

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**SINCRONIZACIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN A TIEMPO FIJO EN  
VAQUILLONAS HOLANDO. COMPARACIÓN ENTRE OVSYNCH MÁS  
TERAPRESS® POR 7 DÍAS Y OVSYNCH MÁS TERAPRESS® POR 9 DÍAS, CON  
RESINCRONIZACIÓN DE LOS RETORNOS.**

**Por**

**Alvaro BENTANCUR  
Gabriela GRASSO**

**TRABAJO FINAL presentado como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
(Orientación Producción Animal)**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2005**

026 TG  
Sincronización  
*Bentancur, Alvaro*



FV/26518

second service was 75 % in the group inseminated at natural estrus and 48 % in the resynchronized group. Final pregnancy rate was 69.8 % in the Ovsynch+P4, and 57.1 % in the Ovsynch9+P4. It was concluded that the permanence of the intravaginal implant for two more days avoided premature estrus improving synchronization without affecting the fertility.

## 1. INTRODUCCIÓN

En sistemas lecheros con servicios estacionales, la maximización de la eficiencia reproductiva es esencial, ya que el servicio y el parto, están restringidos a una parte del año, con el fin de sincronizar la producción de leche con el crecimiento de las pasturas (Grosshans y col., 1997). El principal objetivo de un programa de manejo reproductivo es obtener la mayor cantidad de vacas preñadas en el menor tiempo posible.

Uno de los principales factores que afecta la eficiencia reproductiva es la falla en la detección de celos (Barr, 1974; Foote; 1975; De Kruif y Brand, 1978).

Las soluciones más simples son aumentar el tiempo dedicado a la detección de celos (Eederburg-Van y col., 1996) e implementar métodos para aumentar el número de vacas en celo en un corto período de tiempo utilizando protocolos de sincronización de celos o de ovulación (Cavestany y Foote, 1985).

La incorporación sistemática de la sincronización de celos en el manejo de un rodeo lechero comercial permite a los productores minimizar el trabajo de detección de celos y al mismo tiempo aumentar la eficiencia reproductiva global del rodeo (Pankowski y col., 1995).

Pursley y col. (1995) desarrollaron un protocolo de sincronización de ovulación con inseminación artificial sin que sea necesaria la detección de celos. Éste consiste en una primera inyección de GnRH, una inyección de PGF<sub>2</sub>α 7 días más tarde y una segunda dosis de GnRH administrada 48 horas después. Como la ovulación es sincronizada en un período de 8 horas, las vacas son inseminadas a tiempo fijo aproximadamente a las 15 horas luego de la segunda inyección de GnRH.

Los objetivos de este trabajo son:

- Evaluar la eficiencia de la sincronización de celo en vaquillonas Holando por medio de una combinación de GnRH, PG y GnRH (Ovsynch), modificado con la adición de un dispositivo vaginal conteniendo progesterona por 7 días y compararla con un Ovsynch modificado con la adición de un dispositivo vaginal conteniendo progesterona por 9 días.
- Evaluar la sincronización de la población y la fertilidad de la inseminación artificial realizada a tiempo fijo (IATF) con ambos métodos.
- Evaluar la reutilización del dispositivo vaginal conteniendo progesterona más benzoato de estradiol (BE) en un protocolo de resincronización de retornos.

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de Mesa:

ANDRÉS FERRERIS

Nombre completo y firma

Segundo Miembro (Tutor):

JUAN EL COBBIAN

Nombre completo y firma

Tercer Miembro:

JUAN EL COBBIAN

Nombre completo y firma

Fecha:

11/11/05

Autores:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Daniel Cavestany por su constante apoyo y dedicación a éste trabajo.**

**Al personal de campo del I.N.I.A. La Estanzuela.**

**Al Laboratorio Biogénesis por la donación de Terapress® y Enzaprost®.**

**A la Facultad de Veterinaria que contribuyó en nuestra formación**

**A nuestras familias y amigos por estar siempre con nosotros en este camino.**

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
TABLA DE CONTENIDO.....	IV
<u>RESUMEN</u> .....	1
<u>SUMMARY</u> .....	1
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	3
2.1. <u>CICLO ESTRAL EN LA VACA</u> .....	3
2.1.1. <u>Fases del ciclo estral</u> .....	3
2.1.2. <u>Crecimiento y desarrollo folicular</u> .....	4
2.1.3. <u>Desarrollo del cuerpo lúteo</u> .....	5
2.1.4. <u>Manifestaciones del celo</u> .....	5
2.1.5. <u>Hormonas que intervienen en la reproducción</u> .....	6
2.1.5.1. Hormonas hipotalámicas.....	7
2.1.5.2. Hormonas hipofisarias gonadotrópicas.....	7
2.1.5.3. Hormonas ováricas.....	8
2.1.5.4. Hormonas uterinas.....	9
2.2. <u>EFICIENCIA REPRODUCTIVA</u> .....	9
2.3. <u>MÉTODOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS</u> .....	10
2.3.1. <u>Prostaglandinas y sus análogos</u> .....	11
2.3.2. <u>Combinación de análogos de GnRH y PGF<sub>2</sub>α</u> .....	12
2.3.3. <u>Progesterona y Progestágenos</u> .....	15
2.3.4. <u>Resincronización de Celos</u> .....	17
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	18
3.1. <u>ANIMALES</u> .....	18
3.2. <u>TRATAMIENTOS</u> .....	18
3.3. <u>DETECCIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL</u> .....	19
3.4. <u>DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN</u> .....	19
3.5. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u> .....	19
4. <u>RESULTADOS</u> .....	19
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	23
6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	26
7. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	27

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CICLO ESTRAL EN LA VACA

La vaca es un animal poliéstrico continuo. La edad al primer estro o pubertad está afectada por la raza, la nutrición y por la estación del nacimiento (Arthur, 1991). Según Hafez (1989), la edad promedio de la pubertad varía entre los 10 y 12 meses en razas lecheras, y entre 11 y 15 meses en razas productoras de carne. En la especie bovina el inicio de la pubertad se asocia más al peso corporal que a la edad (Mc. Donald, 1991). Una vez que la pubertad ha sido alcanzada, la actividad cíclica se mantendrá excepto durante la preñez, de 3 a 6 semanas luego del parto, con altas producciones de leche y también en condiciones patológicas (Arthur, 1991).

En las vaquillonas la duración promedio del ciclo estral es de 20 días y de 21 días en vacas, con rangos normales de 18 a 22 días y 18 a 24 días respectivamente. El promedio de duración del estro es de 15 horas; sin embargo hay un amplio rango que va de 2 a 20 horas. La ovulación es espontánea y ocurre generalmente 12 horas luego de finalizado el estro (Arthur, 1991).

#### 2.1.1. Fases del ciclo estral

El ciclo estral se divide en 4 fases: Estro: día 0, Metaestro: días 1 al 3, Diestro: días 4 al 18 y Proestro: desde día 19 al inicio del estro, basándose en la presencia de estructuras ováricas (folículos, cuerpos lúteos) cambios uterinos, vaginales y de conducta manifiestos (Mc. Donald, 1991).

El proestro es el período de crecimiento folicular rápido bajo estimulación gonadotrópica. La conducta del animal responde al incremento progresivo de los niveles de estrógenos secretados por los folículos en desarrollo. Hay una disminución progresiva de los niveles de progesterona debido a la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior (Mc. Donald, 1991). El útero está agrandado, el endometrio se vuelve congestivo y edematoso y hay un aumento de la actividad secretoria de las glándulas. La mucosa vaginal se vuelve hiperémica. Los signos externos se caracterizan por edema vulvar e hiperemia (Arthur, 1991)

El estro se define como el período de receptividad sexual, durante el cual ocurre el apareamiento. La duración del mismo varía de 14 a 18 horas (Mc. Donald, 1991).

Las glándulas del cervix secretan mucus, el epitelio vaginal y el endometrio se vuelven hiperémicos y congestivos y el cervix se relaja (Mc. Donald, 1991). La ovulación ocurre cerca de 12 horas de finalizado el estro (metaestro) (Arthur, 1991). El proestro y el estro forman la fase folicular del ciclo estral (Mc. Donald, 1991).

El metaestro es el período en el que ocurre la ovulación y comienza el desarrollo del cuerpo lúteo. Se caracteriza por bajas concentraciones de estrógenos, progesterona y LH (Morrow, 1986), durante éste, el sistema reproductivo cambia del predominio de estrógenos al de progesterona (Mc. Donald, 1991).

El diestro es la fase del ciclo en la cual el cuerpo lúteo se desarrolla de manera total, llegando al tamaño maduro hacia el día 7 del mismo y los órganos reproductores se encuentran bajo la influencia dominante de la progesterona. Ésta es la fase más larga del ciclo estral pues dura de 16 a 17 días en la vaca (Mc. Donald, 1991).

Hay una hipertrofia e hiperplasia de las glándulas uterinas. El cérvix está contraído y las secreciones se vuelven escasas y pegajosas. La mucosa vaginal se vuelve pálida (Arthur, 1991). El metaestro y el diestro forman la fase luteal del ciclo estral.

En los animales no apareados o en aquellos que no ocurrió la concepción el cuerpo lúteo regresa al final del diestro, que es seguido por el proestro y un nuevo estro (Mc. Donald, 1991).

### 2.1.2. Crecimiento y desarrollo folicular

A mediados de la gestación, el ovario del feto bovino contiene su población completa de ovogonias. Estas ovogonias están contenidas dentro de los folículos primordiales y los primeros estadios de desarrollo folicular comienzan durante éste período (Erickson, 1966; Marion y col., 1968). Al momento del nacimiento, la hembra bovina posee en el ovario alrededor de 0.5 millones de folículos primordiales que en forma gradual y continua comienzan a transformarse en folículos antrales. Una vez que un folículo comienza éste proceso de crecimiento alcanzará uno de dos destinos: ovulación o atresia.

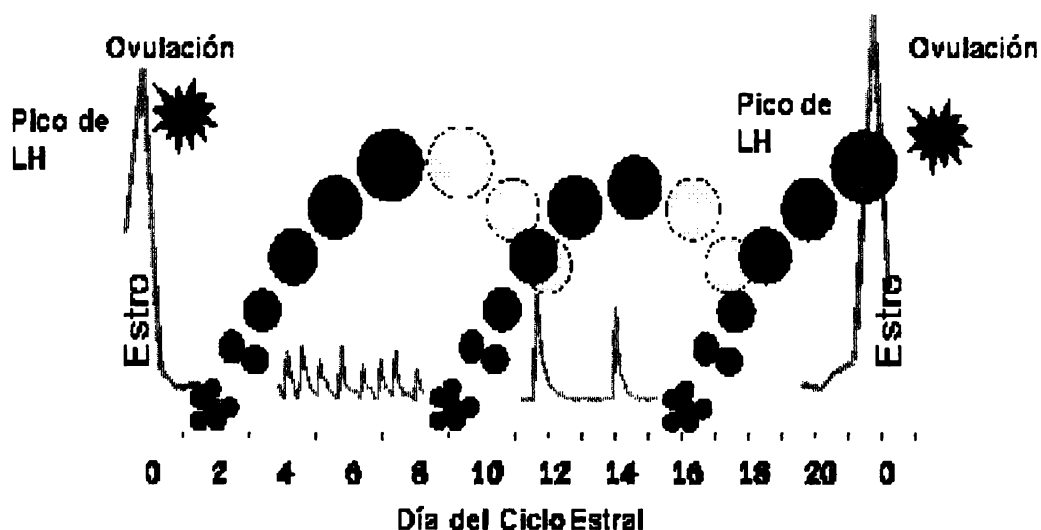


Figura 1: Desarrollo folicular durante el ciclo estral

La mayoría de las vacas presentan de 2 a 3 ondas foliculares por ciclo estral, variando éstas desde 1 a 4 (Savio y col., 1988; Sirois y Fortune, 1988)

Las ondas de crecimiento folicular no solo ocurren en animales ciclando, también están presentes en animales prepúberes (Evans y col., 1994), en animales durante el posparto (Savio y col., 1990), y en los animales preñados (Tatcher y col., 1991; Ginther y col., 1996).

En la fase temprana del ciclo estral una serie de folículos son reclutados desde un pool de folículos antrales más pequeños (2 a 4 mm). Luego de éste reclutamiento comienza una fase de selección, en la cual un único folículo emerge desde el pool de folículos reclutados y continúa creciendo, mientras que los otros disminuyen su tamaño (atresia).

Según Ginther y col.(1989a) el folículo dominante de la primer onda folicular permanece activo hasta la mitad del ciclo estral (día 8 a 11).

