

Protocolos de IATF: desde la comprensión de la dinámica folicular ovárica a las restricciones actuales y futuras de su uso

Gabriel A. Bó^{1,2}, Alejandro Macagno², Javier de la Mata³, Andres Vera Cedeño⁴, Emilio Huguenine⁵, Juan Carlos Tschopp² y Alejo Menchaca⁶

1- Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Zona Rural, General Paz (5145), Córdoba, Argentina.

2- Instituto A.P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Villa María, Villa del Rosario, Córdoba, Argentina.

3- Actividad Privada y Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de La Pampa, Argentina

4- Instituto de Reproducción Animal de Ecuador, Guayaquil, Ecuador

5- Actividad Privada, SAV, San Luis, Argentina

6- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Montevideo, Uruguay.

e-mail: gabrielbo62@gmail.com

Resumen

A medida que mejoró nuestra comprensión de la función ovárica en el ganado bovino, también aumentó nuestra capacidad para controlarla. El desarrollo de protocolos de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) a partir de fines del siglo XX permitió el aumento exponencial de la cantidad de animales que se inseminan durante los últimos 20 años. Las principales razones de este crecimiento fueron la posibilidad de obtener tasas de preñez aceptables sin detección de celos y sobre todo la inducción de ciclicidad en vacas en anestro posparto y vaquillonas prepúberes al inicio de la temporada de servicio. La mayoría de los tratamientos de IATF en América del Sur se basan en el uso de dispositivos de liberación de progesterona (P4) y estradiol para sincronizar el desarrollo de folicular y la ovulación, con tasas de preñez que oscilan entre el 40 y el 60%. Recientemente se han desarrollado nuevos tratamientos que promueven un periodo de proestro más prolongado que los protocolos convencionales de IATF. Se encontró que las tasas de preñez a la IATF fueron mayores a los obtenidos con los protocolos convencionales y se lo asocio con un perfil endocrino preovulatorio que está positivamente asociado con una mejora del medioambiente uterino. Hoy en día, tanto los protocolos nuevos como los convencionales se implementan de manera regular, lo que permite a los productores acceder a genética de alta calidad y aumentar las tasas generales de preñez durante la temporada de servicio. Además, proporcionó a los profesionales involucrados en esos programas una nueva fuente de ingresos y la diversificación de sus prácticas hacia actividades distintas del trabajo clínico habitual. Muchas de estas prácti-

cas hoy están aparentemente en riesgo por restricciones al uso del estradiol por la Unión Europea. Sin embargo, el desarrollo de protocolos alternativos basados en GnRH, dispositivos con P4 y eCG y posiblemente otros productos no comercializados todavía nos permitirán poder adaptarnos a los nuevos tiempos que se vienen, con tasas de preñez aceptables. Lógicamente el desafío ya está planteado y debemos aprender a usar los protocolos alternativos para tratar de seguir aumentando el uso de esta tecnología en los rodeos de carne y leche.

Palabras Clave: Sincronización del estro, ovulación, inseminación artificial a tiempo fijo, bovinos de carne, tasas de preñez

Summary

As our understanding of ovarian function in cattle has improved, our ability to control it has also increased. The development of Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) protocols at the end of the 20th century has increased exponentially the number of animals inseminated over the last 20 years. The main reasons for this growth were the possibility of obtaining acceptable pregnancy rates without heat detection and, above all, the induction of cyclicity in suckled cows in postpartum anestrus and prepubertal heifers at the beginning of the breeding season. Most FTAI treatments in South America are based on the use of progesterone (P4) releasing devices and estradiol to synchronize follicular development and ovulation, with pregnancy rates ranging from 40 to 60%. New treatments have recently been developed that promote a longer proestrus period than the conventional FTAI protocols. Pregnancy rates with these protocols were reported to be greater than those obtained with conventional (short

proestrus) protocols and was associated with a preovulatory endocrine profile that is positively associated with an improvement in the uterine environment. Today, both new and conventional protocols are implemented on a regular basis, allowing producers access to high-quality genetics, and increasing the overall pregnancy rates during the breeding season. In addition, it provided the professionals involved in these programs with a new source of income and the diversification of their practices into activities other than their usual clinical work. Many of these practices are now apparently at risk from restrictions on the use of estradiol by the European Union. However, the development of alternative protocols based on GnRH, with P4 devices and eCG and other products that are not in the market yet will allow us to adapt to the new times that are coming, with acceptable pregnancy rates. Logically, the challenge has already been raised and we must learn to use alternative protocols to try to continue increasing the use of this technology in beef and dairy herds.

Keywords: Estrus synchronization, ovulation, fixed time artificial insemination, beef cattle, pregnancy rates

Introducción

El aumento del conocimiento de la fisiología ovárica en el ganado bovino en los últimos 50 años ha permitido el desarrollo de tratamientos para la manipulación de la función ovárica. Los protocolos diseñados para controlar la función luteal y folicular han mejorado la sincronización del estro y han permitido la IA a tiempo fijo (IATF) y la transferencia de embriones a tiempo fijo (TETF). Los profesionales que trabajan con bovinos de todo el mundo ahora están usando estas tecnologías reproductivas, y este es especialmente el caso en América del Sur. Esta revisión describirá brevemente como ha sido el avance en nuestra comprensión de la fisiología ovárica en el ganado bovino desde la aparición de la ultrasonografía en los años 90 y discutirá cómo esto ha afectado la aplicación de la IATF hoy en el Mercosur y su futuro.

Una breve reseña de los conocimientos recientes sobre fisiología ovárica en ganado bovino

Los folículos ováricos en el ganado bovino crecen en forma de onda. Una onda folicular consiste en la aparición sincrónica de un grupo de folículos antrales de 4 a 5 mm de diámetro, seguido a los 2 o 3 días por la selección de un folículo para convertirse en dominante, mientras que los subordinados se vuelven atrésicos (Ginther et al., 1989a). Los ciclos estrales en el ganado bovino están

compuestos en el 95% de los casos por 2 o 3 ondas foliculares (Ginther et al., 1989b), aunque se han reportado ciclos de 4 ondas en algunas vacas *Bos taurus* y en un 5 a 10% de vacas *Bos indicus* (Bó et al., 2003). En los ciclos de 2 y 3 ondas, la emergencia de la primera onda folicular se produce el día de la ovulación (Día 0). Debido a la presencia del CL de medio ciclo, el folículo dominante de la primera onda regresa, y una segunda onda emerge en los días 9 ó 10 en ciclos de 2 ondas, y los días 8 ó 9 en ciclos de 3 ondas, con la tercera onda que emerge en los días 15 ó 16 (Ginther et al., 1989b). En los ciclos de 4 ondas, la cuarta onda se inicia en los días 18 a 21 (Bó et al., 2003). Las ondas foliculares se producen en casi toda la vida del ganado bovino y se han descrito en terneras prácticamente desde el nacimiento, y en vacas durante la gestación y casi inmediatamente después del parto (revisado en Adams, 1999).

