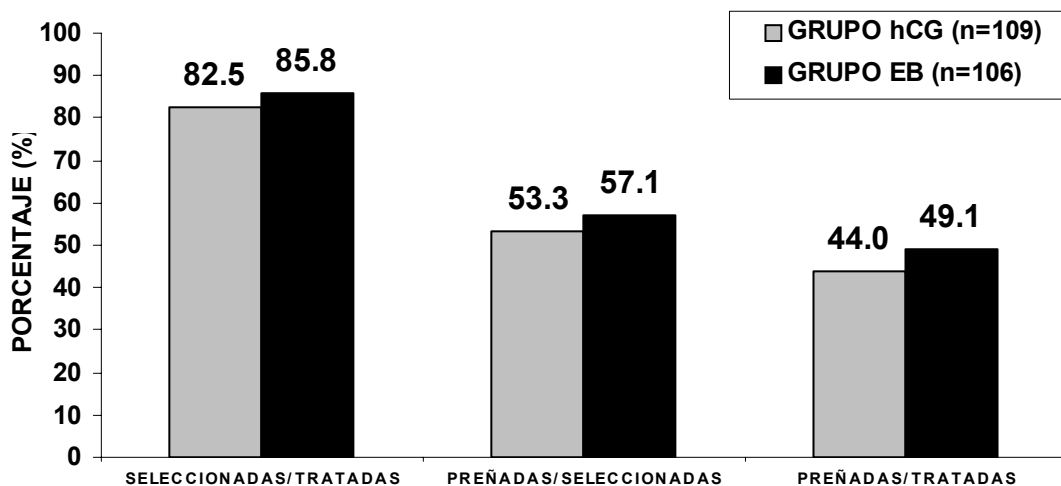
En este experimento también se observó que el tratamiento con eCG aumentó significativamente el número de CL en los ovarios de las vaquillonas que presentaron entre 2 y 5 CL en cada ovario en el momento de la transferencia. Estos resultados fueron corroborados en otro experimento realizado en Brasil, donde se utilizaron vaquillonas cruce cebú que fueron tratadas con un CIDR-B por 7 días más 800 UI de eCG en el día 5 y fueron TETF ⁽⁷⁾. No se observó una disminución de preñez por la superovulación de las receptoras. No obstante, nosotros realizamos una serie de trabajos para evaluar la utilización de una dosis más reducida, de 400 UI de eCG, para determinar si se podía mantener el efecto positivo sobre la preñez y disminuir un poco los costos del tratamiento ⁽⁷⁰⁾. Para este experimento se utilizaron 312 vacas de carne secas (cruce cebú) de 3 a 5 años de edad y con una condición corporal de 2,5 a 3,5 (Escala 1-5). En el día 0, todas las vacas recibieron un DIV-B, conjuntamente con 2 mg de BE y 50 mg de P4 im. En el día 5 (un día después del comienzo estimado de la onda folicular), todas las vacas recibieron 500 µg de cloprostenol im y la mitad de las receptoras (Grupo eCG) recibió 400 UI de eCG im, mientras que la otra mitad (Grupo Control) recibió una inyección de 1,5 ml de solución fisiológica im. En ambos grupos los DIV-B fueron retirados en el día 8 y se inyectó 1 mg de BE im en el día 9. No se realizó detección de celo y se determinó arbitrariamente al día 10 como el día del celo y al día 11 como el día de la ovulación. Como en el experimento anterior, el día anterior a la transferencia de embriones (día 16) se examinaron todos los animales por medio de ultrasonografía transrectal con el objetivo de determinar el tamaño del CL y las vacas con un CL ≥ 10 mm de diámetro fueron seleccionadas y recibieron en el día 17 embriones congelados (Grado 1, n=206, Grado 2, n=49 y Grado 3, n=4) asignados equitativamente a ambos grupos. A pesar de que el tratamiento con eCG no resultó en muchas ovulaciones múltiples (3/156, 2% de las vacas tuvieron 2 CL), el tamaño promedio de los CL fue mayor ($P < 0.05$) en las vacas tratadas con eCG ($18,5 \pm 0,4$ mm) que en las no tratadas con eCG ($17,7 \pm 0,4$ mm). Además, las proporciones de receptoras preñadas fueron mayores ($P < 0,02$) en el grupo que recibió eCG en el día 5 (Figura 14).