Éste primer folículo dominante puede ovular si es inducida la regresión del cuerpo lúteo al inyectarle PGF2 $\alpha$  en los días 5 al 8 (Savio y col., 1988; Kastelic y col., 1990a). En la mayoría de los ciclos estrales, el primer folículo dominante regresa (Savio y col., 1988; Sirois y Fortune, 1988; Ginther y col., 1989 a) y hay una segunda onda folicular (reclutamiento, selección y dominancia), resultando en la presencia de un segundo folículo dominante. En los ciclos con dos ondas, la maduración del segundo folículo dominante coincide con la regresión espontánea del cuerpo lúteo, y este folículo ovula luego de la luteólisis (Savio y col., 1988; Sirois y Fortune, 1988; Taylor y Rajamahendran, 1991). Alternadamente, el segundo folículo dominante puede volverse atrésico, provocando el inicio de una tercera onda folicular. Los animales que presentan tres ondas foliculares tienen un ciclo estral más largo (24 días) (Taylor y Rajamahendran, 1991), ya que el estro se demora cuando el segundo folículo dominante falla en su ovulación y un tercer folículo dominante requiere tiempo adicional para completar su maduración antes de ovular.

### 2.1.3. Desarrollo del cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es un órgano endocrino temporal, que funciona únicamente pocos días en el animal cíclico no preñado. Luego de la ovulación, hay una hemorragia en la cavidad folicular y se forma un coágulo de sangre. El folículo lleno de sangre y desprovisto del oocito se denomina cuerpo hemorrágico. Este coágulo sirve como marco físico y medio nutriente para la proliferación rápida de las células de la granulosa y teca, las cuales, por su diferenciación en células luteínicas, son las principales responsables del desarrollo rápido de éste órgano (Mc. Donald, 1991).

El cuerpo lúteo es uno de los órganos más vascularizados del cuerpo. El órgano recién formado se llama cuerpo lúteo verdadero cuando el animal queda gestante y el cuerpo continúa funcionando. En el animal cíclico no preñado, el órgano recién formado se denomina cuerpo lúteo falso, ya que está destinado a degenerarse (Mc. Donald, 1991). Si no se encuentra un embrión viable hacia el día 16 del ciclo en la vaca, el cuerpo lúteo sufre luteólisis (regresa), se degenera en forma gradual, las células luteínicas son sustituidas por fibroblastos, y las otras células son atrapadas en el tejido conectivo en formación. El cuerpo no funcional avascular en degeneración se llama cuerpo lúteo blanco o simplemente cuerpo albicans. Ocurre una degeneración física lenta, que en general dura de dos a tres semanas. Durante varios ciclos estrales, una cicatriz de tejido conectivo visible quedará en el ovario (Mc. Donald, 1991).

### 2.1.4. Manifestaciones del celo

En una población de animales sexualmente activa, con una distribución normal del ciclo estral, la frecuencia de celos oscila entre un 3% y un 4% diario (Smalley, 1981).

Trimberger y Frincher, (1956) descubrieron que la duración del estro promediaba las 17.8 horas en vacas y 15.3 horas en vaquillonas. Las manifestaciones tienden a ser más marcadas en vacas que en vaquillonas.



Muchos factores pueden influenciar la duración del estro, como ser la raza, estación del año (temperatura ambiental), presencia del toro, nutrición, la monta, nivel de producción láctea, el número de lactancia, y quizás el más importante, la cantidad de animales que están en celo al mismo tiempo (Wishart, 1972; Hurnik y col., 1976).

Hay evidencia de que la mayor manifestación de celo se da durante las horas de la noche, quizá debido a que los animales son menos molestados (Williamson y col., 1972; Esslemont y Bryant, 1976). Según Mc Donald (1991) el 60-70% de ésta actividad estroal tiene lugar entre las 6 de la tarde y las 6 de la mañana. Sin embargo, para Trimberger y Frincher (1956) tiene una distribución igual a lo largo del día y la noche.

Hay una gran variación en el ganado en cuanto a la intensidad de los signos de estro. Los signos evidentes del estro en la vaca se dividen en manifestaciones pre-estroales, estroales y post-estroales (Mc. Donald, 1991), e incluyen descarga de moco y edema vulvar, vocalización, actividad incrementada, disminución de la producción láctea y la monta de otras vacas (Mc. Donald, 1991).

El criterio más confiable para determinar que una vaca o vaquillona está en celo es la pasividad a la monta por otra vaca (Williamson y col., 1972; Foote, 1975). Hay una tendencia a formar los grupos sexualmente activos, en los cuales hay una disminución en los tiempos de pastoreo, descanso, rumia y frecuentemente en la producción de leche. Hay un aumento en el tiempo de caminata, así como también la frecuencia de micción se incrementa (Morrow, 1986). A medida que se aproxima el estro la vaca tiende a buscar otras vacas en estro produciéndose el lamido y olfateo del perineo. Durante este período (proestro), estro y enseguida después (metaestro) la vaca tratará de montar a otras vacas. Si la vaca que va a ser montada está en celo permanece quieta (Esslemont y Bryant, 1976), pero si la vaca que es montada no se encuentra en estro, va a caminar no dejándose montar. Una respuesta positiva a la monta dura 5 segundos (Hurnik y col., 1976), sin embargo si las dos vacas están en celo la duración se prolonga.

Frecuentemente hay una descarga genital mucosa, transparente y filante que cuelga de la vulva y que puede adherirse a la cola o los flancos, la vulva se encuentra edematosa y congestiva y hay una pequeña elevación de la temperatura corporal.

Los pelos de la base de la cola están frecuentemente revueltos y la piel a veces presenta excoriaciones debido a la monta por otras vacas, así como la presencia de barro en la parte posterior por el abrazo (Arthur, 1991)

Pasado el celo aparece una descarga vulvar mucosa de color blanco amarillenta que contiene neutrófilos y leucocitos provenientes del útero. Tanto vacas como vaquillonas pueden mostrar una descarga sanguinolenta (sangrado metaestral) aproximadamente 48 horas luego del estro, que proviene principalmente de las carúnculas uterinas (Arthur, 1991).

#### **2.1.5. Hormonas que intervienen en la reproducción**

Las hormonas que controlan los procesos de la reproducción se derivan principalmente de ciertas áreas del hipotálamo, hipófisis, gónadas, placenta y útero (Hafez, 1989)

### 2.1.5.1. Hormonas hipotalámicas

#### *Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH)*

El hipotálamo controla la liberación de las gonadotropinas de la hipófisis anterior mediante la acción de sustancias específicas liberadoras e inhibidoras. Estas son secretadas por las neuronas hipotalámicas y transportadas desde la eminencia media del hipotálamo hasta la hipófisis por el sistema portal hipotálamo-hipofisario (Arthur, 1991).

Las principales acciones de la GnRH son estimular, a nivel hipofisario, la síntesis y liberación de hormonas gonadotrópicas: FSH y LH.

La aplicación de la GnRH y sus análogos se basa principalmente en su habilidad para estimular y producir picos de LH y FSH desde la hipófisis anterior. Éste pico de LH inducido ha sido usado satisfactoriamente para inducir ovulación en vacas y ovejas, cuyas ondas preovulatorias de LH son muy cortas.

Otro uso terapéutico es inducir la luteinización de quistes ováricos en ganado de tambo (Morrow, 1986).

### 2.1.5.2. Hormonas hipofisarias gonadotrópicas

La adenohipófisis secreta tres hormonas gonadotrópicas que son la folículoestimulante (FSH), luteinizante (LH) y prolactina, todas con acción primaria sobre las gónadas (Hafez, 1989). Tanto la FSH, como la LH, son secretadas por células basófilas de la pituitaria anterior (Morrow, 1986).

#### *Hormona folículoestimulante (FSH)*

Es una glicoproteína con dos subunidades diferentes  $\alpha$  y  $\beta$ , con un peso aproximado de 32000 daltons y una vida media de dos horas.

En la hembra estimula el crecimiento y la maduración de los folículos de de Graaf, representando el factor principal para inducir el crecimiento en el ovario (Hafez, 1989).

En presencia de la LH estimula la producción de estrógenos, a partir de las células de la granulosa del folículo (Morrow, 1986).

En la actualidad la FSH se utiliza principalmente para inducir el crecimiento folicular en la superovulación para la transferencia de embriones, así como para tratamientos de sincronización fuera de la época de servicio en especies con reproducción estacional (Morrow, 1986).

#### *Hormona luteinizante (LH)*

Esta hormona también es una glicoproteína compuesta de una subunidad  $\alpha$  y otra  $\beta$  con un peso molecular de 30000 daltons y una vida media de 30 minutos.

Es la principal sustancia luteotrópica en animales domésticos (Hafez, 1989). Los niveles tónicos o basales de LH actúan junto a la FSH para inducir la producción de estrógenos de los folículos en desarrollo (Hafez, 1989). Estimula la secreción de progesterona a partir de las células luteínicas del ovario. La ovulación de folículos maduros, maduración de ovocitos y formación y mantenimiento del cuerpo lúteo, son las principales funciones de la LH en la hembra (Morrow, 1986).

Debido al costo de purificación de la LH a partir de hipófisis, se utiliza la HMG (Gonadotropina menopáusica humana) que tiene una acción similar a la LH y se utiliza para inducir la ovulación, principalmente en vacas con quistes ováricos y en la superovulación para la transferencia de embriones (Hafez, 1989).

### 2.1.5.3. Hormonas ováricas

El ovario produce dos hormonas esteroideas importantes, el estradiol-17 $\beta$  y la progesterona, las cuales ocasionan cambios en el tracto genital y en otras partes del cuerpo (Mc. Donald, 1991).

#### *Estrógenos*

Los estrógenos se producen en la teca interna y las células de la granulosa del folículo ovárico con el control sinergista de la FSH y la LH. Las principales funciones fisiológicas del estradiol-17 $\beta$  y de los estrógenos en general son el desarrollo y mantenimiento de la estructura funcional de los órganos sexuales de la hembra, así como los caracteres sexuales secundarios (Mc. Donald, 1991). Son responsables del comportamiento estral, aunque pequeñas cantidades de progesterona o una preexposición a la misma potencializa su efecto. Inducen los cambios en el tracto tubular requeridos para el apareamiento exitoso y el transporte de los gametos (Morrow, 1986). Inducen una vascularización pronunciada, incremento del flujo sanguíneo y edema de útero, vagina y vulva (Mc. Donald, 1991). Estimulan la actividad miometrial y sensibilizan al útero a los efectos de la prostaglandinas y oxitocina durante el estro y el parto, además de participar en la maduración del folículo de de Graaf y provocan el pico preovulatorio de LH (Morrow, 1986).

La inducción del estro conductual es un uso frecuente de los estrógenos, pero aunque la administración de los mismos puede inducir un pico preovulatorio de LH, éste no siempre resulta en ovulación, ya que la maduración folicular crítica necesaria no es estimulada por éstos. Otro uso terapéutico de los estrógenos es para aumentar el tono y la motilidad uterinos con el objetivo de expulsar contenido del mismo en los casos de endometritis y piómetra (Morrow, 1986).

Pueden ser abortivos en vacas y ovejas debido a que ejercen una acción luteolítica (Hafez, 1989).

#### *Progesterona*

La progesterona es producida por el cuerpo lúteo del animal cíclico y por el cuerpo lúteo y la placenta durante la gestación, siendo necesaria para el mantenimiento de la preñez. En los animales cíclicos la fuente de progesterona son las células luteínicas del cuerpo lúteo (Mc. Donald, 1991).

Coordina el ciclo estral a través del feed back negativo en la secreción de LH. Suprime la actividad miometrial, promueve la secreción de "leche" uterina por las glándulas endometriales, bloquea las manifestaciones de celo y permite la implantación del embrión en el útero. Actúa sinérgicamente con los estrógenos para promover el crecimiento uterino y mamario (Morrow, 1986).

Como uso principal de la progesterona en reproducción tenemos la sincronización de celo y ovulación cuando es utilizada por un período corto. Existen una cantidad de

formas de administración que incluyen aditivos para la ración, tabletas orales, inyectables, dispositivos vaginales de liberación lenta, esponjas vaginales e implantes subcutáneos (Morrow, 1986).

### *Inhibina*

Es una hormona proteica, producida por las células de la granulosa.

Es capaz de inhibir selectivamente la liberación de FSH a partir de la hipófisis, sin alterar la liberación de LH (Hafez, 1989).

