

Comparación de tres métodos de sincronización de celos y ovulaciones con y sin inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vaquillonas para carne

Rusiñol, C.¹; Cavestany, D.^{2,3}

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la eficiencia de la sincronización de celos y ovulaciones en vaquillonas para carne ciclando, se realizó un ensayo con tres tratamientos en tres predios y en dos años consecutivos. Los tratamientos fueron: Ovsynch Modificado (OSYM) (n=1426), Heatsynch Modificado (HSYM) (n=1229) y Doble Prostaglandina (DPG) (n=1451) administradas con 14 días de intervalo. En los protocolos con inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) -OSYM y HSYM- se realizó detección de celos dos veces al día e inseminación artificial (IA) entre los días 5 y 7 de cada tratamiento y la IATF se realizó en los animales que no mostraron celo durante este período. En el tratamiento DPG, a las 36 horas de la segunda prostaglandina (PG) se inició la detección de celos e IA que continuó durante cinco días consecutivos. El Porcentaje de Preñez (PP) en los tratamientos fue del 68,9% (OSYM) del 70,0% (HSYM), y 49,4% (DPG), no existiendo diferencia significativa entre los protocolos IATF pero si la hubo entre éstos y el protocolo DPG (P<0,0001). El PP fue significativamente diferente entre años 67,6% y 56,6% para años 1 y 2 respectivamente; P<0,0001) y predios (predio A= 71,4; B= 62,3% y C= 56,8%; P<0,0001). No hubieron diferencias entre los predios B y C (62,3% y 56,8%; P>0,05) pero si la hubo entre éstos y el predio A (71,4%, P<0,0001). Los tres protocolos fueron eficientes pero los protocolos con IATF resultaron ser más eficaces al lograr un mayor porcentaje de preñez.

Palabras clave: Inseminación a tiempo fijo, Prostaglandinas, Ovsynch, Heatsynch

SUMMARY

To evaluate the efficiency of protocols for synchronization of estrus and ovulations in cycling beef heifers, an experiment was conducted including three treatments in three farms during two consecutive years. The treatments were: Modified-Ovsynch (OSYM) (n=1426), Modified-Heatsynch (HSYM) (n=1229) and Double Prostaglandin (DPG) given at a 14-day interval (n=1451). In the fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols -OSYM and HSYM-, heat detection was done twice a day from Day 5 PM to Day 7 PM, and the animals in heat were inseminated using the AM/PM rule; the FTAI was done on the OSYM and HSYM protocols to the animals that did not show heat during the three days mentioned before. In the DPG treatment, heat detection and artificial insemination started 36 hours after the second prostaglandin (PG), and was done for five consecutive days. The Pregnancy Rate (PR) showed significant differences between years (67.6% and 56.6% to the years 1 y 2 respectively; P<0.0001) and farms (farm A= 71.4; B= 62.3% and C= 56.8%; P<0.0001). There were no statistical differences between the farms B and C (62.3% and 56.8%; P<0.05) but both were different to farm A (71.4%, P <0.0001). All three protocols were efficient, but those with IATF resulted in better pregnancy rates.

Key words: Fixed time insemination, Prostaglandins, Ovsynch, Heatsynch

INTRODUCCIÓN

Una de las dificultades para un mayor uso de la Inseminación Artificial (IA) es la detección de celos. En los últimos años se desarrollaron diferentes estrategias para eliminar este inconveniente y obtener la mayor cantidad de animales inseminados en el menor tiempo posible (Diskin y col., 2002; Geary y col., 2001; Pursley y col., 1995; Silcox y col., 1995; Thatcher y col., 2001). Desde la década del 70 hasta el año 1995 la sincronización de celos en los bovinos se realizó mediante la administración de prostaglandina F_{2α} (PG) (Inskeep, 1973; Lauderdale y col., 1974). Macmillan y