* Porcentajes difieren $P < 0,02$

Figura 14. Porcentajes de receptoras transferidas y porcentaje de preñez utilizando DIV-B y una dosis de 400 UI de eCG administrada en el Día 5 del tratamiento. Adaptado de Tríbulo y col., 2002 ⁽⁷⁰⁾.

Se realizó otro experimento con el objetivo de evaluar otra hormona disponible en el mercado para sincronizar la ovulación como la hCG (Gonadotrofina Coriónica Humana). En este experimento se comparó la tasa de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos intravaginales con P4 y BE o hCG para inducir la ovulación (55). El experimento fue realizado en tres réplicas (Réplica 1 $n=59$; Réplica 2 $n=72$ y Réplica 3 $n=84$), en vacas secas, cruce cebú y con una condición corporal de 2,5 a 3,5 (Escala de 1 a 5). Todas las vacas recibieron un dispositivo DIB y 2 mg de BE con 50 mg de P4 im en el día 0, 400 UI de eCG im y 500 μg de cloprostenol en el día 5 y los dispositivos DIB fueron retirados en el día 8. Los animales fueron distribuidos al azar en dos grupos para recibir 1 mg BE im en el día 9 o 1.500 UI de hCG (Ovusyn, Syntex, Argentina) en el día 10. No se realizó detección de celo y se consideró arbitrariamente el día 10 como el día del celo. En el día 17, todas las receptoras fueron examinadas por ultrasonografía y aquellas con un CL ≥ 10 mm de diámetro fueron seleccionadas y recibieron embriones frescos en la Réplica 1 y frescos o congelados en las Réplicas 2 y 3. Se determinó la tasa de preñez por ultrasonografía a los 53 días después de la transferencia (60 días de gestación). No se encontraron efectos debido a réplica ($P=0,6$), embriones frescos vs. congelados ($P=0,4$), calidad de los embriones ($P=0,5$) o técnico que realizó la transferencia en los porcentajes de preñez ($P=0,2$). Tampoco se observaron diferencias en el diámetro de los CL (BE: $21,1 \pm 0,6$ mm y eCG: $21,3 \pm 0,5$ mm) y como se ve en la Figura 15, no hubo diferencias en los porcentajes de preñez.



Las proporciones no difieren ($P > 0,9$).

Figura 15. Porcentaje de preñez en receptoras de embriones tratadas con dispositivos con P4, EB+P4 y eCG y cuya ovulación fue inducida con 1 mg de EB en el Día 9 o con 1500 UI de hCG en el Día 10. Adaptado de Moreno y col., 2003⁽⁵⁵⁾.

Los resultados demostraron que los dos tratamientos evaluados fueron eficaces para sincronizar la ovulación en receptoras de embriones y confirman los estudios previos que han demostrado que los tratamientos con dispositivos con P4 combinados con BE pueden ser utilizados en TETF sin la necesidad de la detección de celos. Tomando datos comerciales de receptoras sincronizadas con este esquema, sobre 842 receptoras tratadas, 709 (84,2%) recibieron un embrión congelado producido in vivo y 392 (46,6%) resultaron preñadas. Con 5445 embriones producidos in vitro que fueron transferidos frescos se obtuvo una tasa de preñez del 48,2% (L.F. Nasser 2004, comunicación personal).