#### 2.1.5.4. Hormonas uterinas

### *Prostaglandinas*

Las prostaglandinas son ácidos grasos hidroxilados, no saturados de 20 carbonos. Son sintetizadas en varios tejidos, y tienen una gran variedad de funciones. El ácido araquidónico es el precursor de las prostaglandinas más relacionadas con la reproducción, en particular la PGF<sub>2</sub>α y PGE (Hafez, 1989), las cuales son producidas en el útero (Mc. Donald, 1991). La PGF<sub>2</sub>α en la vaca actúa a nivel local por transferencia, difusión o algún otro medio, desde la vena útero-ovárica hacia la arteria ovárica (Mc. Donald, 1991). El mecanismo de acción de las PGF<sub>2</sub>α es mediante el bloqueo de los receptores de LH presentes en el cuerpo lúteo compitiendo así con la hormona luteinizante y provocando el cese de la actividad del cuerpo lúteo.

La PGF<sub>2</sub>α estimula las contracciones uterinas, desempeña una función en el transporte de los espermatozoides, tanto en la hembra como en el macho; provoca constricción de los vasos sanguíneos y tiene efecto luteolítico en animales domésticos. También participa en la inducción del trabajo de parto al final de la gestación mediante su acción sobre el músculo liso del útero (Mc. Donald, 1991).

La capacidad de la PGF<sub>2</sub>α para inducir luteólisis ha sido explotada extensivamente como una herramienta para manipular el ciclo estral en los animales domésticos (Morrow, 1986).

Provoca el aborto cuando se administra al principio de la gestación e induce trabajo de parto si es administrada hacia el final de la misma (Mc. Donald, 1991). Es útil en el tratamiento de infecciones uterinas y piometra en la vaca (Hafez, 1989).

## 2.2. EFICIENCIA REPRODUCTIVA

La importancia de una buena eficiencia reproductiva (ER) en la rentabilidad de la empresa agropecuaria fue reconocida hace tiempo por Williams (1919). Posteriormente, De Kruif y Brand (1978), en una extensa revisión de los factores que influyen en la eficiencia reproductiva en rodeos lecheros, priorizaron los parámetros de fertilidad más importantes como: porcentaje de preñez al primer servicio, número de servicios por concepción e intervalo parto a concepción. Al ser la duración de la gestación prácticamente constante, el intervalo parto a concepción (días abiertos) determina la duración del intervalo inter partos (IIP). La meta entonces es lograr un IIP de 12 meses (Louca y Legates, 1976). El IIP es determinado por el período de espera voluntario (PEV), la tasa de detección de celos (DC), porcentaje de concepción (PC) y porcentaje de abortos. El IIP afecta los litros de leche producida por día y durante toda la vida de

las vacas del rodeo y el ingreso asociado a esto contribuye a mejorar la rentabilidad del mismo (Ferguson y Galligan, 1993).

En sistemas lecheros con pariciones estacionales, la maximización de la eficiencia reproductiva es esencial, ya que el servicio y el parto, están restringidos a una parte del año, con el fin de sincronizar la producción de leche con el crecimiento de las pasturas, ya sean naturales o implantadas artificialmente (Grosshans y col., 1997).

En los sistemas pastoriles, los dos factores principales que afectan la eficiencia reproductiva son el prolongado anestro posparto y la falla en la detección de celos, siendo éste último el más limitante (Barr 1974; Foote, 1975; De Kruif y Brand, 1978). La tasa de preñez es el producto de la tasa de detección de celos por la tasa de concepción (Burke y col., 1996). Si la tasa de preñez se incrementa, ya sea por un aumento en la tasa de detección de celos, mayor tasa de concepción o ambos, el intervalo parto concepción disminuye (Heersche y Nebel, 1994). Aumentar la tasa de concepción es difícil, así que mejorar la tasa de detección de celos es la manera más fácil de mejorar la eficiencia reproductiva. Las soluciones más simples son aumentar el tiempo dedicado a la detección de celos (Eederburg-Van y col., 1996) e implementar métodos para aumentar el número de vacas en celo en un corto período de tiempo utilizando protocolos de sincronización de celos o de ovulación (Cavestany y Foote, 1985).

Según DeJarnette (2001) la causa más importante de las fallas en la fertilización es una mala detección de celos, y esto no solo significa la habilidad para detectar los signos de celo cuando éstos se manifiestan, sino también en saber deducir el momento exacto de la inseminación en base a éstos.

La incorporación sistemática de la sincronización de celos en el manejo de un rodeo lechero comercial le permite a los productores minimizar el trabajo de detección de celos y al mismo tiempo aumentar la eficiencia reproductiva global del rodeo (Pankowski y col., 1995).

Recientemente han sido desarrollados protocolos que sincronizan la regresión del cuerpo lúteo con la maduración del folículo dominante (Wolfenson y col., 1994; Pursley y col., 1995, 1997a, Pursley y col., 1997b; Xu y col., 1997). Estos protocolos permiten realizar inseminaciones en un momento dado con un éxito razonable, aumentan la tasa de sumisión de las vacas, y consecuentemente eliminan los errores en la detección de celos (Archbald y col., 1992; Pursley y col., 1997a; Stevenson y col., 1999),

### 2.3. MÉTODOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELOS

La sincronización de estro y ovulación en un grupo de hembras permite predecir el momento del estro con una seguridad razonable (Britt, 1984; Hanse y Beal, 1979). Esto reduce el tiempo requerido para su detección o en algunos casos hace posible la inseminación en un momento fijo sin la detección del estro (Hafez, 1989)

Hoy en día existen numerosos protocolos para la sincronización de celos en bovinos. Dentro de los mismos hay algunos que sincronizan el celo mediante el acortamiento de la fase luteal del ciclo estral, como es el caso de las prostaglandinas y sus análogos, por lo tanto son eficientes solamente en animales que están ciclando. Otros métodos sincronizan la ovulación, actúan simulando una fase luteal, permitiendo la

sincronización de una onda folicular y de la ovulación, como los que utilizan progesterona o progestágenos y GnRH y sus análogos junto con PGF<sub>2α</sub>.

Los programas efectivos de sincronización de celos brindan una serie de ventajas:

- Las vacas o vaquillonas están en estro en un momento previsible, lo cual facilita la inseminación artificial, así como la transferencia de embriones.
- Se reduce el tiempo y el trabajo empleados para la detección de celos.
- La implementación de la IA se vuelve más práctica en condiciones extensivas.

El control preciso de la ovulación permite realizar la inseminación artificial a tiempo fijo, sin necesidad de detección de celos (Thatcher y col., 2001)

Si se sincroniza el rodeo temprano en la época de servicios, la época de servicios y la de parición van a ser más cortas.

Los protocolos de sincronización de celo que se utilizan para ganado lechero se dividen en cuatro grandes categorías:

Prostaglandinas y sus análogos  
Análogos de GnRH y PGF<sub>2α</sub>  
Progesterona y Progestágenos  
Estradiol

### 2.3.1 Prostaglandinas y sus análogos

La interrupción de la fase luteal es el mecanismo por el cual las prostaglandinas pueden ser usadas para controlar el estro (Morrow, 1986).

La inyección de PGF<sub>2α</sub> es una manera de inducir la regresión del cuerpo lúteo de una forma similar al proceso normal. La tasa de concepción de éste método es similar a la del celo natural (en comparaciones dentro de cada rodeo) (Cavestany, 2002). Su respuesta depende de la presencia de un cuerpo lúteo funcional (día 7 a 16 del ciclo estral) y varía de acuerdo al día del ciclo en que se aplique, debido a la ocurrencia de ondas foliculares durante el mismo (Sirois y Fortune, 1988; Lucy y col., 1992). Una de las limitaciones de la PGF<sub>2α</sub> es su incapacidad para causar la luteólisis en el ganado cuando es inyectada antes del día 7 del ciclo estral (Lauderdale, 1972; Liehr y col., 1972; Rowson y col., 1972; Hill y col., 1973; Louis y col., 1973).

Ya que un cuerpo lúteo es necesario para que la PGF<sub>2α</sub> ejerza su acción, los protocolos basados solamente en el uso de PGF<sub>2α</sub> no son efectivos en vacas en anestro ni en vaquillonas prepúberes (Day, 1998). Por otra parte, en vacas en lactación la respuesta a ésta hormona es más errática que en vaquillonas (Cavestany, 2002). La utilización de PGF<sub>2α</sub> para la sincronización de celos no tiene suficiente precisión como para obtener un porcentaje de concepción aceptable si se quiere combinar con inseminación a tiempo fijo. Esto se debe a que éste tratamiento no sincroniza el crecimiento folicular y la onda preovulatoria de LH (Larson y Ball, 1992). Los bajos índices de preñez obtenidos por IATF luego de la sincronización con PGF<sub>2α</sub>, podrían ser parcialmente explicados por la variación en el momento de ovulación con respecto al momento de la inseminación artificial. La mayor parte de la variación en el momento de la ovulación es debida al estado de desarrollo del folículo preovulatorio al momento de la inyección de

la PGF<sub>2α</sub> (Momont y col., 1983). Por lo tanto se necesita realizar la detección de celos durante un período de 7 días luego de la administración de PGF<sub>2α</sub> (Larson y Ball, 1992).

#### *Protocolos a base de PGF<sub>2α</sub>*

- Utilizando 1 dosis de PGF<sub>2α</sub>:

Detección de celos e IA durante 5-6 días, inyección de PGF<sub>2α</sub> y detección de celos e IA por 5-6 días más.

Otra opción es realizar palpación rectal e inyección de PGF<sub>2α</sub> a aquellas vacas que presenten CL y luego hacer detección de celos e IA por 5 a 6 días.

- Utilizando 2 dosis de PGF<sub>2α</sub>

Inyección de PGF<sub>2α</sub> a todos los animales y detección de celos e IA por 5-6 días, 11 a 14 días más tarde otra inyección de PGF<sub>2α</sub> a aquellos animales que no fueron inseminados, seguido por otro período de detección de celos igual al anterior.

La recomendación para tratamientos en vaquillonas es de dos dosis con diferencia de 11 días (Alberio, 2003). La respuesta a este tratamiento realizado a campo fue de un 85% (Van Cleeff y col., 1991). En vacas en producción los cambios metabólicos y hormonales asociados con la lactación alteran el desarrollo folicular del ovario con reducción de los niveles de estrógeno y alteración del patrón de desarrollo folicular (De la Sota y col., 1993), por lo que entran en celo más tarde que vaquillonas y vacas no lactando. Debido a esto un intervalo de 14 días entre inyecciones en vacas en producción resultan en un mayor porcentaje de preñez y disminución de días abiertos (Ferguson y Galligan, 1993).

Ferguson y Galligan (1993) implementaron un programa de sincronización de celos con prostaglandinas que denominaron "Targeted Breeding" para vacas posparto, el cual es iniciado en un momento determinado, luego del período de espera voluntario. El mismo consiste en 3 inyecciones de PGF<sub>2α</sub>, con un intervalo de 14 días entre cada una de ellas. Se administra la primera dosis de PGF<sub>2α</sub>, los animales detectados en celo, serán inseminados a celo visto, a los 14 días de la primera inyección de PGF<sub>2α</sub>, todas las vacas que no fueron detectadas en celo, son inyectadas de vuelta con PGF<sub>2α</sub>. Con este sistema, el 90 % de las vacas deberían ser inseminadas luego de las primeras 2 inyecciones de PGF<sub>2α</sub>.

#### 2.3.2 Combinación de análogos de GnRH y PGF<sub>2α</sub>.

La inyección de GnRH o sus análogos seguida por la administración de PGF<sub>2α</sub> 7 días más tarde ha sido bastante efectiva en la sincronización de celos (Tatcher y col., 1989; Twagiramungu y col., 1995; Wolfenson y col., 1994). En contraste con la sincronización con PGF<sub>2α</sub> solamente, la combinación de GnRH y PGF<sub>2α</sub> tiene la ventaja de sincronizar el desarrollo folicular, la secreción de estradiol y la luteólisis en una manera secuencial, lo cual contribuye a una mayor precisión en la manifestación de celo.