Thatcher (1991) y Thatcher y col. (1991) introdujeron un tratamiento de sincronización de celos en vacas administrando PG siete días después de la inyección GnRH. Al inicio de la década del 90 y a consecuencia del mayor conocimiento de la dinámica folicular (Savio y col., 1993), se desarrollaron diferentes métodos usando GnRH como generador de una nueva onda folicular y que, en combinación con otras hormonas, produce una sincronización de la ovulación permitiendo la inseminación a tiempo fijo, o sea sin detección de celos (Pursley y col., 1995; Pursley y col., 1997). En general estos métodos tienen

baja fertilidad, comparados con los que se basan en la inseminación luego de la detección de celos y no aseguran la sincronización de la ovulación en todos los animales ya que un porcentaje de éstos tienden a mostrar celos más tempranos respecto al momento de la IATF (Cavestany 2002; Dalton y col., 2005; DeJarnette y col., 2001; Kasimanickan y col., 2005; Martinez y col., 2004; Stevenson y col., 1999; Twagiramungu y col., 1992). La hipótesis fue que los protocolos de sincronización de celos y ovulaciones (IATF) permiten lograr un mayor porcentaje de preñez cuando se usan con detección de celos

¹DV, MSc, Ejercicio Liberal, Uruguay.

²DV, MSc, PhD, Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: daniel.cavestany@gmail.com

Recibido: 14/1/11 Aprobado: 5/4/11

entre los días 5 PM y 7 PM a partir del comienzo de los mismos y son superiores a los obtenidos con DPG. El objetivo del trabajo fue comparar tres protocolos de inseminación, uno basado exclusivamente en la detección de celos e IA y dos combinando DC e IA con inseminación a tiempo fijo (IATF).

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

El trabajo se llevó a cabo en tres predios (A, B y C), en dos años, 2005 (año 1) y 2006 (año 2) e involucró 4106 vaquillonas para carne de razas Hereford, Aberdeen Angus y sus cruza, de 18 a 24 meses de edad, 250 ± 15 kg peso corporal y 4.12 ± 0.05 de condición corporal de promedio en una escala de 1 a 8 (Vizcarra y col. (1986)). Los tres establecimientos fueron seleccionados en diferentes departamentos; el Establecimiento «A» ubicado en el Departamento de Florida, el Establecimiento «B» en el Departamento de Cerro Largo y el Establecimiento «C» en el Departamento de Artigas. Estos establecimientos realizaban control de enfermedades reproductivas y manejos sanitarios adecuados al momento de comenzar el trabajo. Se realizó un examen ginecológico previo por palpación rectal para determinar presencia de cuerpo lúteo y/o folículos mayores a 10 mm, descartar los animales preñados y en anestro. Se utilizaron animales presuntamente ciclando. En todas las inseminaciones se utilizó semen importado con garantía sanitaria y de fertilidad. Las hormonas utilizadas fueron: GnRH: Acetato de Buserelina (Receptal®) 2 mL (8,4 µg) i/m, Universal Lab, Montevideo, Uruguay. PG: Cloprostenol sódico (Bioprost®) 2 mL (500 µg) i/m, Biotay, Montevideo, Uruguay.

BE: Estradiol-3-Benzoato en vehículo oleoso (Estradiol 10µg) 1 mL (1 mg) i/m, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina. La detección de celos se realizó dos veces por día, en la mañana temprano y por la tarde, por un lapso de no menos de 45 minutos en cada observación. Con el fin de uniformizar los intervalos entre el tratamiento y la IA, los animales se inseminaron en grupos (espaciados dentro del mismo día o en días consecutivos). Se sincronizó tantos animales como era posible inseminar en un período de 2 horas. Por esta razón, las inseminaciones se realizaron en grupos de aproximadamente 150 animales. Todas las inseminaciones fueron realizadas por el Dr. Rusiñol. En los tres establecimientos se uniformizó la alimentación, manejo e inseminación. La comida de las vaquillonas fue siempre sobre pasturas naturales mejoradas. La distribución de animales por tratamiento en cada predio y por año se resume en el Cuadro 1.

Tratamientos

Protocolo OSYM

Día 0 AM, aplicación de GnRH, día 6 AM aplicación de PG (Twagiramungu y col., 1992). En los días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM se realizó DC e IA. El día 8 AM aplicación de la segunda dosis de GnRH. El día 8 PM se efectuó la IATF dentro de las 14 y 17 horas de administrada la segunda GnRH. A los 17 días de la primera inseminación se realizó el repaso con IA por 5 días.