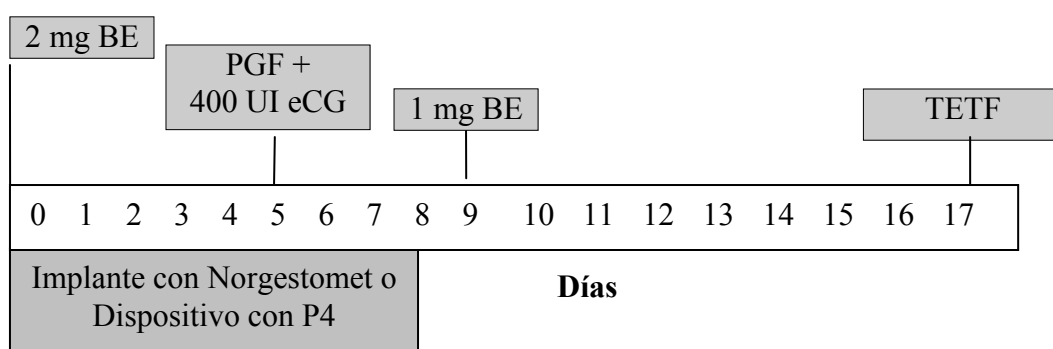


Figura 16. Protocolo para TETF utilizando progestágenos/progesterona, estradiol y eCG. El tratamiento consiste en la inserción de un implante de norgestomet o un dispositivo con P4 y la inyección de 2 mg EB im. En el Día 5 se administra 400 UI de eCG y una dosis de PGF. Se quitan los dispositivos en el Día 8 y se inyecta 1 mg de EB en el Día 9. Todas las receptoras con un CL reciben embriones en el Día 17.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Los resultados indican que es posible obtener buenos resultados con la IATF o TETF y obviar de esta manera el inconveniente de la detección de celos. Los tratamientos disponibles en la actualidad se pueden dividir en los que utilizan GnRH más PGF y una segunda GnRH (Ovsynch) y los protocolos a base de progestágenos y estradiol. El uso de los protocolos Ovsynch, resultan en aceptables índices de preñez en vacas que están ciclando, pero los resultados son bajos cuando se tratan vacas en anestro o vaquillonas. Los tratamientos a base de progestágenos son efectivos para sincronizar el celo en vaquillonas y vacas con cría y sus resultados en vacas en anestro dependen en gran medida de la condición nutricional de los animales tratados. La utilización de eCG puede ser una alternativa para incrementar los porcentajes de preñez en ganado con alto porcentaje de anestro o vaquillonas peri-púberes, pero la condición corporal no debe ser demasiado baja. En receptoras de embriones, la inducción de una luteólisis prematura mediante la administración de PGF en el día 4 o 5 del tratamiento y la estimulación del desarrollo folicular mediante 400 UI de eCG en el día 5 del tratamiento aumentan el número de receptoras seleccionadas para ser transferidas y los índices de preñez final se acercan al 50 %, disminuyendo de esta manera los costos de manutención de las receptoras hasta que quedan preñadas.

Finalmente, la selección del programa más adecuado dependerá de otros factores no fisiológicos como la eficiencia de la detección de celos, destreza del veterinario en la palpación rectal, dinero disponible por hembra para gastar en tratamientos, costo de la dosis de semen o del embrión, disponibilidad de mano de obra calificada, instalaciones disponibles y fundamentalmente de los objetivos del programa de mejoramiento genético del establecimiento.

REFERENCIAS

1. Ambrose, J.D., Drost, R.L., Monson, R.L., Rutledge, J.J., Leibfried-Rutledge, M.L., Thatcher, M.J., Kassa, T., Binelli M., Hansen, P.J., Chenoweth, P.J., Thatcher, W.W. 1999. Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryos to increase pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle. *J Dairy Sci*; 82:2369-2376.
2. Balla, E., Cledou, G., Nasetti, L., Maraña Peña, D., Bó, G.A. 2004. Efecto del tratamiento con TRIU-B por 7, 8 ó 9 días en programas de inseminación a tiempo fijo (IATF) en vacas y vaquillonas cruce cebú. *Acta Scientiae Veterinariae* 32 (suplemento): 224 abstr.
3. Balla, E., Cutaia L., Rizzi, C., Peres, L., Bo, G.A. 2005. Effect of suckling restriction and ecg treatment on pregnancy rates in postpartum bos indicus crossbred cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate. *Reprod Fertil. Dev.* (en prensa) abstr.
4. Barros, C.M. 2000. Sincronización del estro y ovulación en cebuínos. Quinto Congreso Argentino de Reproducción Animal, CABIA, Rosario, Argentina, CD.
5. Barros, C.M., Moreira, M.B.B., Figueiredo, R.A., Teixeira, A.B., Trinca, L.A. 2000. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*), using GnRH, PGF2a and Estradiol Benzoate. *Theriogenology*, 53:1121-34.
6. Baruselli PS, Marques MO, Carvalho NAT, Valentim R, Berber RCA, Carvalho Filho AF, Madureira EH, Costa Neto WP. 2000. Ovsynch protocol with fixed-time embryo transfer increasing pregnancy rates in bovine recipients. *Arq Fac Vet UFRGS, Porto Alegre, Brazil*; 28 (Suppl): 205 abstr.
7. Baruselli PS, Marques MO, Madureira EH, Costa Neto WP, Grandinetti RR, Bo GA. 2001. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. *Theriogenology*; 55:157 abstr.