El reclutamiento de ondas foliculares y la selección del folículo dominante se basan en la capacidad de respuesta diferencial de los folículos antrales a FSH y LH (revisado en Adams, 1999). Los aumentos de FSH circulante estimulan el desarrollo de los folículos de 1 a 2 mm de diámetro, que aparecen como un grupo de folículos de 4 a 5 mm de diámetro 2 días después. La FSH se suprime por el estradiol y la inhibina producida por el folículo dominante de la primera onda, lo que lleva a la supresión del crecimiento y atresia de los folículos subordinados, aproximadamente 3 días después de la aparición de la onda. El folículo dominante adquiere más receptoras de LH en sus células de la granulosa y de la teca y es capaz de cambiar su dependencia de FSH a LH durante el período de baja FSH. De esta manera continúa creciendo mientras que los folículos subordinados que requieren FSH sufren atresia (Ginther et al., 2001). La supresión de la LH por la progesterona del CL hace que el folículo dominante de la primera onda (y de la segunda onda en ciclos de 3 ondas) finalmente cese sus funciones metabólicas y regrese, lo que conduce a un nuevo aumento de FSH y la aparición de una nueva onda folicular (Adams, 1999). La regresión luteal produce un aumento de la frecuencia de los pulsos de LH, un aumento del crecimiento del folículo dominante, concentraciones elevadas de estradiol, el pico preovulatorio de LH y la ovulación.

El número de ondas foliculares en el ganado bovino depende de la duración de la dominancia folicular en la primera onda; es 3 días más largo y el inicio de la regresión se produce más tarde durante los ciclos de 2 ondas que en los ciclos de 3 ondas. Sin embargo, el inicio de la luteólisis ocurre antes en los ciclos de 2 ondas, lo que da

como resultado un intervalo interovulatorio de 20 días, en comparación con los 23 días en los ciclos de 3 ondas (Adams, 1999; Sartori et al., 2004). Aparentemente la razón de la diferencia en la duración de la dominancia folicular en la primera onda está relacionada con menores niveles de progesterona producidos por el CL en las vacas de dos ondas. El folículo dominante presente en el momento de la luteólisis se convierte en el folículo ovulatorio, y la aparición de la siguiente onda ocurre en el momento de la ovulación subsiguiente (Kastelic y Ginther, 1991).

El estudio de la dinámica folicular se limitó originalmente a los folículos ≥ 4 mm debido a la resolución de los primeros equipos de ultrasonido. Sin embargo, los equipos más nuevos han permitido la identificación del futuro folículo dominante con un diámetro de 1 mm, lo que sugiere que los folículos de 1 a 3 mm también se desarrollan en forma de ondas. Adams et al. (2008) señalaron que, a nivel microscópico, no hay una distinción morfológica entre los folículos de 1 a 3 mm y los de más de 3 mm, y que, a nivel celular, ambas categorías de tamaño no solo expresan receptores de FSH, sino que también tienen un nivel similar de expresión de los receptores de FSH en las células de la granulosa (revisado en Bao y Garverick, 1998). También se ha reportado que estos pequeños folículos antrales responden a elevaciones transitorias de la FSH en circulación y que su crecimiento progresa a lo largo de un período que abarca todo el aumento de FSH que ocurre en cada onda folicular. Por lo tanto, los folículos de 1 a 3 mm pueden ser un componente importante de las ondas foliculares. Esto tiene implicaciones para la optimización de los tratamientos superestimuladores en el ganado bovino (García Guerra et al., 2015).

Existen varias diferencias en la función reproductiva entre las razas de ganado *Bos indicus* y *Bos taurus*, y éstas deben considerarse al diseñar programas reproductivos. La duración del anestro posparto y la edad de inicio de la pubertad son mayores en el ganado *Bos indicus* (revisado en Bó et al., 2003). También tienen un período de estro más corto, a menudo expresado durante la noche. Aunque el intervalo desde el inicio del celo a la ovulación y la dominancia folicular es similar, los diámetros máximos del folículo dominante y el CL son más pequeños (Bó et al., 2003), al igual que los diámetros del folículo dominante en el momento de la selección y ovulación (Sartori et al., 2001; Sartorelli et al., 2005; Gimenes et al., 2008). Además, las razas *Bos indicus* tienden a ser más sensibles a las gonadotropinas (Bó et al., 2003) y tienen un menor metabolismo hepático de la progesterona,

que son fundamentales a tener en cuenta cuando se diseñan programas de IATF (Batista et al., 2020). Sin embargo, las razas *Bos indicus* también tienen mayores recuentos de folículos antrales (Batista et al., 2014; Sartori et al., 2016), lo que tiene implicaciones importantes para la obtención de ovocitos por OPU en los programas de producción de embriones in vitro (PIV)

Sincronización del estro para inseminación artificial

Prostaglandina F2 α

La prostaglandina F2 α (PGF) ha sido utilizada por muchos años como el agente de elección para la inducción de la regresión luteal y la sincronización del estro en el ganado bovino (revisado en Odde, 1990). Sin embargo, las vacas deben estar ciclando y la PGF no inducirá luteólisis durante los primeros 5 días del ciclo (Seguin, 1987). Además, la aparición del estro puede ocurrir durante varios días. El tratamiento cuando el folículo dominante está casi maduro dará lugar a la ovulación en 2 o 3 días, mientras que el tratamiento cuando el folículo dominante ya no es viable, dará lugar a la ovulación del folículo dominante de la siguiente onda, 4 a 5 días después. En un esquema de sincronización con dos dosis de PGF en vaquillonas, se recomienda un intervalo de 11 días para garantizar que todas tengan un CL sensible a PGF en el momento del segundo tratamiento (Selk et al., 1988). No obstante, en vacas lecheras en lactancia se han reportado mayores tasas de concepción con un intervalo de 14 días (Folman et al., 1990), y la razón de ello es el mayor intervalo de tiempo que hay entre la luteólisis y la ovulación en estas vacas comparadas con las vaquillonas (Sartori et al., 2004).