Protocolo HSYM

Día 0 AM aplicación de GnRH; en los días 5 PM, 6 AM/PM y 7 AM/PM se realizó DC e IA; día 6 AM aplicación de PG. Los animales que mostraron celo antes, fueron inseminados y no siguieron

en el grupo. El día 7 AM aplicación de BE, día 8 PM, a las 36 horas de la aplicación del BE, se realizó la IATF. A los 17 días de la primera inseminación se realizó el repaso con IA por 5 días.

Protocolo DPG

Se aplicaron dos dosis de PG con un intervalo de 14 días entre ellas. A los 18 días de la primera inseminación se realizó el primer repaso con IA a celo visto por 5 días.

Definición de parámetros de eficiencia reproductiva

- El porcentaje de detección de celos (PDC) se definió como el porcentaje de animales detectados en celo sobre el total de ofrecidos.

En los protocolos IATF la detección de celos es igual a 100% ya que se insemina el 100% de los animales. Para el Protocolo DPG se tuvo en cuenta aquellos animales que manifestaron celo en los 5 días consecutivos a partir de las 36 horas de la segunda aplicación de PG.

- El Porcentaje de Concepción (PC), se definió como el porcentaje de animales preñados sobre el total de inseminados.
- El Porcentaje de preñez (PP) se definió como el porcentaje de animales preñados sobre el total de ofrecidos (o como el producto de PDC x PC).

Análisis estadístico

El análisis se hizo por regresión logística con el procedimiento PROC LOGISTIC de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA; v. 9.1.3). El análisis de las frecuencias se realizó por PROC FREQ de SAS. Se tuvo en cuenta el efecto tratamiento, año y el efecto predio. Se estableció un nivel de significancia de 5%.

Cuadro 1. Distribución de animales por protocolo, por predio y por año.

Protocolo	Año 1				Año 2			Total	
	Predio		Subtotal	Predio		Subtotal			
	A	B		A	B				
OSYM	256	270	314	840	168	183	235	586	1426
HSYM	140	241	195	576	155	274	224	653	1229
DPG	231	236	211	678	302	219	252	773	1451
Total	627	747	720	2094	625	676	711	2012	4106

Cuadro 2. Porcentaje de vaquillonas inseminadas a tiempo fijo (IATF) en los protocolos OSYM y HSYM

Protocolo	n	IATF ³	OR ⁴	IC ⁵
OSYM ¹	1102	77,3 ^a	5,165	4,364-6,113
HSYM ²	488	39,7 ^b	1,000	Referente

¹: Ovsynch modificado; ²: Heatsynch modificado; ³: Inseminación Artificial a Tiempo Fijo; ⁴: Odds Ratio; ⁵: Intervalo de Confianza de 95%; ^{a, b}: P<0,0001.

Cuadro 3. Porcentaje de celos prematuros detectados en los protocolos HSYM (entre los días 5 PM y 7 PM) y DPG, o 36 horas a partir de la segunda inyección de PG).

Protocolo	n	PCED ³	OR ⁴	IC ⁵
HSYM ¹	741	60,3 ^a	0,895	0,765-1,046
DPG ²	913	63,0 ^a	1,000	Referente

¹: Heatsynch modificado; ²: Doble Prostaglandina; ³: Porcentaje de Celos Detectados; ⁴: Odds Ratio; ⁵: Intervalo de confianza de 95%; ^{a, b}: P>0.1.

RESULTADOS

En el Cuadro 2 se presenta el porcentaje de animales inseminados a tiempo fijo en los protocolos OSYM y HSYM. En el protocolo OSYM hubo mayor cantidad de IATF que en el HSYM y solo un 22,7 % de los animales mostraron celo prematuramente y fueron inseminados antes del momento asignado para realizar la IATF. Este porcentaje, al igual que en el HSYM (60,3 %), se consideró entonces como inseminados luego de un celo detectado (IACD).