8. Baruselli, P.S., Madureira, E.H., Marques, M.O. 2001. Programas de IA a tiempo fijo en *Bos indicus*. Resúmenes. Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal, Huerta Grande, Córdoba, Argentina, 95-116.
9. Baruselli, P.S., Marques M.O., Nasser, L.F., Reis, E.L., Bo, G.A. 2003. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. *Theriogenology* 59, 214 (abstract).
10. Beal WB. 1999. Streamlining embryo transfer. 18th Annual Convention AETA, Colorado Springs, CO, USA; 78-85.
11. Beal WE, Hinshaw RH. 2001. Synchronization of estrus and ovulation in bovine embryo transfer recipients. Proceedings of the Advanced Embryo Transfer Seminar 12. Annual Meeting of the American Association of Bovine Practitioners, Vancouver, BC, Canada.
12. Bo GA, Tribulo H, Caccia M, Tribulo R. 2001. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology*; 55:357 abstr.
13. Bó, G.A. y Baruselli, P.S. 2002. Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en el Ganado Bovino en Regiones Subtropicales y Tropicales. Capítulo XXXI. En: Avances en la Gandería doble propósito, C. Gonzalez-Stagnaro, Eleazar Soto Belloso y Lílido Ramírez Iglesia (Editores); Fundación Girarz, Maracaibo, Venezuela; 499-514.
14. Bó, G.A., Baruselli, P.S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R., Tríbulo, H., Mapletoft, R.J. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*; 57:53-72.
15. Bó, G.A., Adams, G.P., Caccia, M., Martínez, M., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1995. Ovarian follicular wave emergence after estradiol and progestogen treatment in cattle. *Anim Reprod Sci*, 39:193-204.
16. Bó, G.A., Adams, G.P., Nasser, L.F., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1993. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*, 40:225-239.
17. Bó, G.A., Caccia, M., Martínez, M., Mapletoft, R.J. 1996. Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. Proc. 13 th International Congress on Animal Reproduction, Sydney, Australia, 2:P7-22 abstr.
18. Bó, G.A., Caccia, M., Tríbulo, H., Adams, G.P., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1994. Synchronous ovulation in heifers treated with E-17 β and CIDR-B vaginal devices. Proc Can Society Anim Sci, Regina, SK, 1994, 284 abstr.
19. Bó, G.A., Cutaia, L., Brogliatti, G.M., Medina, M., Tríbulo, R., Tríbulo, H. 2001. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestágenos y estradiol. Resúmenes Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal , Huerta Grande, Córdoba, Argentina, 117-136.
20. Bó, G.A., Cutaia, L., Chesta, P., Moreno, D. 2004. The use of eCG to increase pregnancy rates in postpartum beef cows following treatment with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and fixed-time AI. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:127 (abstract).
21. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. 2002b. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. *Taurus* 14, 10-21.
22. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. 2002c. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Segunda Parte. *Taurus* 15, 17-32.
23. Bo G.A., Cutaia L., Balla, E., Moreno D., Aviles, M. Bertero, F. 2004. Follicular wave emergence and ovulation in beef cattle treated with prostaglandin F2 α at device insertion and removal of a new or used progesterone vaginal device. Proc. 15 th International Congress of Animal Reproduction, August 8-12, 2004, Porto Seguro, BA, Brazil, 1:110 abstr.
24. Broadbent PJ, Stewart M, Dolmal DF. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology*; 35:125-140.