#### *Programa Ovsynch / TAI*

Investigación realizada en la Universidad de Wisconsin ha llevado al desarrollo de un nuevo protocolo de IATF en vacas de tambo en producción, sin la necesidad de detectar celo (Pursley y col., 1994). La inyección de GnRH puede inducir la ovulación de un folículo dominante y cuando es usada después de la sincronización de una onda

folicular y la regresión del cuerpo lúteo, debería programar la ovulación e incrementar el éxito de la IATF (Pursley y col., 1994; Roche, 1975; Silcox y col., 1995) sin la detección de celo (Pursley y col., 1995)

#### *Protocolo Ovsynch / TAI*

Pursley y col. (1995) desarrollaron un protocolo de sincronización de la ovulación con IATF, utilizando GnRH y PGF<sub>2α</sub>, la primera inyección de GnRH induce la liberación de LH y FSH, que a su vez producen la ovulación o luteinización del folículo dominante e inician una nueva onda de desarrollo folicular. La inyección de PGF<sub>2α</sub> 7 días más tarde produce la regresión del cuerpo lúteo. Si se produce la formación de un cuerpo lúteo por la inyección inicial de GnRH, el intervalo de 7 días por lo general es suficiente para que éste madure y responda a la PGF<sub>2α</sub>. Una segunda dosis de GnRH se administra 48 horas después de la inyección de PGF<sub>2α</sub> y ésta deberá causar la liberación de LH y la ovulación del folículo dominante. El intervalo entre la primera y la segunda dosis de GnRH (9 días) es suficiente para producir el reclutamiento, selección y crecimiento al tamaño preovulatorio de un nuevo folículo dominante, que será sensible al pico de LH inducida por la segunda inyección de GnRH. La GnRH inducirá la ovulación del folículo dominante en aproximadamente 24 a 32 horas (Pursley y col., 1995), por lo tanto las vacas son inseminadas a tiempo fijo de 16 a 20 horas antes de la ovulación.

Algunos estudios han demostrado que el Ovsynch resulta en tasas de concepción menores a las obtenidas en IA posteriores a la detección de celo (Jobst y col., 2000; Stevenson y col., 1999)

El intervalo entre las inyecciones es considerado clave para el éxito del programa; un intervalo menor a 7 días entre la inyección de GnRH y la de PGF<sub>2α</sub>, hace que la posibilidad de regresar el cuerpo lúteo recientemente formado se vea reducida. Si la segunda inyección de GnRH se dilata más de 48 horas luego de la inyección de PGF<sub>2α</sub>, más vacas serán detectadas en celo antes de la misma, reduciéndose la sincronización entre ellas y el momento de la inseminación no será correcto (Thatcher y col., 2001). El tiempo óptimo para realizar la inseminación parece estar entre las 12 y 18 horas después de la inyección de la GnRH (Pursley y col., 1998). La premisa es que los espermatozoides capacitados se encuentren presente en el tracto uterino al momento de la ovulación (Thatcher y col., 1998).

Mediante la determinación de concentraciones crecientes de progesterona se ha determinado que los tratamientos con análogos de GnRH pueden inducir el retorno de la actividad ovárica cíclica en vacas en anestro posparto, los rangos de fertilidad luego de la inducción de celo con el uso de GnRH y PGF<sub>2α</sub> fueron similares a aquellos obtenidos en animales ciclando (Twagiramungu y col., 1992b, Twagiramungu y col., 1992c). El éxito del programa depende de la etapa del ciclo estral en la cual el protocolo es iniciado. Cuando el tratamiento es iniciado hacia el final del ciclo (día 15 del ciclo estral) hay una segunda onda folicular en desarrollo. Este folículo podrá o no ovular, dependiendo de su madurez, si la onda es muy pequeña, no ovulará y por lo tanto no habrá desarrollo de un nuevo cuerpo lúteo. Dos a cuatro días luego de la inyección de GnRH se producirá la regresión del cuerpo lúteo de manera espontánea por la prostaglandina liberada por el útero, entonces al momento de la inyección de la PGF<sub>2α</sub> al día 7 la vaca puede haber entrado en celo (Moreira y col., 2000a). Estas vacas serán asincrónicas ovulando prematuramente, si el protocolo continúa, la inseminación se



hará demasiado tarde y la vaca no concebirá. Si el tratamiento es iniciado al comienzo del ciclo estral (día 2) la vaca estará en la etapa de reclutamiento folicular, el folículo será pequeño y por lo tanto la inyección de GnRH no alterará su desarrollo y no reclutará una nueva onda folicular (Moreira y col., 2000a). Como consecuencia, al momento de la segunda inyección de GnRH, el folículo dominante estará envejecido y habrá permanecido dominante por más de cinco días, por lo que su fertilidad se verá reducida (Moreira y col., 2000a; Vasconcelos y col., 1999), los folículos podrán ovular pero los oocitos serán menos fértiles y algunas vacas no ovularán. Moreira y col. (2000a) concluyeron que la etapa ideal del ciclo estral para iniciar el protocolo Ovsynch es la fase luteal temprana (día 5 al 10). Es posible manipular el ciclo estral de manera tal que todos los animales se encuentren en una etapa ideal del mismo al inicio del protocolo Ovsynch, este tratamiento previo a la implementación del Ovsynch es conocido como Presynch o presincronización.

#### *Protocolo Presynch*

Consiste en dos inyecciones de PGF<sub>2α</sub> con un intervalo de 14 días, siendo la última inyección 12 días antes de la primera inyección de GnRH. Este programa de presincronización hará que las vacas se encuentren entre los días 5 y 12 del ciclo estral al momento del comienzo del protocolo Ovsynch, lo que resulta en mayor precisión de la sincronización, un mayor porcentaje de concepción y por lo tanto de preñez (Moreira y col., 2000b).

Es importante al momento de iniciar la presincronización verificar que las vacas se encuentren ciclando ya que sino el tratamiento no será efectivo (Thatcher y col., 2001).

#### *Protocolo Heatsynch*

Uno de los usos del estradiol como parte de los sistemas de sincronización de celo es su capacidad para inducir el pico de LH mediante la estimulación de GnRH a nivel hipotalámico (Thatcher y col., 2001). El método consiste en una inyección de GnRH, seguida a los 7 días por una inyección de PGF<sub>2α</sub> y una inyección de una sal de estradiol 24 horas después de la PG. Los tratamientos a base de Estradiol durante el diestro tardío y el proestro (bajos niveles de progesterona) inducirán el pico preovulatorio de LH y FSH (Kinder y col., 1991; Stumpf y col., 1991). El pico preovulatorio inducido por la inyección de estradiol en el proestro dura aproximadamente 10 horas (Short y col., 1979), lo que es similar al pico espontáneo. De hecho, este pico de LH es de una mayor duración a aquel inducido por la GnRH. El estro se presenta a las  $29.0 \pm 1.8$  hs después de la inyección de estradiol.

Resultados recientes utilizando vaquillonas de tambo indicaron que el estradiol puede reemplazar la segunda inyección de GnRH en un protocolo de IATF para inducir una ovulación de manera satisfactoria, cuando es administrado 24 horas después de la inyección de PGF<sub>2α</sub> (Lopes y col., 2000). La sustitución de la segunda dosis de GnRH por benzoato de estradiol disminuye los costos del tratamiento pero la mayor variabilidad en la respuesta implica que un sistema de inseminación luego de la detección de celos sea preferible a la IATF (Cavestany, 2002).

Ya que fue determinado que las vaquillonas de tambo y las vacas secas ovularon 62 y 60 horas luego de la inyección de cipionato de estradiol respectivamente; la inseminación artificial debe ser realizada 48 horas después de la inyección del estradiol.

Otra de las ventajas de usar el estradiol es que aumenta el tono uterino, facilitando la inseminación y la manifestaciones del estro son más marcadas (Thatcher y col., 2001).

Los protocolos SelectSynch y CoSynch son modificaciones del protocolo Ovsynch (Geary y col., 1999)

#### *Protocolo CoSynch*

Este protocolo de sincronización de la ovulación es igual al Ovsynch, pero la diferencia está en que la inseminación a tiempo fijo se realiza el mismo día que se administra la segunda inyección de GnRH, con lo que se disminuye el movimiento del ganado a solamente tres oportunidades (Geary y col., 1999)

#### *Protocolo SelectSynch*

Es usado para sincronizar el estro más que la ovulación, por lo que igual requiere de la detección del mismo. Consiste en una primera inyección de GnRH, que causa la ovulación y la ocurrencia de una nueva onda folicular, seguida 7 días después por una inyección de PGF<sub>2α</sub> para regresar el cuerpo lúteo formado. El folículo podrá ovular naturalmente sin que sea necesaria la aplicación de una segunda dosis de GnRH. Posteriormente se realiza detección de celo e inseminación artificial luego de las 12 horas de detectado el mismo (Geary y col., 1998; Thatcher y col., 2001). La mayoría de las vacas ciclando entran en celo 36 a 71 horas después de la inyección de prostaglandina. Si no se realiza un programa de presincronización, algunas vacas pueden entrar en estro antes de la inyección de PGF<sub>2α</sub> (Thatcher y col., 2001).

### 2.3.3. Progesterona y Progestágenos

La adición de una fuente exógena de progesterona para la sincronización ha sido estudiada, ya sea usando progesterona natural (Kerr y col., 1991), implantes de progesterona sintética (Beal y col., 1984), mediante la administración oral de progestágenos (acetato de melengestrol MGA) (Brown y col., 1988) o implantes intravaginales de medroxiprogesterona (MAP) (Alberio y col., 1999).

Una pequeña cantidad de progestágenos circulando en sangre suprimirá el estro hasta que la fuente de progestágenos sea removida. El principio para este método de sincronización es que una fuente exógena de progestágenos es administrada, ya sea en la alimentación de los animales o como implantes; como un sustituto o en conjunto con la progesterona proveniente del cuerpo lúteo. El retiro sincrónico de todas las fuentes de progestágenos en todas las hembras resultaría en la sincronización de los estros (Day, 1998).

Los tratamientos largos con progestágenos (más de 14 días) permiten la regresión espontánea del cuerpo lúteo, son exitosos al lograr una excelente sincronización, pero el porcentaje de concepción disminuye durante éstos tratamientos, la razón de esta disminución de la fertilidad es el resultado de un crecimiento folicular anormal (Lucy y col., 1990; Sirois y Fortune, 1990) que resulta en la formación de folículos persistentes envejecidos, (Sanchez y col., 1993; Mihm y col., 1994; Anderson y col., 1995; Thatcher y col., 2001) más aún cuando son iniciados en la fase folicular del ciclo estral (Savio y col., 1993; Smith y Stevenson, 1995), en cambio la incidencia del recambio folicular es

mayor cuando un progestágeno es administrado durante la fase luteal del ciclo estral, así como la tasa de preñez (Thatcher y col., 1998).

Una de las principales ventajas en el uso de los progestágenos para sincronizar el ciclo estral con respecto a la PGF<sub>2α</sub> es que ha sido demostrado que los tratamientos cortos en base a progestágenos inducirán el comienzo de la actividad cíclica en hembras en anestro, ya sea en vacas posparto (Smith y col., 1979; Beal y Good, 1986; Anderson y Day, 1998; McDowell y col., 1998b) o en vaquillonas prepúberes (Anderson y col., 1996; Imwalle y col., 1996; Hall y col., 1997). Esto proporciona la oportunidad de inseminar estos animales durante el periodo de sincronización y reducir la duración del anestro posparto en vacas y la edad a la pubertad en vaquillonas.

#### *Combinación de progestágenos y PGF<sub>2α</sub>:*

Las vacas con altas concentraciones de progesterona antes de la inyección de prostaglandina para sincronizar el ciclo estral tienen tanto una tasa de detección de celos mayor (Rosenberg y col., 1990), como una tasa de concepción más alta (Folman y col., 1990).

Este protocolo se basa en la administración oral de MGA durante 14 días y la inyección de PGF<sub>2α</sub> 17 días después de finalizada la suplementación con MGA (Brown y col., 1988). El ciclo estral se presentará en los 7 días siguientes a la finalización de la suplementación (Patterson y col., 1989; Odde, 1990; King y Odde, 1993) y es de baja fertilidad debido a la larga duración del tratamiento con progestágenos por lo que las hembras no serán servidas en éste ciclo estral. La inyección de prostaglandina 17 días después de la última suplementación con MGA (aproximadamente 10 a 16 días después del ciclo estral infértil), cuando la mayoría de las hembras están en la mitad de su ciclo estral, induce un celo de alta fertilidad (Day, 1998).

#### *Combinación de Progestágenos y Estradiol:*

Los principales componentes de éste programa incluyen: la inserción de un dispositivo liberador de progesterona intravaginal durante 7 a 8 días el cual inducirá la aparición del ciclo estral en vacas en anestro luego de su retiro (Fick y col., 1997) y provee suficiente progesterona para prevenir la aparición del ciclo estral. Una inyección de estradiol al momento de la colocación del dispositivo vaginal, inducirá la atresia de los folículos, resultando en la emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 4 días después (Bo y col., 1995; Bo y col., 1996; Burke y col., 1997a; Burke y col., 1997b; Caccia y Bo, 1998).

La inyección de PGF<sub>2α</sub> al momento que es removido el dispositivo causa la regresión del cuerpo lúteo presente y una segunda inyección de estradiol 24 horas después para inducir ciclo estral y ovulación en vacas en anestro (Mc Dougall y col., 1992; Macmillan y col., 1995; Fick y col., 1997; Day y col., 2000) y para mejorar la precisión de la sincronización en vacas cíclicas y en anestro (Day y col., 2000; Martínez y col., 1998).