En el Cuadro 3 se compara el porcentaje de celos prematuros del protocolo HSYM (ocurridos antes de la IATF) y los celos detectados en el protocolo DPG. Los mismos fueron de 60,3% para el HSYM y de 63,0% para el DPG (P>0.1)

Los porcentajes de concepción de los tres protocolos evaluados (Cuadro IV) fueron de 68,9%, 70,0% y 78,4% respectivamente. El porcentaje de concepción fue diferente entre los protocolos IATF y el DPG donde además en este último protocolo se obtuvo un mayor PC que los protocolos con IATF. Los animales de los protocolos OSYM y HSYM tuvieron 1,663 y 1,519 veces menos probabilidad de concebir que los inseminados con el DPG. En el mismo Cuadro se observa que la concepción en el año 1 fue mayor que en el año 2, así como entre los tres predios utilizados (A, B y C) donde el predio A tuvo mayor PC que los predios B y C.

En el Cuadro 4 se presenta el Porcentaje de Preñez (PP) por protocolo, predio y año. Existieron diferencias significativas

Cuadro 4. Porcentaje de Concepción general en vaquillonas para carne en los tratamientos OSYM, HSYM y DPG por Año y Predio

Protocolo	n	Porcentaje de concepción		
		PC ¹	OR ²	IC ³
OSYM	1426	68,9 ^a	1,663	1,367-2,020
HSYM	1229	70,0 ^a	1,519	1,245-1,858
DPG	913	78,4 ^b	1,0	Referente
Año				
1	1907	74,4 ^c	1,327	1,137-1,548
2	1661	68,6 ^d	1,0	Referente
Predio				
A	976	84,8 ^e	1,208	1,001-1,457
B	1335	73,2 ^f	1,088	0,909-1,303
C	1257	65,1 ^g	1,0	Referente
Total	3568⁴			

¹: Porcentaje de Concepción; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ⁴: 538 animales no se inseminaron por no presentar o no detectarse celo; ^{a, b}: P<0,0001; ^{c, d, e, f, g}: P<0,0001.

a favor de los dos protocolos con IATF (OSYM y HSYM) respecto al DPG. La diferencia se debe a que en los dos protocolos IATF se inseminaron el 100% de los animales y en el protocolo DPG el porcentaje de animales inseminados fue menor (63%) debido a que 538 vaquillonas no presentaron celo o éstos no fueron detectados. Los animales inseminados a tiempo fijo tuvieron entre 2,2 y 2,3 veces más probabilidad de quedar preñados que los que se inseminaron a celo detectado con DPG.

En el Cuadro VI se presenta el porcentaje de preñez obtenido en las inseminaciones a celo detectado (IACD) y a tiempo fijo (IATF) en los dos protocolos en los que se realizó IATF. Los animales inseminados luego de un celo detectado tuvieron 2,3 veces más probabilidad de quedar preñados que los inseminados a tiempo fijo.

DISCUSIÓN

En los dos tratamientos con IATF realizados la administración de PG para producir la luteólisis se realizó al sexto día de iniciado cada protocolo, lo que difiere con trabajos donde esta hormona se aplica en el día 7 del protocolo (Cavestany y col., 2000; Dalton y col., 2005; de la Sota y col., 2000; Geary y Whittier, 1998; Kasimanickan y col., 2005; Moreira y col., 2000; Pursley y col., 1995; Schmitt y col., 1996; Stevenson y col., 1999; Vasconcelos y col., 1999). No obstante, Twagiramungu y col. (1992) y Dahlen y col. (2002) encontraron que en vaquillonas de carne no había diferencias significativas respecto a la respuesta de la administración de PG el día 6 o 7 de iniciado los protocolos y por lo tanto para este trabajo se tomó esta variante con la finalidad de acortar un día los protocolos IATF utilizados, obteniéndose resultados similares a estos autores. Twagiramungu y col. (1992) detectaron celos por 10 días (desde la primera GnRH en adelante) mientras que Dahlen y col. (2002), no detectaron celos. En este trabajo, si bien la observación de celos se hizo solamente por 2 días (día 5 PM al 7 PM en los dos protocolos IATF), los porcentajes de celos detectados fueron mayores a los encontrados por Stevenson y col. (1999) y Twagiramungu y col. (1992). Estos celos (que se denominan prematuros pues ocurren antes del tiempo esperado) de otra