Progesterona

La progesterona altera la función ovárica en el ganado al suprimir el estro y prevenir la ovulación, principalmente al suprimir la liberación del pico preovulatorio de LH. Como la progesterona no suprime la secreción de FSH, las ondas foliculares continúan emergiendo en presencia de un CL funcional (Adams, 1999). La progesterona administrada por intervalos que exceden la vida de un CL da como resultado un estro sincrónico al retirarse, pero la fertilidad es baja porque los dispositivos que liberan progesterona exógena producen niveles subluteales de progesterona que son menos supresoras de la pulsatilidad de LH que la progesterona endógena producida por el CL. La alta frecuencia de los pulsos de LH resultante conduce a un folículo "dominante persistente" (Savio et al., 1993) con un ovocito envejecido o pre-activado que

puede ser infértil (Revah y Butler, 1996).

Los dispositivos de liberación de progesterona se utilizan para sincronizar el estro (Bó et al., 2002; Mapletoft et al., 2003), y existen varios productos de este tipo disponibles en el Mercosur, con diferentes cargas útiles de progesterona. Los dispositivos con progesterona normalmente se retiran después de 7 u 8 días y la PGF se administra en ese momento (o 24 horas antes); el estro ocurre de 48 a 72 horas después. Debido al corto período de tratamiento, no se producen folículos persistentes y la fertilidad después de la IA suele ser normal. Los dispositivos de progesterona son muy adecuados para los diversos protocolos utilizados para sincronizar el desarrollo folicular y la ovulación (Mapletoft et al., 2003).

Manipulación de la función ovárica para la IA a tiempo fijo (IATF)

Ablación folicular con ultrasonido

La ablación transvaginal guiada por ultrasonido de los folículos antrales da lugar a la aparición de una nueva onda folicular en aproximadamente 1,5 días al eliminar los efectos supresores de los productos foliculares (por ej., estradiol e inhibina) sobre la liberación de FSH (Bergfelt et al., 1994). Aunque la ablación del folículo en combinación con PGF es eficaz para sincronizar la emergencia de la onda folicular y la ovulación, no es práctica debido al tiempo y entrenamiento necesario para realizar la aspiración folicular en un lote grande de animales.

Estradiol y progesterona

El valerato de estradiol fue la primera sal de estradiol utilizada originalmente al comienzo de un protocolo con implantes de norgestomet (llamados Syncro-Mate-B) de 9 días, y su objetivo era causar la luteólisis inducida por el útero (Wiltbank et al., 1965). Posteriormente nosotros demostramos que el valerato de estradiol suprime además los folículos antrales (Bó et al., 1991). El mecanismo de la atresia folicular inducida por estrógenos parece ser sistémico e implica la supresión de la FSH (Bó et al., 1994; 1995). Una vez que el estradiol administrado de forma exógena se metaboliza, hay un aumento de FSH y crece una nueva onda folicular (Bó et al., 1994). La administración de 5 mg de estradiol-17 β (E-17 β ; Bó et al., 1994) o 2 mg de benzoato de estradiol (EB; Martínez et al., 2005) o valerato de estradiol (EV; Colazo et al., 2005) en el ganado bovino tratado con progesterona resulta en la aparición de una onda folicular en 3 a 5 días.

En los protocolos de sincronización desarrollados inicialmente, se administra 2 mg de EB en el momento de la inserción de un dispositivo con progesterona que se

extrae 7 días después, en el momento de la administración de PGF (Mapletoft et al., 2003). Se administró una dosis de 1 mg de EB 24 horas después para inducir un pico preovulatorio de LH a las 16 a 18 horas (Martínez et al., 2007) y la ovulación aproximadamente 30 horas después. Esto permitió la IATF con tasas de preñez aceptables. Como alternativa, la administración de 0,5 a 1,0 mg de cipionato de estradiol (ECP; Colazo et al., 2003). El tratamiento con ECP en el momento de la remoción de los dispositivos con progesterona es hoy el tratamiento más utilizado para reducir el número de veces que los animales pasan por la manga. El ECP es una sal de estradiol con mayor vida media que el EB y que llega a concentraciones plasmáticas menores de estradiol-17 β que el EB. Por eso puede adaptarse a un esquema de aplicación de ECP como inductor de la ovulación en el momento de retirar el dispositivo con progesterona (Colazo et al., 2003 y 2004; Sales et al., 2012; Uslenghi et al., 2014).

El uso de ECP como inductor de la ovulación y la posibilidad que algunas vacas muestren celo antes que otras en los protocolos de IATF con ECP despertó en los últimos años la posibilidad de introducir la pintura en la cola u otros elementos de ayuda para determinar si las vacas habían estado en celo antes de la IATF. Eso permitió determinar que las vacas que tenían la pintura borrada o el parche activado en el momento de la IATF tienen una mayor tasa de preñez que las que no presentan el parche activado (Sa Filho et al. 2011). Nosotros también realizamos experimentos para evaluar el efecto de la expresión de celos sobre la tasa de preñez y se estudiaron también estrategias para mejorar las tasas de preñez en las vacas que no muestran celo al momento de la IATF (Cedeño et al., 2021). Se encontró una mayor ($P < 0,01$) tasa de preñez a la IATF en los animales que estaban despintados (en celo) a las 48 h de la remoción de los dispositivos con P4 y el tratamiento con ECP (56.4%; 585/1038) en comparación con los que no mostraron celo en ese momento (46.5%; 148/318). Además, se encontró que el tratamiento con GnRH a las vacas que estaban pintadas (que no presentaron celo) a las 48 h, aumentó ($P < 0,01$) la tasa de preñez (53.8%; 93/173) con respecto a los que no recibieron GnRH (37.9%, 55/145). El uso de GnRH para mejorar las tasas de preñez en las vacas que no muestran celo al momento de la GnRH fue confirmado recientemente por otros autores en tratamientos con ECP en vacas de carne (Madureira et al., 2020; Butler et al., 2020), pero no hay consenso en cual es el momento óptimo para inseminar esas vacas. Si bien nosotros encontramos que hay un atraso de 10 h en el momento de