25. Burke, C.R., Mussard, M.L., Grum, D.E., Day, M.L. 2001. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of estrus and ovulation in cattle with estradiol benzoate. *Anim Reprod Sci*, 66:151-160.
26. Burry E. 2002. Comunicación Personal.
27. Carcedo, J., Alonso, N., Menajovsky, J., Alvarez, C. Comparación de dos métodos de sincronización de celos e inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas cruza cebú. Resúmenes Tercer Simposio Internacional de Reproducción Animal, Carlos Paz, Argentina, 189 abstr.
28. Castilho, C., Dayan, A., Barros, C.M. 1997. Responsiveness of Nelore cows corpus luteum to PGF₂ α , administered intramuscularly or via submucosa vulvar. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 25: 205 abstr.
29. Cavalieri J, Fitzpatrick LA. 1995. Oestrus detection techniques and insemination strategies in *Bos indicus* heifers synchronized with norgestomet-oestradiol. *Aust Vet J*; 72:177-182.
30. Cavalieri, J., Rubio, I., Kinder, J.E., Entwistle, K.W., Fitzpatrick, L.A. 1997. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, 47: 801-814.
31. Chesta, P., Cutaia, L., Bó, G.A. 2003. Efecto del tratamiento con un DIB por 7 u 8 días sobre los porcentajes de preñez en vaquillonas cruza índicas inseminadas a tiempo fijo. V° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba: 387 abstr.
32. Colazo, M.G., Bó, G.A., Illuminanti, H., Meglia, G., Schmidt, E.E., Bartolomé, J. 1999. Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, 51:404 abstr.
33. Cutaia, L.; Veneranda, G; Tribulo, R.; Baruselli, P.S.; Bó, G.A. 2003. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de cría: factores que lo afectan y resultados productivos. Proceedings 5 Simposio Internacional de Reproducción Animal, June 27-29, Córdoba, Argentina, 119-132.
34. Cutaia, L., Moreno, D., Villata, M.L., Bó, G.A. 2001. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology*, 55:408 abstr.
35. Cutaia, L., Tríbulo, R., Moreno, D., Bo, G.A. 2003. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Theriogenology* 59, 216 abstr.
36. Cutaia, L. Chesta P., Moreno, D., Aviles M., Bertero F., Bo, G.A. 2004. Effect of time of prostaglandin F₂ α and estradiol benzoate administration on follicular wave emergence and ovulation in beef cattle treated with progesterone vaginal devices. Proc. 15 th International Congress of Animal Reproduction, August 8-12, 2004, Porto Seguro, BA, Brazil, 1:111 abstr.
37. Cutaia, L., Balla, E., Rizzi, C., Peres, L., Bo, G.A. 2005. Effect of temporary weaning and eCG treatment on pregnancy rates in postpartum *bos indicus* cows following treatment with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate. *Reprod. Fertil. Dev.* (en prensa) abstr.
38. Fernandes, P., Teixeira, A.B., Crocci, A.J., Barros, C.M. 2001. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF₂ α and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology*, 55:1521-1532.
39. Fuentes S, De la Fuente J. 1997. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients heifers. Proc XIII Annual Meeting AETE, Lyon, France; 148 abstr.
40. Galina, C.S., Orihuela, A., Duchateau, A. 1987. Reproductive physiology in Zebu cattle. *Vet Clin Nth Amer: Food Anim Practice*, 3:619-632.
41. Gambini, A.L.G., Moreira, M.B.P., Castilho, C., Barros, C.M. 1997. Follicular dynamics and synchronization of ovulation in Girolando cows. *Biol Reprod*, 56:195 abstr.
42. Hinshaw RH. Formulating ET contracts. Annual Meeting Soc for Theriogenology, Nashville, USA, 1999; 399-404.
43. Humblot, P., Grimard, B., Mialot, J.P. 1996. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in suckled beef cows treated with progestagen and PMSG. Proc Soc Theriogenology Meeting, Kansas City, 36-45.