#### *Combinación de progestágenos y GnRH:*

Alternativamente, los progestágenos pueden ser usados conjuntamente en tratamientos con GnRH y PGF<sub>2α</sub> para asegurar una fuente de progesterona, prevenir ovulaciones prematuras y activar la respuesta cíclica en vacas en anestro (Thatcher y col., 2001).

Recientemente ha sido desarrollado un protocolo con el objetivo de acortar el periodo de administración de MGA sin comprometer la fertilidad y mejorar la sincronización del

estro al sincronizar el desarrollo folicular. En esencia la suplementación con MGA por 7 días y la PGF<sub>2α</sub> al día 7 sincronizan el desarrollo folicular y la inyección de GnRH al día 11 induce la ovulación, desarrollo del cuerpo lúteo, emergencia de una nueva onda folicular, entonces la PGF<sub>2α</sub> administrada al día 18 inducirá la regresión del cuerpo lúteo coincidentemente con el desarrollo del folículo dominante sincronizado (Kojima y col., 2000).

Un protocolo Ovsynch modificado con el agregado de un implante de Norgestomet entre el día 0 y 7 del mismo fue probado por Stevenson y col. (1997) en vacas de carne en anestro y ciclando, obteniendo una tasa de preñez de 62% y 59% respectivamente. Por lo tanto, al iniciar el protocolo Ovsynch en un ambiente alto de progesterona se incrementa la fertilidad del tratamiento. (Murugavel y col., 2003)

Los niveles de progesterona en sangre alcanzados con los implantes vaginales son inferiores a los producidos naturalmente por el cuerpo lúteo. Éste tratamiento con progesterona podría prevenir ovulaciones prematuras luego de la luteólisis espontánea durante el tratamiento, en un porcentaje de las vacas cuyo folículo dominante no respondió a la GnRH (Pursley y col., 1995; Roy y Twagiramungu, 1999, Twagiramungu y col., 1992b; Vasconcelos y col., 1997).

El Terapress® es un dispositivo intravaginal de silicona inerte impregnado con 1 g de progesterona natural. Su forma cruciforme le permite un mejor anclaje, menor pérdida y menos vaginitis, en comparación con las esponjas artesanales de poliuretano.

El control del ciclo estral se basa en que el celo y la ovulación no ocurran mientras los niveles de progesterona son elevados, dichos niveles suprimen el pico de LH. Al retirar el Terapress® la progesterona cae a niveles basales, permitiendo la ocurrencia del pico de LH y la posterior ovulación.

#### 2.3.4. Resincronización de Celos

La preñez obtenida luego de la aplicación de un protocolo de sincronización de celos y ovulación, no es conocida hasta que las vacas vuelvan a entrar en celo o luego del diagnóstico de gestación, por lo que las ventajas de la sincronización de celos no se ven reflejadas en ésta (Stevenson y col., 2003).

Recientemente el concepto de resincronización de los retornos (volver a sincronizar aquellas vacas que no resultan preñadas luego de la inseminación) ha sido desarrollado (Macmillan, y col., 1997; Burke y col., 2000, Burke y col., 2001)

La razón para este tratamiento de resincronización es obtener el mayor número de animales en el menor tiempo luego de empezada la época de los servicios, maximizando la cantidad de animales inseminados.

Básicamente se trata de resincronizar las ondas foliculares con combinaciones hormonales que no afecten el cuerpo lúteo y por consiguiente que no induzcan muertes embrionarias tempranas (Burke y col., 2000, Burke y col., 2001)

Existen muchas combinaciones de tratamientos, pero la mayoría de los mismos consisten en inyecciones de benzoato de estradiol (BE) los días 13 y 20 luego de la inseminación a tiempo fijo, con o sin la adición de un progestágeno entre ambas inyecciones. El estradiol al día 13 provoca la regresión del folículo dominante y reinicia una nueva onda folicular. La otra inyección al día 20 sincroniza las ovulaciones para que estas ocurran entre las 24 y 48 horas siguientes. La adición de un progestágeno

puede mejorar la sincronía de ese celo al impedir ovulaciones prematuras (Cavestany, 2002).

La inyección de BE al momento de la inserción y de la remoción de la fuente de progesterona aumenta la probabilidad de identificar las vacas vacías alrededor de 2 días después de la segunda inyección de BE (Macmillan y col., 1999).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue realizado en el tambo experimental del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela, ubicado en el departamento de Colonia, Uruguay, durante los meses de mayo y junio del año 2004.

#### 3.1. ANIMALES

Se utilizaron 85 vaquillonas de raza Holando de  $25.5 \pm 0.5$  meses de edad, de  $406 \pm 7.3$  kg de peso vivo y  $3.71 \pm 0.04$  puntos de estado corporal (escala de 1 a 5 de Edmonson y col., 1989) las cuales, previo examen ginecológico para eliminar aquellas con anomalías y para confirmar actividad ovárica (presencia de cuerpo lúteo y/o folículos de más de 10 mm), fueron repartidas al azar en dos grupos de 43 y 42 animales cada uno.

Cada grupo de vaquillonas fue identificado con pintura para ganado, además de la identificación mediante caravanas y permanecieron juntas durante el ensayo.

La alimentación fue en base a praderas de tercer año con una mezcla de trébol blanco, alfalfa y festuca. Además fueron suplementadas a diario con 5 kg de silo de maíz de planta entera (base húmeda).

#### 3.2. TRATAMIENTOS

##### *Sincronización de celos*

Grupo Ovsynch+P4: (n = 43) Ovsynch modificado con Progesterona (Terapress®, Biogénesis, Montevideo, Uruguay) que consistió en: Día 0: Inyección (IM) de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH (Gonadorelina, Fertagyl®, Intervet, Boxmeer, Holanda) y colocación del dispositivo intravaginal con progesterona, Día 7: Inyección (IM) de 150 mg de un análogo sintético de Prostaglandina (d-clorprostenol, Enzaprost®, Biogénesis, Montevideo, Uruguay) y retiro del implante vaginal con progesterona, Día 9: Inyección (IM) de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH y Día 10 (16 horas después de la inyección de GnRH): Inseminación Artificial sin detección de celo.

Grupo Ovsynch9+P4: (n = 42) Ovsynch modificado con Terapress® del día 0 al 9, donde el tratamiento consistió en: Día 0: Inyección (IM) de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH y colocación del implante vaginal con progesterona, Día 7: Inyección (IM) de 150 mg de un análogo sintético de Prostaglandina, Día 9: Inyección (IM) de 10 µg de un análogo sintético de la GnRH y retiro del implante vaginal con progesterona y Día 10 (16 horas después de la inyección de GnRH): Inseminación Artificial sin detección de celo.

Se realizó detección de celos dos veces por día a partir del retiro del implante de progesterona y los animales del grupo A que manifestaron celo antes de la Inseminación artificial a tiempo fijo, fueron inseminados 12 hs después de detectado el mismo y no fueron incluidos en la resincronización.

#### *Resincronización (ambos grupos)*

Día 23 (Día 13 luego del servicio): Inyección de 1 mg de benzoato de estradiol (Benzadiol 100 ®, Universal Lab, Montevideo, Uruguay) e inserción del Terapress® utilizado anteriormente, previo lavado y desinfección. Día 30 (Día 20 luego del servicio) Remoción del Terapress® e inyección de 1 mg de benzoato de estradiol.

Días 31 a 37: Detección de celos e Inseminación Artificial

### 3.3. DETECCIÓN DE CELOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Se comenzó a detectar celo el día 7 del ensayo al retirar el implante de progesterona a las vaquillonas del grupo 1. Para la detección de celos se empleó el método de observación, tomando como en estro a la vaquillona que se dejaba montar por las otras. Se realizaron observaciones con dos personas durante 40 minutos, en un rincón del potrero dos veces por día, en la mañana y en la tarde, con un intervalo aproximado de diez horas, registrándose tanto los animales que se dejaban montar como los que montaban. Las vaquillonas detectadas en celo eran apartadas del grupo e inseminadas 12 horas después por un inseminador experimentado. Se utilizó semen congelado de un toro de raza Holando. Luego de la inseminación las vaquillonas eran llevadas a un potrero diferente.

### 3.4. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

Para confirmar la gestación se realizó ultrasonografía los días 42 y 68 del ensayo, utilizando un ecógrafo Aloka 500 (Aloka CO. Ltd., Tokio, Japón) con un transductor lineal rectal de modo B, de tiempo real, con una frecuencia de 5 MHz.

### 3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento Proc Freq (SAS, 1996) y las frecuencias comparadas por el test de chi-cuadrado.

## 4. RESULTADOS

### Actividad Ovárica

#### *Desarrollo folicular*

Mediante la ecografía ovárica realizada al día 7 del protocolo de sincronización se observó que un 14.3 % de los animales presentaban folículos < a 10 mm. de diámetro, un 75 % folículos de 10 a 15 mm. y un 10.7 % folículos > a 15 mm (Figura 2).

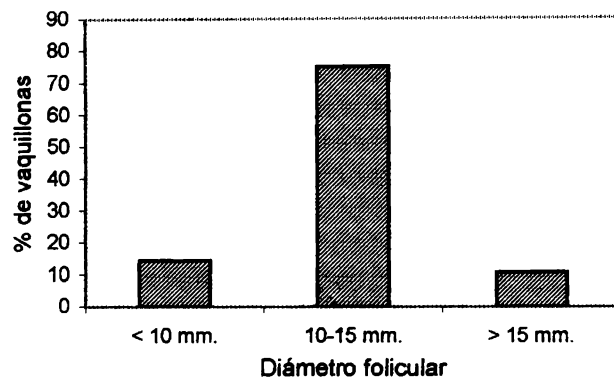


Figura 2. Desarrollo folicular al día 7 del protocolo de sincronización.

### *Cuerpos lúteos*

La ecografía reveló que el 17.9 % de las vaquillonas no presentaban cuerpos lúteos, un 57.1 % presentaban uno y el 25 % dos respectivamente (Figura 3).

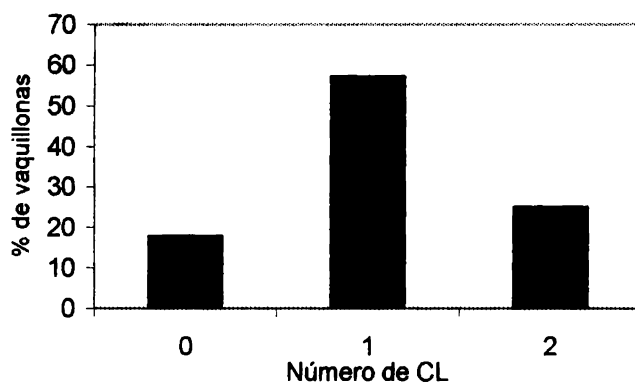


Figura 3. Número de cuerpos lúteos al día 7 del protocolo de sincronización.

### *Manifestación de los celos*

La manifestación de los celos fue más concentrada en el grupo Ovsynch9+P4 que en el grupo Ovsynch+P4, tanto en la sincronización, como en la resincronización (Figura 4).

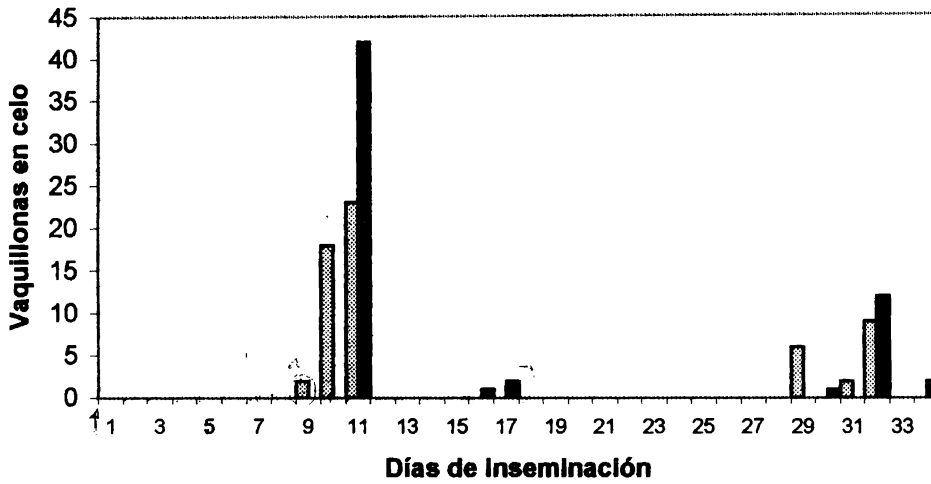


Figura 4. Distribución de los celos durante el período de servicios

**Número de servicios**

El 61 % de los animales fue inseminado una sola vez, mientras que el 36.5 % y el 2 %, fueron servidos 2 y 3 veces respectivamente.