manera se habrían perdido y hubieran disminuido el porcentaje de preñez de la IATF, al inseminar animales que se encontraran en metaestro temprano (Dalton y col., 2005; Rivera y col., 2004; Thatcher y col., 2000; Yamada, 2005). El porcentaje de celos detectados en el protocolo DPG no fue diferente al del HSYM, pero la cantidad de animales inseminados fue menor, ya que en este último se inseminó el 100% de los animales y en el DPG se inseminaron sólo el 63%; Kasimanickam y col. (2005) describen resultados coincidentes. En el protocolo HSYM se detectaron más celos prematuros que en el OSYM y la razón fue la sustitución de la GnRH por BE al final del protocolo para inducir la ovulación, ya que el BE no inhibe las manifestaciones de celo, como sí lo hace la GnRH. Martínez y col. (2004) realizaron un trabajo con vaquillonas para carne usando BE para sincronizar la emergencia de las ondas foliculares y también encontraron que se producía un alto porcentaje de celos prematuros (28%) antes de la IATF, más bajo que los hallados en nuestro trabajo debido a que el protocolo usado fue algo diferente. Según estos autores, la aplicación de BE 24 horas luego de PG (administrada el día 6 de comenzada la sincronización de la emergencia de las ondas foliculares) da como resultado una expresión de celos muy baja (10,4%) que sumado al corto intervalo entre la PG y la aplicación del BE, produciría luteólisis prematura, hecho que aparentemente no se observó en nuestro trabajo corroborado por los resultados obtenidos. Estos investigadores no usaron GnRH sino BE para sincronizar la emergencia de las ondas foliculares (Día 0 del protocolo) y posiblemente ésta sea la diferencia entre sus resultados y los nuestros, donde se logró un alto porcentaje de celos en el HSYM. La preñez fue mayor en los animales con IACD que en los con IATF. Estos resultados apoyarían la hipótesis que la fertilidad de la IACD es mayor que la de IATF, lo que coincide con varios reportes (Cavestany y col., 2005; Cavestany y col., 2007; Dalton y col., 2005; Lean y col., 2003; Stevenson y col., 2000). Sin embargo, Martínez y col. (2004) afirman que los celos inducidos por aplicación de PG y los espontáneos o naturales, tienen la misma fertilidad.

El porcentaje de concepción (PC), definido como animales preñados sobre inseminados, no fue diferente en los tres tratamientos, sin embargo, el porcentaje de preñez (PP) que combina el porcentaje de detección de celos y el porcentaje de concepción (PDC x PC) fue menor en el grupo DPG, lo que coincide con un menor porcentaje de detección de celos en este grupo. Esto implica que se preñaron más animales en un período menor de tiempo y está de acuerdo con Ferguson y Galligan (1993) que consideran que el mejor parámetro a utilizar en un programa de inseminación artificial es el porcentaje de preñez, que mide el total de preñeces logradas en 21 días (un ciclo estral).

En este trabajo se consideraron todos los animales preñados como respuesta a los protocolos (los IATF y los IACD) debido que consideramos que están involucradas dentro del total de cada protocolo. Martínez y col. (2004) eliminan del análisis de sus resultados las vaquillonas que muestran celos prematuros y resultan preñadas, lo cual resulta en porcentajes diferentes. La administración de PG el día 6 de cada uno de los protocolos IATF no afectó el PC ni el PP, en comparación con la administración de PG el día 7 según describen diferentes autores (Barros y col., 2000; Cavestany y col., 2002; Kasimanickam y col., 2005; Martínez y col., 2004; Pursley y col., 1995; Roy y Twagiramungu, 1999). A pesar de la diferente incidencia de celos prematuros en el OSYM y HSYM (22,7% y 60,3% respectivamente), el PC y el PP no fueron diferentes, a pesar de lo expresado por Busch y col. (2008), que afirman que los PP son más altos en aquellos animales inseminados que mostraron celo respecto a los otros que no lo hicieron y fueron inseminados con IATF. La presencia de ciclos estrales cortos en vaquillonas en los protocolos IATF reduce la preñez y la concepción (Schmitt y col., 1996), aunque esto no sucede en vacas adultas (Pursley y col. (1994a; Twagiramungu y col., 1995). El hecho que los intervalos cortos sólo ocurran en aquellas vaquillonas que recibieron la segunda dosis de GnRH en un protocolo Ovsynch (por lo tanto se inseminan a tiempo fijo), parece reafirmar lo expresado por Schmitt y col. (1996) que la primera parte de la sincronización de estos protoco-

los (desde la aplicación de la primera GnRH hasta la aplicación de PG), no causa directamente los ciclos interastrales cortos y esto apoya la opción del uso de BE en lugar de GnRH para inducir la liberación de LH y reducir la variabilidad en el tiempo de la liberación de esta hormona en concomitancia con la aparición del celo.