la ovulación en las vacas de carne que no muestran celo y reciben GnRH y menores tasas de preñez en vacas lecheras que no muestran celo y son inseminadas a las 48 h en comparación con las inseminadas 12 h después, otros autores sugieren la posibilidad de inseminar todas las vacas en el mismo momento y administrar GnRH a las no despintadas en ese momento (Madureira et al., 2020); al menos en vaquillonas (Butler et al., 2020). No obstante, en el mismo trabajo de Cedeño et al. (2021) comprobamos que en las vacas que no daban celo y eran inseminadas a las 56 h de la remoción del dispositivo con P4, la administración de GnRH a las 48 h (es decir 8 h antes de la IATF) resultó en una mayor ($P < 0,05$) tasa de preñez (64,9%) que las que recibieron GnRH en el momento de la IATF (54,6%). Además, otros autores también encontraron que la adecuación del horario de IATF de acuerdo con la expresión de celos de las vacas mejora la tasa de preñez, que en este caso fueron tratadas con un protocolo a base de GnRH y dispositivos con P4 (Hill et al., 2016).

Uso de la eCG

La masiva utilización de la IATF en los sistemas producción ganadera, como el de nuestro país, requieren de un protocolo que sea capaz de inducir la ovulación en vacas en anestro posparto con cría al pie. Para solucionar este problema se utiliza desde hace ya varios años a la eCG, que se inyecta en el momento de la remoción del dispositivo con progesterona. En su forma natural, esta hormona es una glicoproteína de alto peso molecular producida por las copas endometriales del útero de la yegua entre los 35 y 100 días de gestación. En la yegua, la eCG tiene una actividad LH, pero en la vaca, la eCG puede tener actividad FSH o LH, según las poblaciones de receptores en los folículos ováricos en ese momento. Aunque la eCG se utilizaba originalmente para inducir la superovulación en el ganado bovino, hoy su uso en bovinos está más orientado a la estimulación del crecimiento del folículo dominante en programas de IATF y de receptoras de embriones (Bó et al., 2002; 2016; Baruselli et al., 2012; 2017). Cuando se administra en vacas con un folículo dominante en crecimiento, la eCG estimula el crecimiento folicular porque tiene la capacidad de unirse a los receptores tanto de LH como de FSH. El mayor crecimiento del folículo ovulatorio y mayores tasas de ovulación dan como resultado un CL más grande y mayores tasas de preñez a la IATF (*Bos taurus*, Núñez-Olivera et al., 2014; *Bos indicus*, Baruselli et al., 2004).

Si bien hasta hace poco tiempo el 100% de la eCG que se utilizaba en bovinos se producía a través del san-

grado de yeguas preñadas, hoy tenemos la posibilidad de producir esta hormona en el laboratorio y por cultivos de células recombinantes cultivadas en condiciones controladas y utilizando medio de cultivo libre de suero fetal bovino. Por eso a estas hormonas se las llama genéricamente "recombinantes". Hoy tenemos en el mercado argentino por lo menos una eCG recombinante y los experimentos realizados recientemente demostraron que la adición de eCG recombinante aumentan la tasa de preñez en vacas con cría al pie (Villarraza et al., 2022), y con algunas modificaciones en la dosis a utilizar no se encontraron diferencias significativas con la eCG sérica, derivadas del sangrado de yeguas. Otras eCG recombinantes ya están por aparecer el mercado con resultados similares (de Abreu et al., 2023) y es de esperar que en un futuro las hormonas recombinantes y/o sintéticas reemplacen a las obtenidas de animales, debido a las presiones políticas de los grupos ambientalistas.

Protocolo J-Synch

Hace aproximadamente 10 años desarrollamos un tratamiento utilizando un protocolo basado en EB y un dispositivo con P4 donde se prolongó el proestro administrando GnRH como inductor de la ovulación a las 72 h de retirar el dispositivo en lugar de ECP al retiro. Este protocolo fue denominado J-Synch (de la Mata y Bó, 2012). Se encontró que las tasas de preñez a la IATF tendieron a ser mayores con el protocolo J-Synch que con el protocolo convencional utilizado en Argentina en vaquillonas Holstein (Ré et al., 2021) y significativamente mayores en vaquillonas de carne y receptoras de embriones (Bó et al., 2016; 2018; de la Mata et al., 2018; Menchaca et al., 2016). Este protocolo promueve modificaciones durante el proestro y define un perfil endocrino preovulatorio que está positivamente asociado con una mejora del medioambiente uterino (de la Mata et al., 2018; Núñez-Olivera et al., 2022).

También se llevaron adelante trabajos para estudiar las posibilidades de utilizar el protocolo J-Synch en vaquillonas *Bos indicus*. Han sido reportados 5 trabajos comparando la tasa de preñez del protocolo J-Synch vs. el protocolo convencional, dos en Brasil, dos en Paraguay y uno en Ecuador (Revisado en Bó et al., 2022). Ambos protocolos fueron aplicados siempre con eCG al retirar el dispositivo. La sumatoria de estos trabajos favorecen significativamente al protocolo J-Synch. En general la recomendación era utilizar 300 UI de eCG (Núñez-Olivera et al., 2020) pero la recomendación actual es utilizar 200 UI de eCG sérica (García Pintos et al., 2021) o 70 UI de eCG recombinante en vaquillonas para evitar una alta

tasa de mellizos.