**Concepción al primer servicio**

El porcentaje de concepción general al primer servicio fue de 41.2 %. En el grupo Ovsynch+P4 fue de 44.2 % y en el grupo Ovsynch9+P4 de 38.1 %, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos,  $P > 0.1$  (Figura 5).

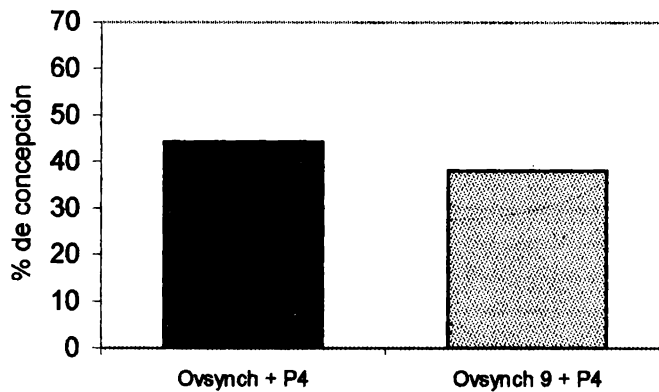


Figura 5. Porcentaje de concepción al primer servicio

**Porcentaje de concepción según tipo de servicio**

En el grupo Ovsynch+P4 el 47 % de las vaquillonas manifestaron celo antes de la segunda inyección de GnRH por lo que se inseminaron a celo detectado. No hubo



diferencia significativa en la tasa de concepción entre los animales inseminados a celo detectado (52.6 %) y los inseminados a tiempo fijo (47.4 %) dentro de ese grupo,  $P > 0.1$  (Figura 6)

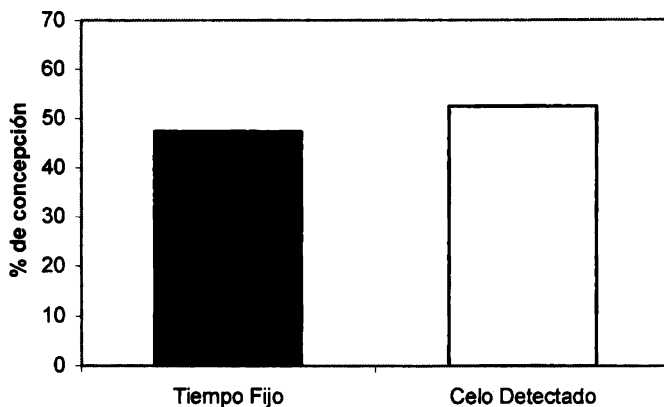


Figura 6. Porcentaje de concepción según tipo de servicio en el Grupo Ovsynch+P4

*Concepción al segundo servicio*

La concepción al segundo servicio fue de un 48 % en las vaquillonas resincronizadas y de un 75 % en las inseminadas a celo natural. (Figura 7).

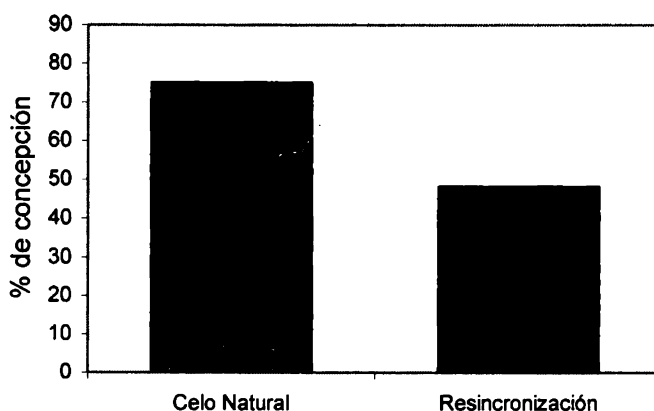


Figura 7. Porcentaje de concepción al segundo servicio

*Preñez final*

La preñez general al finalizar el ensayo fue de un 63.5 %, siendo de 69.8 % y 57.1 % en los grupos Ovsynch+P4 y Ovsynch9+P4 respectivamente. No hubo diferencias significativas entre ambos;  $P > 0.1$  (Figura 8).

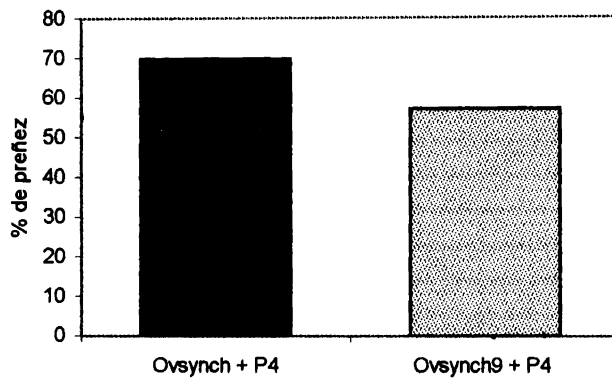


Figura 8. Porcentaje de preñez final.

## 5. DISCUSIÓN

La ecografía ovárica realizada al día 7 mostró que un 82 % de las vaquillonas se encontraban en la fase luteal del ciclo estral, dentro de éstas, un 57 % presentaban un cuerpo lúteo y el 25 % dos. El 18 % restante sin cuerpo luteo presentó folículos de diferente diámetro, no habiendo animales en anestro. Además un 86 % de las vaquillonas presentó folículos mayores a 10 mm. de diámetro, lo que muestra el muy buen nivel de actividad ovárica que tenía el lote de animales. Esto probablemente fue debido al buen peso como estado corporal en que se encontraban al comienzo del ensayo. Lo que sería una ventaja ya que en otros trabajos las tasas de preñez obtenidas con el protocolo Ovsynch en animales ciclando fueron superiores a las obtenidas en animales en anestro (Day y col., 2000; Cavestany y col., 2003).

Las vaquillonas que presentaron dos cuerpos lúteos se encontraban probablemente en el diestro temprano al inicio del protocolo y respondieron a la GnRH ovulando y formando un cuerpo lúteo accesorio. Dentro de los animales con un solo cuerpo lúteo al día 7, posiblemente algunas se encontraban en metaestro al inicio del protocolo y estaban formando el cuerpo lúteo natural, en ese momento el folículo presente en el ovario era pequeño y no respondió a la GnRH por lo que no se formó un cuerpo lúteo accesorio; otras estaban en proestro al momento de iniciar el protocolo, ovulando y formando un cuerpo lúteo accesorio a partir de la inyección de GnRH, a la vez que el cuerpo lúteo del ciclo anterior regresó al momento de la ecografía. El 18 % restante que no presentaron cuerpo lúteo estaban en diestro tardío, en un momento en que el folículo presente en el ovario al momento de la administración de la GnRH estaba regresando, por lo que no respondió a la GnRH y el cuerpo lúteo natural regresó espontáneamente por la PGF2 $\alpha$  endógena. (Moreira y col., 2000a).

De acuerdo a lo mencionado previamente, el inicio de un tratamiento de Ovsynch durante el metaestro (día 2) o el proestro (día 18) coincidiría con ambientes de progesterona baja lo cual comprometería la fertilidad del mismo. Las vacas en metaestro tienen un folículo pequeño que no responde a la GnRH y continúa su

desarrollo normalmente. Las vacas en diestro tardío presentan un folículo dominante que ya entró en la fase de regresión y atresia. Por lo tanto la capacidad de la GnRH para hacer ovular el folículo dominante depende de la etapa de desarrollo en la que éste se encuentre (Twagiramungu y col., 1995; Macmillan y Thatcher, 1991).

En nuestro trabajo no se encontraron diferencias en los resultados de preñez relacionados al tamaño folicular o a la presencia o no de cuerpo lúteo.

El 47 % de las vaquillonas del grupo Ovsynch+P4 presentó celo entre el día 7 y el día 9 del protocolo, este porcentaje es bastante mayor al obtenido por otros autores: DeJarnette y col. (2001b), 20%, Schmitt y col. (1996), 22.5% y Viñoles y Cavestany (1996), 35%. Esto podría ser explicado en parte por el buen estado corporal como el alto porcentaje de animales que se encontraban ciclando al comienzo del ensayo. La limitante del éxito del protocolo Ovsynch cuando es aplicado en vaquillonas, es que las ondas foliculares son irregulares en esta categoría, por lo que si no se realiza detección de celos durante el mismo, estos animales podrían ovular prematuramente y ser inseminados en el momento equivocado disminuyendo así la tasa de concepción.

En el grupo Ovsynch9+P4 la permanencia del dispositivo intravaginal con progesterona hasta el día 9 del protocolo logró evitar éstas ovulaciones prematuras, lográndose una mejor sincronización en comparación al grupo Ovsynch+P4, ya que el 100% de los animales fueron inseminados al día 10, mientras que en este grupo casi la mitad de animales debieron ser inseminados previo al momento de la IATF

La presentación de los celos durante la sincronización fue muy concentrada en ambos grupos lo que facilitó e hizo más eficiente la detección de celos.

Hubo una dispersión mayor de los celos en el grupo Ovsynch+P4, tanto en la sincronización como en la resincronización.

El resultado de concepción al primer servicio fue similar para ambos grupos (figura 5), al comparar el grupo Ovsynch+P4 con otros trabajos encontramos que fue superior al obtenido por Pursley y col. (1997b) que fue de un 35.1% para vaquillonas con el Ovsynch tradicional, fue similar al 47.8% obtenido por Cavestany y Galina (2000), que fue realizado en vacas lactando, pero muy inferior al obtenido por Cavestany y col. (2002) que fue de un 62.3% en vaquillonas de carne, al igual que el 65% obtenido por Martínez y col. (2002) con un protocolo similar al Ovsynch+P4, pero utilizando un CIDR® y que el 66.7% que obtuvieron Viñoles y Cavestany (1996) también en vaquillonas con un Ovsynch tradicional y que se encontraban con una actividad ovárica muy similar a las de nuestro trabajo. El grupo Ovsynch9+P4 no pudo ser comparado al no encontrarse un tratamiento similar en la bibliografía.

Dentro del grupo Ovsynch+P4 no hubieron diferencias en la tasa de concepción para las vaquillonas inseminadas a celo detectado que para las inseminadas a tiempo fijo (figura 5), estos valores son inferiores a los obtenidos por Viñoles y Cavestany (1996) que fueron de 67% para las vaquillonas inseminadas a celo visto y de 68% para las inseminadas a tiempo fijo y los obtenidos por Martínez y col. (2002) que fueron de 67.2% para las vaquillonas de carne inseminadas a celo visto y de 61.1% para las inseminadas a tiempo fijo. Pero son levemente superiores al 39% para las vacas en

lactación inseminadas a celo detectado y 37% en las inseminadas a tiempo fijo obtenidos por Pursley y col. (1997a). Por lo que coincide con estos trabajos en que no hay diferencias de fertilidad entre los tipos de inseminación. Contrariamente a los resultados obtenidos por Pursley y col. (1997b) en vacas y vaquillonas, en las cuales el grupo control inseminado a celo detectado tuvo una tasa de preñez de más del doble (74.4%) que la del grupo Ovsynch inseminado a tiempo fijo (35.1%). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo son bajos, considerando la categoría con que estamos trabajando y comparados con trabajos encontrados en la bibliografía.

Una de las interrogantes acerca de la resincronización de los retornos es si ésta podría afectar la preñez en curso. Stevenson y col. (2003), en cuatro ensayos realizados, no encontraron evidencia de que la implementación de un protocolo de resincronización pudiese interrumpir preñeces tempranas. Esta aseveración fue válida tanto para vacas como para vaquillonas. Al igual que Macmillan y col. (1999) que encontraron que la preñez no se vio afectada luego de la administración de benzoato de estradiol los días 12, 13 y 14 luego de una inseminación artificial, así como la inserción y remoción de un CIDR® usado no comprometió la capacidad del cuerpo lúteo de producir progesterona o mantener preñeces que ya estaban establecidas.

La suplementación exógena con progesterona podría prevenir bajas concentraciones de ésta hormona en la circulación materna y prevenir pérdidas embrionarias en vacas (Stevenson y Mee, 1991; El-Zarcouny y col., 2001), y en vaquillonas (Van Cleef y col., 1996). Además ésta suplementación durante la fase luteal tendió a aumentar la tasa de concepción (Wilmot y col., 1986) y la tasa de parición en vaquillonas de carne (Favero y col., 1993).