Cavestany y col. (2002) realizaron un trabajo en vaquillonas de razas para carne en el cual en uno de los grupos se utilizó Ovsynch con observación de celos desde el día 0 al día 25 y cuyos resultados de preñez (41,0%) difieren con los obtenidos en el OSYM de nuestro trabajo (69,0%); en otro grupo en el cual se utilizó el mismo protocolo pero sin detección de celos, los resultados de preñez (62,3%) fueron similares a los obtenidos en el OSYM. Nuestros resultados son similares a Twagiramungu y col. (1992 y 1995), pero debe notarse que en uno de los protocolos realizados por estos autores, se hizo detección de celos. En vaquillonas es mucho más efectivo utilizar este tipo de protocolos debido a la débil expresión de los celos y a su corta duración (Stevenson y col., 1996). Según Bó y col. (2000), un factor importante que puede influir negativamente en que el protocolo Ovsynch no sea del todo efectivo en vaquillonas es la menor duración de las ondas foliculares (con un recambio folicular más rápido y más ciclos de tres ondas), siendo menores que en las vacas en lactancia (con recambio folicular más lento y más ciclos de dos ondas).

La utilización de la detección de celos en los protocolos con IATF entre los días 5 PM y 7 PM, mejoró el porcentaje de preñez respecto a los resultados presentados para el Ovsynch y Heatsynch clásicos y aumentó en casi un 20% el PP respecto a lo obtenido con el uso del protocolo DPG.

A pesar que existió un «efecto año» en los resultados, éste fue similar para el PC y para el PP; esto fue posiblemente debido a que el régimen pluviométrico fue mayor en el año 1 que en el 2, lo que repercutió en una mayor oferta, disponibilidad y calidad de forraje en el primer año mientras en el segundo año se presentó una sequía importante en el momento de las inseminaciones. En sistemas pastoriles como el de Uruguay, el efecto de variables climáticas sobre la re-

producción es notorio y posiblemente difícil de evitar.

Se encontró también una variación importante entre predios a pesar que los tratamientos fueron realizados de manera exacta en cada uno de ellos y el inseminador fue el mismo en todos los casos. Los protocolos también se iniciaron en la misma estación del año en todos ellos, con escasos días de diferencia. Aunque se trató de que la distribución de animales entre ellos (y entre tratamientos dentro de ellos) fuera similar, el número de animales utilizados en el análisis estadístico (luego de

editados los datos y eliminados los animales con información incompleta) fue ligeramente diferente. El diseño experimental no fue planteado para evaluar el consumo de forraje ni la calidad del mismo en cada predio, a pesar que en todos los casos los animales se encontraban en campo natural. Lo que sí resulta importante destacar de este ensayo, es que resultados de protocolos similares no son extrapolables a diferentes predios o situaciones, sobre todo cuando se trabaja en predios comerciales donde es imposible controlar todas las variables involu-

cradas. Aunque son escasos los reportes de trabajos de sincronización en el país (no así la existencia de trabajos en sí), Cavestany y col. (2002) reportan resultados diferentes trabajando con vaquillonas en condiciones similares.

Se confirmó la hipótesis planteada que los protocolos de sincronización de celos y ovulaciones (IATF) permiten lograr un mayor porcentaje de preñez cuando se usan con detección de celos entre los días 5 PM y 7 PM a partir del comienzo de los mismos y son superiores a los obtenidos con DPG.