Los intentos por mejorar la tasa de preñez en los programas de IATF han sido exitosos, principalmente en vaquillonas. Hace unos años, con el protocolo convencional aplicado en vaquillonas la tasa de preñez en general era menor que en vacas con cría, bastante variable entre lotes y difícil de prever, y superar el 50% de preñez era una barrera difícil. Los resultados actuales aplicando el protocolo J-Synch en las vaquillonas en general superan el 50%, y esto ocurre en forma repetible y sin grandes sorpresas. Esto muestra que la estrategia de prolongar el proestro ha sido eficaz en vaquillonas. Este protocolo ha sido validado tanto con semen convencional y sexado, en programas a pequeña y a gran escala, y tanto para IATF como para receptoras de embriones en programas de TETF (Bó et al., 2018; 2019a; 2019b; 2022). Incluye en un trabajo reciente con vaquillonas *Bos indicus* prepúberes (Cedeño et al., 2022). Sin embargo, en vacas *Bos taurus* con cría y con alta tasa de anestro, la prolongación del proestro con el protocolo J-Synch no había mostrado resultados superiores al protocolo convencional. Una modificación reciente fue prolongar la remoción del dispositivo un día más (Cedeño y Bó, 2021). En un trabajo realizado con 600 vacas cruce *Bos indicus* con cría al pie que tenían un CL o al menos un folículo ≥ 8 mm de diámetro y buena condición corporal se obtuvieron mayores ($P < 0,05$) tasas de preñez con este protocolo J-Synch modificado (58%, 116/200), que las obtenidas con el J-Synch de 6 días (47%, 93/200) y las del protocolo convencional con ECP (49%, 98/200). Para confirmar los resultados se realizó otro experimento con 515 vacas con un CL (60%) o al menos un folículo ≥ 8 mm de diámetro (40%) y con condición corporal entre 3 a 4 (escala 1 a 5) y nuevamente las tasas de preñez fueron

mayores ($P < 0,01$) para las vacas del tratamiento J-Synch de 7 días (60,4%; $n=265$) y que para las del grupo Convencional con ECP (49,6%; $n=250$). Sin embargo, en los trabajos realizados en Argentina con vacas Angus los resultados comparando el protocolo J-Synch de 7 días con el Convencional ha resultado en resultados similares, no encontrándose diferencias significativas entre los mismos. Una diferencia que hemos encontrado recientemente entre *Bos taurus e indicus* es el horario óptimo de IATF. Las vacas *Bos taurus* tienden a ovular antes y por lo tanto se recomienda que al utilizar el protocolo J-Synch de 7 días se comience a inseminar a las 66 h de retirado el dispositivo. Sin embargo, en las vacas *Bos indicus* los resultados indican que sería más aconsejable comenzar a inseminar a las 72 h desde la remoción del dispositivo con P4 (revisado en Bó et al., 2022).

Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

El tratamiento con GnRH en vacas lecheras con un folículo dominante viable inducirá un pico de LH y la ovulación (Macmillan y Thatcher, 1991). No obstante, la GnRH solo sincroniza el desarrollo folicular cuando ocurre la ovulación del folículo dominante (Martinez et al., 1999). Pursley et al. (1995) han desarrollado un protocolo de sincronización de la ovulación para IATF en ganado lechero lactante que utiliza GnRH, protocolo llamado Ovsynch, que con varias modificaciones es hoy el protocolo más utilizado en ganado lechero en el mundo (Cosentini et al., 2021).

En ganado de carne los protocolos basados en GnRH se utilizan en América del Norte y Europa, y desde hace un par de años en Uruguay, debido a las restricciones impuestas por la comunidad económica europea al uso de estradiol en animales cuya carne va a ser destinada a consumo en esos países. La primera modificación del protocolo usado en lechería para que pudiera ser aplicado en vacas de carne fue simplificarlo, colocando la segunda GnRH en el momento de la IATF (protocolo llamado Co-Synch; Geary et al., 2001a). Además, los protocolos Co-Synch incluyen la inserción de un dispositivo con P4 para superar las bajas tasas de ovulación después de la primera GnRH en vaquillonas (Martinez et al., 2002) y en vacas en anestro posparto (Lamb et al., 2001).

También se ha reportado la adición de eCG a los protocolos de tratamiento basados en GnRH y dispositivos con P4, con mejoras reportadas en tasas de preñez en vacas cruce *Bos indicus* (Pincinato et al., 2012) y vacas *Bos taurus* en anestro posparto (Huguenine et al., 2013) en Argentina. En el hemisferio Norte se han reportado mejoras en las tasas de preñez en vacas *Bos taurus* con

Tabla 1. Tasa de preñez obtenida con el protocolo J-Synch y el protocolo convencional en vaquillonas *Bos indicus*.

J-Synch	Convencional	Referencia
53% (207/391)	54% (211/394)	Motta et al., 2016
55% ^a (121/220)	46% ^b (110/239)	Pincinato et al., 2018 & 2019 ($P=0.01$)
63% (51/81)	51% (40/79)	Frutos et al., 2018
56% ^a (137/244)	44% ^b (120/275)	Cedeño et al. 2019 y 2022 ($P=0.01$)
53% (165/312)	40% (199/498)	Pereira et al., 2022 ($P=0.01$)
55%^a (681/1248)	46%^b (680/1485)	Total $P=0.01$

^{ab} Porcentajes con distintos superíndices difieren.

alta tasa de anestro en la primavera de Irlanda (Randi et al., 2021) y en vacas primíparas *Bos taurus* en Canada (Small et al., 2009). Sin embargo, no se han reportado mejoras en las tasas de preñez en vacas *Bos taurus* con baja incidencia de anestro posparto y buena condición corporal (Marquezini et al., 2013). La diferencia entre los trabajos positivos y negativos es la dosis de eCG que se utilizó (400 UI en Randi et al., 2021 y Small et al., 2009 y 200 UI en Marquezini et al., 2013).

Los protocolos con GnRH también han evolucionado y se desarrollaron nuevos protocolos de proestro prolongado, con el objetivo de incrementar el período de exposición preovulatoria al estradiol y mejorar la función uterina y el desarrollo temprano del embrión (Bridges et al., 2008; 2012; 2014). También la mayor exposición al estradiol preovulatorio fue relacionada con menores pérdidas embrionarias en el período de tiempo entre el reconocimiento de la gestación y la adhesión de las membranas placentarias (Madsen et al., 2015). El protocolo se denominó Co-Synch+P4 de 5 días y resultó en una tasa de preñez mayor con el Co-Synch+P4 de 7 días en vacas de carne (Bridges et al., 2008; Whittier et al., 2013).