En nuestro trabajo el porcentaje de concepción al segundo servicio fue del 75 % en las vaquillonas inseminadas a celo natural y del 48 % en las resincronizadas. El celo natural parecería ser más fértil que el celo resincronizado, pero debido a la disparidad de los grupos y a la baja cantidad de animales evaluados (celo natural: n=8 y celo resincronizado: n=25) no podemos sacar conclusiones aunque podría estar marcando una tendencia.

La tasa de preñez general obtenida al finalizar el ensayo fue aceptable, tanto para el Ovsynch+P4 como para el Ovsynch9+P4, considerando que el período de servicio fue menor a un mes. El porcentaje de preñez obtenido con el Ovsynch+P4 fue inferior al 81.5% obtenido por de Nava y col. (2000) en vacas de carne paridas hace más de 100 días.

## **6. CONCLUSIONES**

Los resultados de preñez finales son aceptables comparado con otros resultados nacionales y extranjeros. La totalidad de los animales fueron inseminados en un período menor a 25 días y más de la mitad resultaron preñados en el mismo período, logrando una buena concentración de los servicios con un buen resultado de preñez.

Ambos protocolos tuvieron una tasa de concepción similar, pero en el grupo Ovsynch+P4 aproximadamente la mitad de las vaquillonas manifestó celo antes de la inseminación a tiempo fijo, por lo que si no se hubiera realizado detección de celo e inseminación a celo visto no habrían concebido.

En el grupo Ovsynch9+P4 la permanencia del implante vaginal con progesterona por dos días más evitó la ocurrencia de ovulaciones prematuras, mejorando la sincronización de la ovulación, ya que la presentación de los celos fue más compacta, principalmente durante el protocolo de sincronización y la fertilidad del mismo no se vio afectada.

La reutilización del Terapress® fue efectiva para la resincronización de los animales. El celo natural parecería ser más fértil que el celo resincronizado. No podemos saber si el protocolo de resincronización pudo haber afectado al cuerpo lúteo e interrumpir las gestaciones, en ese caso los porcentajes de concepción al primer servicio podrían haber sido mayores.

En vista de la diferente fertilidad entre las vaquillonas resincronizadas y las inseminadas a celo natural, este método debería ser estudiado más cuidadosamente.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Alberio RH, Aller J, Quinteros R, Ferre L, Meluci L. (1999). Momento de aplicación y dosis del benzoato de estradiol al final de un tratamiento con progestágenos sobre el celo y la fertilidad. 3<sup>er</sup> Congreso de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. 182-189.
2. Alberio RH. (2003). Nuevas biotecnologías reproductivas. Aspectos biológicos y económicos. 5<sup>to</sup> Simposio de Reproducción Animal. Ed. Comunicarte. Córdoba, Argentina. 293-322.
3. Anderson LH, Day ML. (1998). Development of a progestine-based estrus synchronization program: I. Reproductive response of cow fed melengestrol acetate for 20 days with an injection of progesterone. *J. Anim. Sci.* 76:1267-1272.
4. Anderson LH, McDowell CM, Day ML. (1996). Progestine-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol. Reprod.* 54:1025-1031.
5. Anderson N, Schirck FN, Butcher RL, Inskeep EK. (1995). Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52: 1129-1135.
6. Archbald LF, Tran T, Massey R, Klapstein E. (1992). Conception rates in dairy cows after timed insemination and simultaneous treatment with gonadotropin releasing hormone and/or prostaglandin F2 alpha. *Theriogenology* 37, 723-731.
7. Arthur GH, Npakes DE, Pearson H. (1991). 6<sup>o</sup> ed. Ed. Interamericana MC Graw-Hill. London. England. 1-626.
8. Barr HL. (1974). Influence of estrus detection on days open in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 58, 246-248.
9. Beal WE, Good GA. (1986). Synchronization of estrus in postpartum beef cows with meléngestrol acetate and prostaglandin F2 $\alpha$ . *J. Anim. Sci.* 63: 343 - 347.
10. Beal W E, Good G A, Peterson LA. (1984). Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Synchro-mate B or norgestomet and alfaprostol. *Theriogenology* 22:59-66.
11. Bo GA, Caccia M, Martínez M, Mapletoft RJ. (1996). Follicle wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. *Proc. Of the 13<sup>th</sup> Int. Congress on Anim. Reprod.* Sydney, Australia. 7-22.
12. Bo GA, Adams GP, Pearson RA, Mapletoft RJ. (1995). Exogenous control of follicular waves emergence in cattle. *Theriogenology* 43:31-40.
13. Burke CR, Mussard ML, Grum DE, Day ML. (2001). Effects of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus an ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Anim. Reprod. Sci.* 66, 161-174.
14. Burke CR, Day ML, Bunt CR, Macmillan KL. (2000). Use of a small dose of oestradiol benzoate during diestrous to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.* 78, 145-151.
15. Burke CR, Day ML, Clark BA, Bunt CR, Rathbone, M., Macmillan, K.L (1997a). Follicle wave control using a low dose of oestradiol benzoate during mid-dioestrus in cattle. *Proc. of the New Zealand Soc. of Endocrinol.* 40:133.
16. Burke CR, Day ML, Clark BA, Bunt CR, Rathbone M, Macmillan KL. (1997b). Effect of the luteolysis on follicle wave control using oestradiol benzoate in cattle. *Proc. of the New Zealand Soc. of Endocrinol.* 40:134.

17. Burke JM, De la Sota RL, Risco CS, Staples CR, Schmitt EJ, Thatcher WW. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1385-1393.
18. Britt JH. (1984). Limitations on the pharmacological control of reproduction. *Proc. 10<sup>th</sup> Int. Cong. Anim. Reprod. AI. IV, IV-31.*
19. Brown LN, Odde KG, King ME, Lefever DG, Neubauer CJ. (1988). Comparisson of melengestrol acetate-prostaglandin F2 $\alpha$  to Synchro-Mate B for estrus synchronization in beef heifers. *Theriogenology* 30:1-12.
20. Caccia M, Bo GA. (1998). Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. *Proc. of the 1998 IETS Meeting*
21. Cavestany D, [redacted], Freire A, Sastre A, Stevenson JS. (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.
22. 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. 143 -150.
23. Cavestany D, Negrin N, Negrin R, Groth, JF. (2002). Response of beef heifers and non-suckling beef cows to different oestrous synchronization protocols. *Animal Science.* 74: 547 - 552.
24. Cavestany D, de Nava G, Galina CS. (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. XXX World Buiatrics Congress.
25. Cavestany D, Foote RH. (1985). Prostaglandin F2 alpha used for cows with unobserved estrus in a large commercial herd monitored by milk progesterone assay. *Cornell Vet.* 75: 393 - 397.
26. Day ML, Burke CR, Taufa VK, Day AM, Macmillan KL. (2000). The strategic use of oestradiol to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus synchronization programs in lactating dairy herds. *J. Anim. Sci.* 78: 523 - 529.
27. Day ML. (1998). Practical manipulation of the estrous cycle in beef cattle. *The Bovine Proceedings N° 31:* 51 - 60.
28. DeJarnette JM. (2001). Eficiencia reproductiva en los establecimientos lecheros: factores que la influncian y su medición. *Rev. Taurus.* Año 3, N° 10. Ed. Taurus. 4 -15.
29. DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE. (2001b). Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF2 $\alpha$ . *Anim. Reprod. Sci.* 67:27 - 35.
30. De la Sota RL, Lucy MC, Staples CR, Thatcher WW. (1993). Effect of recombinant bovine somatotropin (Sometribove) on ovarian function in lactating and non lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 76:1002
31. De Kruif A, Brand A. (1978). Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. *New Zealand Vet. J.* 26: 183 -189.

32. de Nava GT, Romero D, Rodríguez M, Gil A. (2000). Performance reproductiva de vaquillonas Holando sometidas a dos programas de inseminación a tiempo fijo con o sin re-sincronización de retornos. XXX World Buiatrics Congress.
33. Eederburg-Van FJCM, Loeffler HSH, Vliet-Van JH. (1996). Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet. Quart.* 18: 52 - 54.
34. Edmonson AJ, Lean LJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cow. *J. Dairy Sci.* 72: 68 - 78.
35. El-Zarcouny SZ, Cartmill JA, Richardson AM, Medina-Britos MA, Hensley BA, Stevenson JS. (2001). Presynchronization of estrous cycles in lactating dairy cows with Ovsynch + CIDR and resynchronization of repeat estrus using the CIDR. *J. Dairy Sci.* 84(Suppl. 1):249 (Abstr.).
36. Erickson BH. (1966). Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 25:800
37. Esslemont RJ, Bryant MJ. (1976). Oestrus behavior in a herd of dairy cows. *Vet. Rec.*, 99: 472-475
38. Evans ACO, Adams GP, Rawlings NC. (1994). Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *Journal of Reproduction and fertility.* 102:463-470
39. Favero RJ, Faulknex DB, Kesler DJ. (1993). Norgestomet implants synchronize estrus and enhance fertility in beef heifers subsequent to time artificial insemination. *J. Anim. Sci.* 71:2594-2600.
40. Ferguson SD, Galligan DT. (1993). Reproductive programs in dairy herds. *Proc. Central Veterinary Conference:* 1:161 – 178. Kansas City, MO
41. Fick KE, Day ML, Inskeep EK, Kinder JE, Lewis PE, Short RE, Hafs HD. (1997). Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with and intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.* 75: 2009 - 2015.
42. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J. Dairy Sci.* 73: 2817 -2825.
43. Foote RH. (1975). Estrus detection and estrus detection aids. *J. Dairy Sci.* 58, 248-256.
44. Geary TW, Whittier JC. (1999). Various protocols for synchronization of estrus or ovulation using GnRH and prostaglandin. *Beef Program Report.* The Department of Animal Sciences Colorado State University.
45. Geary TW, Whittier JC, Downing ER, LeFever DG, Silcox RW, Holland MD, Nett TM, Niswender GD. (1998). Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Synchro-Mate-B or the Ovsynch protocol. *J. Anim. Sci.* 76:1523-1527.
46. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction.* 55: 1187 – 1194. Review.
47. Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. (1989 a). Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrus cycle. *Animal Reproduction Science* 20:187
48. Grosshans T, Xu ZZ, Burton LJ, Johnson DL, Macmillan KL. (1997). Reproductive performance and genetic parameters for fertility of seasonal dairy cows in New Zealand. *Livestock Prod. Sci.* 51, 41-51.



49. Hafez ES. (1989). Reproducción e inseminación artificial en Animales. 5° ed. Ed. Interamericana MC Graw-Hill. México D.F. México. 1-677.
50. Hall JB, Staigmilller RB, Short RE, Bellows PA, MacNeil MD, Bellows SE. (1997). Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestine in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 75:1606-1611.
51. Hansel W, Beal WE. (1979). Ovulation control in cattle. In Beltsville Symposia in Agricultural Research (3) Animal Reproduction. H.W. Hawk (ed.). Montclair, NJ, Allanheld, Osmun and Co. Montclair, NJ. 91
52. Heersche G, Nebel RL. (1994). Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *J. Dairy Sci.* 77: 2754 - 2761.
53. Hill JR, Dickey JF, Henricks DM. (1973). Estrus and ovulation in PGF<sub>2</sub> $\alpha$  / PMS treated heifers. *J. Anim. Sci.* 37: 315 (Abstr.)
54. Hurnik JF, King CJ, Robertson HA. (1976). Ovarian function and estrus in dairy cows during early lactation. *J Anim Sci.* 42(3):688-692.
55. Imwalle DB, Patterson DJ, Schillo KK. (1996). Effect of melengestrol acetate on pulsatile secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 74(Suppl. 1):235(Abstr.)
56. Jobst SM, Nebel RL, McGilliard ML, Pelzer KD. (2000). Evaluation of reproductive performance in lactating dairy cows with prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , gonadotropin-releasing hormone and timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83: 2366 - 2372.
57. Kastelic JP, Knopf L, Ginther OJ. (1990a). Effect of day of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *J. Anim. Sci.* 23:169 - 180.
58. Kerr DR, McGowan MR, Carroll CL, Baldock FC. (1991). Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in northern Australia. *Theriogenology* 36:129-141.
59. Kinder JE, Garcia-Winder M, Imakawa K, Day ML, Zalesky DD, D'Occhio ML, Stumpf TT, Kittok RJ, Schanbacher BD. (1991). Circulating concentrations of 17-estradiol influence pattern of LH in circulation of cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 8:463-469.
60. King ME, Odde KG. (1993). MGA-Prostaglandin synchronization system: where we have come from and where we are going. In: Proc. Beef Improve. Fed. 25<sup>th</sup> Symp.yAnn. Meet., p1. Beef Improvement Federation, Colby, KS.
61. Kojima FN, Salfen BE, Bader JF, Ricke WA, Lucy MC, Smith MF, Patterson DJ. (2000). Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 Synch. *J. Anim. Sci.* 78:2186-2191.
62. Larson LL, Ball PJH. (1992). Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*, 38: 255 - 267.
63. Lauderdale JW. (1972). Effects of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  on pregnancy and estrous cycles of cattle. *J. Anim. Sci.* 35: 246 (Abstr.)
64. Liehr RA, Marion GB, Olson HH. (1972). Effects of prostaglandin on cattle estrus cycles. *J. Anim. Sci.* 35: 247 (Abstr.)
65. Lopes FL, Arnold DR, Williams J, Pancarci SM, Tatcher MJ, Drost M, Tatcher WW. (2000). Use of estradiol cypionate for timed insemination. *J. Anim. Sci.* 78: Suppl. 1(Abtract): 216.