Referencias Bibliográficas

- Barros, C.M.; Moreira, M.B.P.; Figueredo, R.A.; Teixeira, A.B.; Trinca, L.A.** (2000). Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and Estradiol Benzoate. *Theriogenology*; 53:1121-1134.
- Bó, G.A.; Bergfelt, G.P.; Pierson, R.A.; Tríbulo, H.E.; Caccia, M.; Mapletoft, R.J.** (2000). Local versus system effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. *Anim. Reprod. Sci.*; 59:141-157.
- Busch, D.C.; Schafer, D.J.; Wilson, D.J.; Mallory, D.A.; Leitman, N.R.; Haden, J.K.; Ellersieck, M.R.; Smith, L.F.; Patterson D.J.** (2008). Timing of artificial insemination in postpartum beef cows following administration of the Co-Synch controlled internal drug-release protocol. *J. Anim. Sci.*; 86:1519-1525.
- Cavestany, D.; de Nava, G.; Galina, C.S.** (2000). Sincronización de celos con inseminación a tiempo fijo como alternativa para incrementar la eficiencia reproductiva en programas de inseminación artificial en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo. XXI World Buiatrics Congress. 10201 abs: p037.
- Cavestany, D.** (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos del Uruguay. Costos y variaciones en las respuestas. Primera parte: Fundamentos Teóricos. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
- Cavestany, D.; Negrin, N.; Negrin, R., Groth, J.F.** (2002). Response of beef heifers and non-suckling beef cows to different oestrus synchronization protocols. *Anim. Sci.*; 74:547-552.
- Cavestany, D.; Cibils, J.; Freire, A.; Sastre, A.; Stevenson, J.S.** (2003). Evaluation of two different oestrus-synchronization methods with timed artificial insemination and resynchronization of returns to oestrus in lactating Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*; 77:141-155.
- Cavestany, D.; Bentancour, H., Blanc, J.E.; Lemaire, C.; Slavica, J.; Moreira, F.; Risco, C.** (2007). Reproductive efficiency in grazing lactating dairy cows under a programmed reproductive management system. *Aust. Vet. J.*; 85:141-147.
- Dahlen, C.R.; Lamb, G.C.; Zehnder, C.M.; Miller, L.R.; Di Constanzo, A.** (2002). Fixed-time insemination in prepuberal, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2 α and GnRH. *Theriogenology*; 59:1827-1837.
- Dalton, J.C.; Manzo, R.; Ahmadzadeh, A., Shafii, B.; Price, W.J.; DeJarnette, J.M.** (2005). Short communication: Conception rates following detection of estrus and timed artificial insemination in dairy cows synchronized using GnRH and PGF2 α . *J. Dairy Sci.*; 88: 4313-4316.
- DeJarnette, J.M. ; Salverson, R.R., Marshall, C.E.** (2001). Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF2 α . *Anim. Reprod. Sci.*; 67:27-35.
- de la Sota, R.L.; Crudeli, G.A.; Torres-Giménez, G.** (2000). Sincronización repetida de la ovulación e inseminación programada en vacas Brahman y Bradford comerciales. V Congreso Argentino de Reproducción Animal. CABIA, Buenos Aires, Argentina.
- Diskin, M.G.; Austin, E.J., Roche, J.F.** (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.*; 23:211-228.
- Ferguson SD, Galligan DT.** (1993). Reproductive programs in dairy herds. *Proc. Central Veterinary Conference*: pp161-178, Kansas City, MO.
- Geary, T.W.; Whittier, J.C.** (1997). Modifications of Ovsynch estrous synchronization protocol for use in beef cows. *J. Anim. Sci.*; 75:236 abstr.
- Geary, T.W.; Whittier, J.C.; Hallford, D.M.; MacNeil, M.D.** (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J. Anim. Sci.*; 79:1-4.
- Inskeep, E.K.** (1973). Potential uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. *J. Anim. Sci.*; 36:1149-1157.
- Kasimanickam, R.; Cornwell, J.M.; Nebel, R.L.** (2005). Fertility following fixed-time AI or

- insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 63:2550-2559.
19. **Lauderdale, J.W., Seguin, B.E.; Sterflung, N.J.; Chenault, J.R.; Thatcher, W.W.; Vicent, K.J.; Loyancano, A.F.** (1974). Fertility of cattle following PGF 2α injection. *J. Anim. Sci.*; 38:964-967.
 20. **Lean, I.J., Porter, J.A., Rabiee, A.R.; Morgan, W.F.; Tranter, W.P.; Moss, N.; Rheinberg, R.J.** (2003). Comparison of effects of GnRH and prostaglandin on conception rates and time to conception in dairy cows. *Aust. Vet. J.*; 81:488-493.
 21. **Macmillan, K.L.; Thatcher, W.W.** (1991). Effect of an agonist of GnRH on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.*; 45:883-889.
 22. **Martinez, M.F.; Kastelic, J.P.; Mapletoft, R.J.** (2004). The use of Estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. *Theriogenology*; 62: 363-372.
 23. **Moreira, F.; de la Sota, R.L.; Díaz, T. Thatcher, W.W.** (2000). Effect of day of the estrus cycle at the initiation of timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.*; 78:1568-1576.
 24. **Pursley, J.R.; Kosorok, M.R.; Wiltbank, M.C.** (1994). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.*; 77: suppl.1.
 25. **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.
 26. **Pursley, J.R.; Wiltbank, M.C.; Stevenson, J.S.; Ottobre, J.S.; Garverick, H.A.; Anderson, L.L.** (1997). Pregnancy rates per AI for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.*; 80:295-300.
 27. **Rivera, H.; Lopez, H.; Fricke, P.M.** (2004). Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed artificial insemination or artificial after removed tail chalk. *J. Dairy Sci.*; 87:2051-2061.
 28. **Roy, G.L.; Twagiramungu, H.** (1999). Time interval between GnRH and prostaglandin injections influences the precision of estrus in synchronized cattle. *Proc. Ann. Conf. IETS. Theriogenology*; 51:413.
 29. **Savio, J.D.; Thatcher, W.W.; Morris, G.R.; Intwistle, K.; Drost, M.; Mattiacci, M.R.** (1993). Effect of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J. Reprod. Fertil.*; 98:77-84.
 30. **Schmitt, E.J.P.; Díaz, T.; Drost, M.; Thatcher, W.W.** (1996). Use of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084-1091.
 31. **Silcox, R.W.; Powell, K.L.; Pursley, J.L.; Wiltbank, M.C.** (1995). Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers with GnRH and prostaglandin. *Proc. Ann. Conf. IETS. Theriogenology*; 43: 325.
 32. **Stevenson, J.S.; Kobayashi, Y.; Shipka, M.P.; Rauchholz, K.C.** (1996). Altering conception of dairy cattle by Gonadotropin-Releasing Hormone preceding luteolysis induced by Prostaglandin α F 2 . *J. Dairy Sci.*; 79:402-410.
 33. **Stevenson, J.S., Kobayashi, Y.; Thompson, K.E.** (1999). Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F 2α . *J. Dairy Sci.*; 82: 506-515.
 34. **Stevenson, J.S.; Thompson, K.E.; Forbes, W.L., Lamb, G.C.; Grieger, D.M.; Corah, L.R.** (2000). Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet and prostaglandin with or without timed inseminations. *J. Anim. Sci.*; 78:1747-1758.
 35. **Thatcher, W.W.; Driancourt, M.A.; Terqui, M.; Badinga, L.** (1991). Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy during early pregnancy. *Domest. Anim. Endocrinol.*; 8:223-234.
 36. **Thatcher, W.W.; Patterson, M.S.; Moreira, F.; Pancarci, M.; Jordan, E.R., Risco, C.A.** (2001). Current Concepts for Estrus Synchronization Timed Insemination. *AABP Proc. 34th Annual Convention.* pp 95 -105.
 37. **Thatcher, W.W.; Santos, J.E.P., Moreira, F.** (2000). Strategies to increase pregnancy rates in cattle. *Proc. 19th Ann. Conf. Amer. Embryo Transfer Association.* P.17-46.
 38. **Twagiramungu, H. ; Guilbault, L.A., Dufour, J.J.** (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a GnRH agonist to increase the precision of estrus in cattle. A review *J. Anim. Sci.*; 73:3141-3151.
 39. **Twagiramungu, H.; Guilbault, L.A.; Proulx, J.; Dufour, J.J.** (1992). Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*; 38:1131-1144.
 40. **Vasconcelos, J.L.M., Silcox, R.W., Rosa, G.J.; 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 estrus cycle. *Theriogenology*; 52:1067-1078.
 41. **Vizcarra, J.A.; Ibañez, W., Orcasberro R.** (1986). Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas*, 7:45-47.
 42. **Yamada, K.** (2005). Development of ovulation synchronization and Fixed Time Artificial Insemination in dairy cows. *J. Reprod. Dev.*; 51: 177-186.