Debido al intervalo más corto entre la primera GnRH y la inducción de luteólisis en el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días se recomienda utilizar en vacas dos dosis de PGF con 6 a 24 h de intervalo (Souto et al., 2009). En un experimento con 2.465 vacas de carne posparto, la tasa de preñez fue mayor ($P < 0,05$) en las vacas que recibieron 2 PGF con 8 horas de diferencia (55%) que en las que recibieron solo una PGF (48%), y las que recibieron 2 PGF administradas en el mismo momento tuvieron una tasa de preñez intermedia (51%; Bridges et al., 2012). Por lo tanto, la doble PGF administrada con 8 a 24 h de diferencia parece ser necesario para maximizar la fertilidad con el protocolo de 5 días en vacas. No obstante, si las condiciones de manejo del rodeo no permiten la manipulación adicional, una dosis doble de PGF administrada al retirar el dispositivo sería una alternativa aceptable.

En vaquillonas el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días también se ha probado con modificaciones (Day, 2015); por ejemplo, Colazo y Ambrose (2011) y Cruppe et al. (2014) mostraron que la tasa de preñez no difirió en vaquillonas que no recibieron GnRH en el momento de la inserción del dispositivo con P4. Sin embargo, otros autores encontraron resultados diferentes (Kasimanickam et al., 2014). También en vaquillonas, algunos encontraron mayores tasas de preñez cuando se usaron dos dosis de PGF con intervalos entre 6 y 24 h (Day, 2015; Peterson et al., 2011, Lima et al., 2013), mientras que otros no repor-

taron diferencias (García Pintos et al., 2022; Kasimanickam et al., 2014; Rabaglino et al., 2012). En relación con el momento óptimo de IATF, Kasimanickam et al. (2012) reportaron una mayor tasa de preñez con vaquillonas Angus inseminadas a las 56 h después de la remoción del dispositivo que aquellas inseminadas a las 72 h y Day (2015) sugirió realizar la IATF a las 60 a 66 h después de la remoción del dispositivo P4 o inseminación 12 h después del estro usando parches o pintura e inseminar y administrar GnRH a todas aquellas que no estén en celo a las 72 h. Ciertamente, se ha demostrado que la expresión del estro influye en las tasas de preñez en vacas (Richardson et al., 2016), y Colazo et al. (2017) han informado hallazgos similares en vaquillonas inseminadas con semen sexado; sugiriendo la posibilidad de dividir la inseminación basada en la expresión del estro (es decir, retrasando la inseminación en aquellos animales que no muestran estro en el momento de la IATF).

Este protocolo también ha sido evaluado extensivamente en Uruguay (García Pinto et al., 2022), donde se decidió también alterar un poco el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días modificando el horario de remoción del dispositivo y el de IATF (protocolo llamado Split-Synch de 5 días). De esta manera se facilita la administración de la PGF, dando la primera cuando se hace la remoción del dispositivo y la eCG el Día 5 PM, luego las vacas quedan en el corral durante la noche y reciben la segunda PGF antes de largarlas a la mañana siguiente y se coloca además pintura en la base de la cola para detectar las que ya están en celo en el momento de la IATF. Las vacas despintadas son inseminadas a partir de las 62 h aproximadamente, y las sin celo reciben la segunda GnRH y son inseminadas a la tarde (Figura 1).

Se utilizó el mismo protocolo en vaquillonas y se reportó que en esta categoría es necesario administrar una dosis de GnRH al inicio del tratamiento, pero solo es necesario una dosis de PGF al final del tratamiento para inducir la luteólisis. Lo más importante de todo es que los resultados en vaquillonas fueron similares a los obtenidos con el protocolo J-Synch y en vacas fueron similares a los obtenidos con el convencional con ECP como inductor de la ovulación. Con este esquema es posible inseminar du-



Figura 1. Protocolo Split-Synch de 5 días para vacas. En vaquillonas se podría obviar la segunda inyección de PGF y la dosis de eCG recomendada es de 200 UI (Adaptado de García Pintos et al., 2022).

rante todo el día animales en celo y sin celo permitiendo así implementar programas de IATF a gran escala.

El protocolo Co-Synch+P4 de 5 días también ha sido investigado en vacas *Bos indicus* en Brasil, con una tasa de preñez más baja en vacas Nelore con cría, que las tratadas con el protocolo convencional basado en estradiol y P4 de 8 días (Ferraz Jr et al., 2016). Una diferencia importante fue que se utilizó 400 UI de eCG en el protocolo basado en estradiol y P4, pero no en el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días. Para confirmar esta noción, nosotros hemos encontrado una tasa de preñez mayor en vacas en anestro posparto que recibieron 400 UI de eCG al retirar el dispositivo con P4 (Co-Synch+P4 de 5 días: 46,3%, 120/259) que en vacas tratadas con el protocolo Co-Synch+P4 de 5 días, pero sin eCG (26,8%, 71/265; $P < 0,05$; Huguenine et al., 2013). A su vez las tasas de preñez del protocolo Co-Synch más eCG y el convencional con ECP fueron similares (46,3% para el Co-Synch+P4+eCG y 54,5% para el protocolo con EB+P4+ECP+eCG, respectivamente).

También, realizamos recientemente un experimento para evaluar las tasas de preñez a la IATF en vacas cruce *Bos indicus* sincronizadas con protocolos Co-Synch (Bó et al., 2023). Se utilizaron vacas con cría al pié con un CL o al menos un folículo ≥ 8 mm de diámetro, condición corporal entre 2 a 4 (escala 1 a 5) y sincronizadas con uno de tres tratamientos J-Synch de 7 días, Co-Synch de 6 días, Co-Synch de 5 días. En los dos Co-Synch se aplicaron dos dosis de PGF con 12 h de intervalo. La tasa de preñez fue mayor ($P=0.01$) en vacas en el grupo J-Synch 7 días (55.0% 228/415) que aquellas en el grupo Co-Synch 6 días (45.0% 167/370) y Co-Synch 5 días (38,5% 145/376). En conclusión, la mayor tasa de preñez obtenida con el protocolo basado en estradiol sugiere que se requieren mejoras adicionales en los protocolos basados en GnRH para mejorar la tasa de preñez en vacas de carne *Bos indicus*. Probablemente la diferencia este en la menor efectividad de la GnRH que el EB para sincronizar el crecimiento de una nueva onda folicular y posiblemente sea necesario duplicar la dosis de GnRH, ya que la magnitud del pico de LH producido por la administración de GnRH es menor en *Bos indicus* que en *Bos taurus*, sobre todo en vacas con un CL (Batista et al., 2017).