66. Louca A, Legates JE. (1976). Production losses in dairy cattle due to days open. *J Dairy Sci* ;51:573-583.
67. Louis TM, Hafs HD, Seguin BE. (1973). Progesterone, LH, estrus and ovulation after prostaglandin F2 $\alpha$  in heifers. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 143: 152-156.
68. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70:3615-3626.
69. Lucy MC, Thatcher WW, Macmillan KL. (1990). Ultrasonic identification of follicular populations and return to estrus in early postpartum dairy cows given intravaginal progesterone for 15 days. *Theriogenology*, 34:325-340.
70. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM, Eagles VM. (1999). Some effects of post-oestrous hormonal therapies on conception rates and resubmission rates in lactating dairy cows. *Fertility in the High Producing Dairy Cow*, Vol. 1. 195–208. Occasional pub. No. 26. Br. Soc. Anim. Sci., Penicuik, Scotland.
71. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM. (1997). Manipulating ovaries follicle wave patterns can partially synchronize returns to service and increase pregnancy rates to second insemination. *Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod.* 57:237
72. Macmillan KL, Taufa VK, Day AM, McDougall S. (1995). Some effects of using progesterone and oestradiol benzoate to stimulate oestrus and ovulation in dairy cows with anovulatory anoestrus. *Proc. of the New Zealand Soc. of Anim. Prod.* 239- 241.
73. Macmillan KL, Thatcher WW. (1991). Effect of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicle in cattle. *Boil. Reprod.* 45:883-889.
74. Marion GB, Gier HT, Choudary JB. (1968). Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. Anim. Sci.* 27:451-459.
75. Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Maplettoff RJ. (2002). The use of a progesterone-releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed time AI in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80:1746-1751.
76. Martínez MF, Kastelic JP, Adams GP, Janzen E, Olson W, Maplettoff RJ. (1998). Alternative methods of synchronizing estrus and ovulation for fixed-time insemination in cattle. *IETS Meetings*.
77. McDonald LE. (1991). *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4 $^{\circ}$  Ed. Ed. Interamericana MC Graw-Hill, España, Madrid, pp. 1-541.
78. McDougall S, Burke CR, Macmillan KL, Williamson NB. (1992). The effect of pretreatment with progesterone on the oestrous response to oestradiol benzoate in the postpartum dairy cow. *Proc of the New Zealand Soc. of Anim. Prod.* 52:157-160.
79. McDowell CM, Anderson LH, Lemenager P, Magione DA, Day ML. (1998b). Development of a progestine-based estrus synchronization program: II. Reproductive response of cow fed melengestrol acetate for 14 days with injections of progesterone and prostaglandin F2 $\alpha$ . *J. Anim. Sci.* 76:1273-1279.
80. Mihm N, Curran N, Hyttel P, Boland MP, Roche JF. (1994). Resumption of meiosis in cattle oocytes from preovulatory follicles with a short and a long duration of dominance. *J. Reprod. Fertil.* 13:14(Abstr.).
81. Momont HW, Seguin B. (1983). Treatment of unobserved estrus in lactating dairy cows with PGF2 $\alpha$  products. Page 28 in *The Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian on Reproductive Management in Food Animals*. Univ. Minnesota, St. Paul.

82. Moreira F, De la Sota RL, Díaz T, Thatcher WW. (2000a). Effect of day the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses of dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78: 1568-1576.
83. Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Lopez F, Mattos R, Thatcher WW. (2000b). Pregnancy rates to a timed insemination in lactating dairy cows presynchronized and treated with bovine somatotropin: cyclic versus anestrus cows. *J. Dairy Sci.* 83 (Suppl. 1): 134 (Abstr.).
84. Morrow DA. (1986). *Current Therapy in Theriogenology*. 2<sup>o</sup> Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. United States of America. 1-1104
85. Murugavel K, Yániz LJ, Santolaria P, López-Béjar M, López-Gatius F. (2003). Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 60:583-593.
86. Odde, K.G (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.* 68:817-830.
87. Pankowski JW, Galton DM, Erb HN, Guard CL, Grohn YT. (1995). Use of prostaglandin F<sub>2α</sub> as a postpartum reproductive management tool for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78, 1477-1488.
88. Patterson DJ, Kiracofe GH, Stevenson JS, Corah LR. (1989). Control of the bovine estrus cycle with melengestrol acetate (MGA): a review. *J. Anim. Sci.* 67:1895-1906.
89. Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC. (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.
90. Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. (1997a). Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
91. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. (1997b). Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy. Sci.* 80:295-300.
92. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2α</sub> and GnRH. *Theriogenology* 44:915-923.
93. Pursley JR, Mee MO, Brown MD, Wiltbank MC. (1994). Synchronization of ovulation in dairy cows using GnRH and PGF<sub>2α</sub>. *J. Anim. Sci.* 72 (Suppl. 1).230(Abstr.)
94. Roche JF. (1975). Control of the time of ovulation in heifers with progestational and gonadotropic releasing hormone. *J. Reprod. Fertil.* 43:471-477.
95. Rosenberg M, Kaim M, Herz Z, Folman Y. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 1. Effects on plasma progesterone and manifestation of estrus. *J. Dairy Sci.* 73:2807-2815.
96. Rowson LEA, Terbin R, Brand A. (1972). Synchronization of oestrus in cattle by means of prostaglandins F<sub>2α</sub>. *Pr. VII th Int. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem.* 2: 865-873.
97. Roy GL, Twagiramungu H. (1999). Time interval between GnRH and prostaglandin injections influences the precision of estrus in synchronized cattle. *Theriogenology* 51:413-420.
98. Sanchez T, Wehrman ME, Bergfeld EG, Peters KE, Kojima FN, Cupp AS, Mariscal B, Kittok RJ, Rasby RJ, Kinder JE. (1993). Pregnancy rate is greater when the

- corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. *Biol. Reprod.* 49: 1102-1107.
99. SAS (Statistical Analysis System). (1996). SAS Institute Inc. Release 6.11. SAS Campus Drive, Cary, NC 27513, USA.
  100. Savio JD, Thatcher WW, Morris GR, Entwistle K, Drost M, Mattiacci MR. (1993). Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 98(1):77 - 81.
  101. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. (1990). Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88:569-579
  102. Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.* 83:663-671.
  103. Schmitt EJP, Díaz T, Drost M, Thatcher WW. (1996). Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084-1091.
  104. Short RE, Randel RD, Staigmiller RB, Belows RA. (1979). Factors affecting estrogen-induced LH release in the cow. *Biol. Reprod.* 21: 683 - 689.
  105. Silcox RW, Powell FL, Pursley JR, Wiltbank MC. (1995). Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology* 43:325-333.
  106. Sirois J, Fortune JE. (1990). Lengthening the bovine estrus cycle with low concentration of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* 127:916-925.
  107. Sirois J, Fortune JE. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39:308-317.
  108. Smalley SA. (1981). Management problems of large dairies. *Vet Clin North Am: Large Anim Pract*; 3:289-305.
  109. Smith MW, Stevenson JS. (1995). Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and progestin in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.* 73:3743-51.
  110. Smith MF, Burrell WC, Shipp LD, Spratt LR, Songster WN, Wiltbank NJ. (1979). Hormone treatment and use of calf removal in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci* 48: 1285-1294.
  111. Stevenson JS, Johnson SK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM, Lamb GC. (2003). Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both. *J. Anim. Sci.* 81:1681-1692.
  112. Stevenson JS, Kobayashi Y, Thopson KE. (1999). Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including ovsynch and combinations of gonadotropin releasing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> alpha. *J. Dairy Sci.* 82, 506-515.
  113. Stevenson JS, Hoffman DP, Nichols DA, Mckee RM, Krehbiel CL. (1997). Fertility in estrus-cycling and non cycling virgin heifers and suckled beef cows after induced ovulation. *J. Anim. Sci.* 75:1343-1350.
  114. Stevenson JS, Mee MO. (1991). Pregnancy rates of Holstein cows after post insemination treatment with a progesterone releasing intravaginal device. *J. Dairy Sci.* 74:3849-3856.

115. Stumpf TT, Wolfe MW, Day ML, Stotts JA, Wolfe PL, Kittok RJ, Kinder JE. (1991). Effect of 17-beta-estradiol on the preovulatory surge of LH in the bovine female. *Theriogenology* 36:201-207.
116. Taylor C, Rajamahendran R. (1991). Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 71 - 61.
117. Thatcher WW, Patterson MS, Moreira F, Pancarci M, Jordan ER, Risco CA. (2001). Current Concepts for Estrus Synchronization and Timed Insemination. *The American Association of Bovine Practitioners Proceedings. 34<sup>th</sup> Annual Convention.* 95 -105.
118. Thatcher WW, Risco CA, Moreira F. (1998). Practical Manipulation of the Estrous Cycle in Dairy Animals. *The American Association of Bovine Practitioners Proceedings. 31<sup>st</sup> Annual Convention.* pp 34 -50.
119. Thatcher WW, Driancourt MA, Terqui M, Badinga L. (1991). Dynamics of ovarian follicular development in cattle following hysterectomy and during early pregnancy. *Domes. Anim. Endocrinology.* 8:223.
120. Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. (1989). Concepts for the Regulation of Corpus Lutelum Function by the Conceptus and Ovarian Follicles to Improve Fertility. *Theriogenology* 31: 149 – 164.
121. Trimberger GW, Frincher MG. (1956). Regularity of estrus, ovarian function and conception rates in dairy cattle. *Cornell Univ. Agric. Expt. Sta. Bull. No. 911.*
122. Twagiramungu H, Guilvault LA, Duffour JJ. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle:a review. *J. Anim. Sci.* 73:3141-3151.
123. Twagiramungu H, Guilvault LA, Proulx J, Dufour JJ. (1992b). Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injection of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology* 38:1131 – 1144.
124. Twagiramungu H, Guilvault LA, Proulx J, Villeneuve P, Dufour JJ. (1992c). Influence of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.* 70:1904 - 1910.
125. Van Cleeff JK, Macmillan KL, Drost M, Lucy MC, Thatcher WW. (1996). Effects of administering progesterone at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology* 46:1117-1130.
126. Van Cleeff JK, Drost M, Thatcher WW. (1991). Effects of post-insemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology* 36:795-801.
127. Vasconcelos JLM, Silcox RW, Pursley JR, Wiltbank MC. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle and pregnancy rates after synchronization of ovulation beginning at different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52: 1067-1078.
128. Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. (1997). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and conception rate after synchronization of ovulation with GnRH on different days of the estrus cycle. *J. Dairy Sci.* 80(Suppl. 1):178 (Abstr.).
129. Viñoles C, Cavestany D. (1996). Sincronización de Celos e Inseminación a Tiempo Fijo en Vaquillonas Holando. *Primer Congreso Uruguayo de Producción Animal. 2 al 4 de octubre. Montevideo.* 241.

130. Williams WL. (1919). A standard for measuring the reproductive and dairying efficiency of cattle. *Cornell Vet.* 9:204-213.
131. Williamson NB, Morris RS, Blood DC, Cannon CM. (1972). A study of oestrous behaviour and oestrus detection methods in a large commercial dairy herd. I. The relative efficiency of methods of oestrus detection. *Vet. Rec.*, 91,50-58.
132. Wilmut I, Sales DI, Ashworth CJ. (1986). Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fertil.* 76:851–864.
133. Wishart DF. (1972). Observations on the oestrous cycle of the Friesian heifer. *Vet. Rec.*, 90,595-597.
134. Wolfenson D, Thatcher WW, Savio JD, Badinga L, Lucy MC. (1994). The effect of GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 42, 633-644
135. Xu ZZ, Burton LJ, MacMillan KL. (1997). Reproductive performance of lactating dairy cows following estrus synchronization regimens with PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and progesterone. *Theriogenology* 47, 687-701.