44. Kastelic, J.P., Ginther, O.J. 1991. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim Reprod Sci*, 26:13-24.
45. Kerr, D.R., McGowan, M.R., Carroll, C.L., Baldock, F.C. 1991. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed bos-indicus and Bos indicus/taurus heifers in northern Australia. *Theriogenology*, 36:129-138.
46. Lopez-Barbella, S., Martinez, L.A., Gavaldon, L.L. 1981. Synchronization of estrous with norgestomet and prostaglandin F_{2α} in beef cattle. *Trop Anim Prod*, 6: 101-104.
47. Macmillan, K.L., Burke, C.R. 1996. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, 42:307-320.
48. Macmillan, K.L., Peterson, A.J. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anestrus. *Anim Reprod Sci*, 33:1-25.
49. Mapletoft RJ, Bo GA, Adams GP. 2000. Advances in the manipulation of donor cow and recipient estrus cycles in bovine embryo transfer programs. *Arq Fac Vet UFRGS, Porto Alegre*; 28:23-48.
50. Martínez, M.F., Adams, G.P., Bergfelt, D.R., Kastelic, J.P., Mapletoft, R.J. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci*, 57:24-33.
51. Mapletoft, R.J., Colazo, M.G., Small, J.A., Ward, D.R., Kastelic, J.P. 2004. Effect of dose of estradiol valerate on ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cows. *Reprod Fert Dev*, 16:130 (abstract).
52. McGowan, M.R. 1999. Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bos-indicus y cruce Bos indicus. Resúmenes Tercer Simposio Internacional de Reproducción Animal, Carlos Paz, Córdoba, Argentina, 71-82.
53. McGowan, M.R., Carroll, C.L., Davies, F.J. 1992. Fixed-time insemination of bos-indicus heifers following the use of Syncro-Mate-B (SMB) to synchronize estrus. *Theriogenology*, 37:1293-1300.
54. Mikeska, J.C., Willians, G.L. 1988 Timing of preovulatory endocrine events, estrus and ovulation in Brahman x Hereford females synchronized with norgestomet and estradiol valerate. *J Anim Sci*, 66:939-946.
55. Moreno D, Cutaia L, Tribulo R, Caccia M, Tribulo H, Chesta P, Villata ML, Bo GA. 2003. Fixed-Time embryo transfer in cows treated with progesterone vaginal devices and induced to ovulate with estradiol benzoate or hCG. *Theriogenology*; 59:307 abstr.
56. Moreno D, Cutaia L, Villata ML, Caccia M, Gatti G, Tribulo R, Tribulo H, Bo GA. 2002. Effect of the time of prostaglandin administration on pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology*; 57:552 abstr.
57. Moreno D, Cutaia L, Villata ML, Chesta, P, Videla Dorna I, Aba MA y Bo GA. 2002 Efecto del momento de la aplicación de PGF sobre el diámetro del folículo preovulatorio y la concentración de progesterona en vacas receptoras tratadas con dispositivos con progesterona. *Rev. Arg. Prod. Anim*; 22:279-280. abstr.
58. Mulvehill, P., Sreenan, J. 1977. Improvement of fertility in postpartum beef cows by treatment with PMSG and progestagen. *J Reprod Fertil*, 50: 323-325.
59. Murphy, B.D., Martinuk, D. 1991. Equine Chorionic Gonadotropin. *Endocrine Reviews*, 12:27-44.
60. Odde, K.G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci*; 68:817-830.
61. Oyedipe, E.O., Voh, A.A., Marire, B.N. 1986. Plasma progesterone concentrations during the oestrus cycle and following fertile and non-fertile inseminations of zebu heifers. *Br Vet J*, 142:41-46.
62. Penteado, L., Ayres, H., Reis, E.L., Madureira, E.H., Baruselli, P.S. Efeito do eCG e do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae* 32 (suplemento): 223 abstr.
63. Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, 44:915-923.

64. Roche, J.F. 1974. Synchronization of estrus in heifers with implants of progesterone. *J Reprod Fertil*, 41:337-334.
65. Scena, C. 1998. Uso de implantes progestágenos subcutâneos para induzir y sincronizar celos en rodeos de cría. Cuartas Jornadas Nacionales CABIA y Primeras del Mercosur, Buenos Aires, Argentina, 59-68.
66. Silva, R.C.P., Rodrigues, C.A., Marques, M.O., Ayres, H., Reis, E.L., Nichi, M., Madureira, E.H., Baruselli, P.S. 2004. Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae* 32 (suplemento): 221 abstr.
67. Stevenson, J. 2000. Sincronización de celos y de ovulaciones en ganado bovino de carne y de leche. Quinto Congreso Argentino de Reproducción Animal, CABIA, Rosario, Argentina, CD.
68. Stock AE, Fortune JE. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*; 132:1108-1114.
69. Tribulo H, Bo GA, Gatti G, Tegli JC, Cutaia L, Moreno D, Brito M, Tribulo R. 2000. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden; 2:115 abstr.
70. Tribulo H, Moreno D, Cutaia L, Gatti G, Tríbulo R, Caccia M, Bó GA. 2002. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and eCG and transferred without estrus detection. *Theriogenology*; 57:563 abstr.
71. Vasconcellos, J.L.M., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. 1994. Effects of Syncro-Mate-B combined with GnRH on follicular dynamics and time of ovulation. *J Anim Sci*, 72 (Suppl 1): 174 abstr.
72. Vasconcelos, J.L., Silcox, M.R.W., Pursley, J.R., Wiltbank, M.C. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52, 1067-1078.
73. Williams, S.W., Stanko, R.L., Amstalden, M., Williams, G.L. 2002. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus*-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. *J. Anim. Sci.* 80, 1173–1178.
74. Wiltbank, J.N., Zimmerman, D.R., Ingalls, J.E., Rowden, W.W. 1965. Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. *J Anim Sci*, 24: 990-994.
75. Zanenga CA, Pedroso MS, Lima GS, Santos ICC. 2000. Embryo transfer without estrus observation. *Arq Fac Vet UFRGS, Porto Alegre, Brazil*; 28(Suppl): 337 abstr.