Protocolo Web-Synch

Una de las principales limitantes para la aplicación de los protocolos con GnRH en vacas y vaquillonas para carne, es la baja respuesta a la primera dosis de GnRH (Geary et al., 2001b, Martinez et al., 2000). La otra limitante en las condiciones de anestro prevalentes en Ar-

gentina es la necesidad de utilizar eCG en las vacas en anestro para poder obtener tasas de preñez cercanas al 50% (Bó et al., 2016). Recientemente, Bonacker et al. (2020a) desarrollaron un nuevo protocolo de sincronización denominado 7 & 7 Synch, de 17 días de duración y de 4 manejos, utilizando conocimientos previos generados por Small et al. (2009). Este protocolo, consiste en aplicar PGF y un dispositivo con P4 en el Día -17 como presincronización para desarrollar un folículo persistente; en el Día -10, aplicar GnRH para ovular al folículo persistente presente; en el Día -3, una dosis luteolítica de PGF y retiro del dispositivo y finalmente IATF junto a una dosis de GnRH como inductor de la ovulación en el Día 0 (60 a 66 horas posteriores al retiro del dispositivo). El protocolo 7 & 7 Synch demostró una mejora no sólo en la madurez folicular, sino en la respuesta ovulatoria a la primera administración de GnRH, debido a la presincronización con un dispositivo de P4 y la PGF administrada a la inserción, que producirá concentraciones subluteales de P4 durante 7 días y un folículo persistente que responde a la primera GnRH (Bonacker et al., 2020a). Con este nuevo protocolo aumentaron las tasas de celo y de preñez a la IATF, tanto con semen convencional como con semen sexado, cuando lo compararon contra un tratamiento Co-Synch + dispositivo de 7 días en vacas para carne con cría (Andersen et al., 2021). Además, demostró ser una interesante alternativa en receptoras transferidas a tiempo fijo con embriones frescos y congelados, mejorando las tasas de celo y de aprovechamiento y de preñez por receptora sincronizada, cuando se comparó contra el protocolo Co-Synch + dispositivo de 7 días (Bonacker et al., 2020b).

Basado en estos conocimientos y ante las posibles restricciones al uso de estradiol se diseñó un tratamiento alternativo a base de GnRH al que denominamos "Web-Synch" (Without Estradiol Benzoate). Brevemente, este nuevo tratamiento modificado del 7 & 7 Synch, tiene 14 días de duración y 4 manejos. En el Día -5 se aplica una presincronización de PGF2 α y un dispositivo con P4 para generar un folículo persistente, en el Día 0 se inyecta GnRH para inducir la ovulación del folículo persistente y promover la emergencia de una nueva onda folicular (36 horas más tarde). Posteriormente, en el Día 6, se retira el dispositivo junto a una dosis de PGF y eCG, para inducir el crecimiento folicular y promover un proestro prolongado, al igual que en los tratamientos J-Synch y Co-Synch de 5 días. Por último, la IATF se realiza a las 72 h desde el retiro del dispositivo, con la aplicación de GnRH solo en los animales que no están en celo en ese momento.

Se realizaron 3 experimentos para evaluar el protocolo Web-Synch en vacas para carne con cría al pie (de la Mata et al., 2022). En el Experimento 1, las vacas (n=52) se dividieron al azar para recibir tres tratamientos. Las vacas del tratamiento Web-Synch (n=20) recibieron en el Día -5 un dispositivo intravaginal con P4 (CIDR-B 1,9 g de P4, Zoetis) junto con 150 µg de D-cloprosteno (PGF2α, Veteglan, Calier) i.m. En el Día 0 se administró 20 µg de acetato de buserelina (GnRH, Buserelina, Zoovet) i.m. Las vacas del grupo J-Synch (n=17) recibieron en el Día 0 un CIDR-B junto con 2 mg de EB (Benzoato de Estradiol, Calier) i.m. Las vacas del grupo Co-Synch 6 días (n=20) recibieron en el Día 0 un CIDR-B junto con una dosis de 10 µg de GnRH i.m. En el Día 6 se retiró el dispositivo de todas las vacas, junto con la administración de PGF2α y 105 UI de reCG (Foli-Rec, Zoovet) i.m. Además, se aplicó en todos los animales un parche para la ayuda en la detección de celos (Fasco AP, Buenos Aires, Argentina). Los animales que manifestaron celo se inseminaron en el Día 9 (72 h posteriores al retiro del dispositivo) y los que no lo hicieron recibieron GnRH y se inseminaron en ese momento. Se monitorearon por ultrasonografía transrectal para determinar diámetro folicular, tasa ovulatoria y tamaño del CL posterior a la ovulación. En el Experimento 2, las vacas (n=19) se dividieron al azar para recibir cuatro tratamientos en un diseño experimental con arreglo 2 x 2 factorial. El tratamiento Web-Synch, Día -5: PGF2α y dispositivo con 0,7 g de P4 (Sincrover, Over; n=5) o con 1,0 g de P4 (Sincrover, Over; n=5), Día 0: 20 µg de acetato de buserelina (GnRH, Gestar, Over). El tratamiento J-Synch, Día 0: 2 mg de EB y dispositivo con 0,7 g de P4 (n=5) o con 1,0 g de P4 (n=4). En el Día 6 se retiró el dispositivo de todas las vacas y se aplicó PGF2α y 105 UI de reCG. Los animales se inseminaron y se monitorearon por ultrasonografía como en el Experimento 1 para determinar crecimiento folicular, momento ovulatorio y tasa ovulatoria. En el Experimento 3, se utilizaron vacas con cría al pie (n=213) que fueron divididas como en el Experimento 2, para ser inseminadas y evaluar la tasa de celo y preñez a la IATF. En el Experimento 1, la tasa de ovulación no varió entre tratamientos, siendo 100, 83,3 y 80,0% para los grupos Web-Synch, Co-Synch 6 días y J-Synch, respectivamente (P>0,1). El diámetro folicular a la IATF fue mayor en los tratamientos Web-Synch y Co-Synch 6 días (11,8 ± 0,4 y 11,7 ± 0,5 mm, respectivamente) que en el tratamiento J-Synch (9,8 ± 0,6 mm; P<0,05). En el Experimento 2, las vacas tratadas con Web-Synch tuvieron folículos mayores a las 60, 72 y 84 h desde el retiro del dispositivo en comparación

a las del J-Synch (P<0,05), aunque no difirió el diámetro folicular máximo entre tratamientos (P>0,1). No se observaron diferencias (P>0,1) en la tasa ovulatoria y momento de ovulación entre tratamientos, siendo 80,0% y 94,5 ± 3,5 horas para el tratamiento Web-Synch, y 100% y 96,7 ± 5,1 horas para el tratamiento J-Synch (P>0,1). En el Experimento 3 tanto la tasa de celo como la tasa de preñez no difirieron entre tratamientos, siendo 66,0 y 58,7% para Web-Synch, y 58,0 y 54,1% para J-Synch (P>0,1), respectivamente. En conclusión, el protocolo Web-Synch puede ser considerado como una nueva alternativa para la sincronización de la ovulación e IATF en vacas para carne con cría al pie.

En ese sentido se realizaron recientemente experimentos en vacas Holstein en lactancia para evaluar el tamaño del folículo ovulatorio, el momento de la ovulación y las tasas de preñez a la IA en vacas Holstein lactantes sincronizadas con el protocolo Web-Synch o con el protocolo convencional con estradiol. En el Experimento preliminar (Macagno et al., 2022), Vacas Holstein lactantes (n=179), 41,3±0,9 kg de leche por día, con 139,0±8,3 días en leche, 1,9±0,1 lactancias, condición corporal 3,0±0,1 (escala de 1 a 5) y manejadas en un sistema 'Dry Lot', fueron asignados aleatoriamente a uno de dos grupos de tratamiento. El Día 0, las vacas del Grupo 1 (J-Synch) recibieron 2 mg de EB (Estradiol, Over, Argentina) y un dispositivo intravaginal con 1 g de P4 (Sincrover, Over). El día 6, se retiraron los dispositivos con P4 y las vacas recibieron 150 µg D (+) de cloprosteno (PGF, Prostal, Over) y 400 UI de eCG (Novormon, Zoetis). El Día 7, se administró una segunda dosis de PGF. Las vacas del Grupo 2 (Web-Synch) se trataron con PGF2α y un dispositivo con P4 el Día -5 y 20 µg de buserelina (GnRH, Gestar, Over) el Día 0; el retiro del dispositivo, la PGF y el eCG se realizaron el día 6, y se administró una segunda dosis de PGF el día 7. Las vacas de ambos grupos se pintaron en la base de la cola para la detección de celos y fueron inseminadas 80 h después de retirar el dispositivo con P4. Las vacas a las que no se les había quitado la pintura de la cola recibieron 10 µg de GnRH y fueron inseminadas en ese momento. Todas las vacas fueron examinadas por ultrasonografía en los Días -5 para determinar la ciclicidad, en los Días 0 y 6 para determinar la ovulación a la GnRH en el grupo Web-Synch y en 30 días después de IATF para el diagnóstico de preñez. En general, la expresión de celo fue del 49,7 % (89/179) y tasa de preñez no difirió (P>0,6) si las vacas mostraron (42,6 %, 38/89) o no (36,6 %, 33/90) celo al momento de la IATF. Sin embargo, tanto la expresión de estro como la tasa de preñez

fueron mayores ($P < 0,05$) en las vacas del grupo Web-Synch (59,3%, 54/91 y 49,4%, 45/91, respectivamente) que en las del grupo J Synch (39,7%, 35/88 y 29,5%, 26/88, respectivamente). La proporción de vacas con CL en el día 5 no difirió entre los grupos (J-Synch: 60,2 %, 53/88 vs. Web-Synch: 63,7 %, 58/91; $P > 0,6$). Sin embargo, la proporción de vacas con CL en el grupo Web-Synch fue del 12,1 % el Día 0 y del 76,9 % el Día 6, lo que indica que al menos el 64,8 % de las vacas ovularon en respuesta a la primera administración de GnRH. Luego de este experimento preliminar se realizaron otros dos experimentos con vacas Holstein lactantes ($n=39$ en el Experimento 1 y 451 en el Experimento 2). El segundo experimento se está realizando todavía y está planeado hacer un total de 900 vacas. Las vacas utilizadas hasta ahora tenían $160,0 \pm 7,1$ días en leche, produciendo $35,6 \pm 0,8$ kg de leche por día, $2,8 \pm 0,3$ lactancias, condición corporal $3,1 \pm 0,1$ y manejadas en un sistema "Dry Lot". Las vacas fueron asignadas aleatoriamente a uno de dos grupos de tratamiento. El Día 0, las vacas del grupo Control recibieron 2 mg de EB (Estradiol, Over, Argentina) y un dispositivo intravaginal con 1 g de P4 (Sincrover, Over). El Día 6, las vacas recibieron 150 μ g D (+) de cloprostenol (PGF, Prostal, Over). El Día 7, se retiraron los dispositivos con P4 y las vacas recibieron una segunda PGF 2α , 140 UI de reCG y 1 mg de ECP (Estrosinc, Over). Las vacas del grupo Web-Synch se trataron con PGF y un dispositivo P4 el día -5 y 10 μ g de buserelina (GnRH, Gestar, Over) el Día 0. El retiro del dispositivo con P4, PGF y reCG se realizó el Día 6 y se administró una segunda dosis de PGF el día 7. Las vacas de ambos grupos se pintaron en la base de la cola para la detección de celos. En el Experimento 1, las vacas fueron escaneadas dos veces al día desde la extracción del dispositivo con P4 hasta la ovulación. En el Experimento 2, todas las vacas que tuvieron >30 % de la pintura de la cola borrada en el Día 9 (48 h después de retirar el dispositivo con P4 en el grupo

de control y 72 h después de retirar el dispositivo con P4 en el grupo Web-Synch) fueron IA en ese momento y las vacas a las que no se les había quitado la pintura de la cola en ambos grupos recibieron 10 μ g de GnRH y fueron IA 12 horas más tarde. Las vacas en el Experimento 2 fueron examinadas por preñez 30 días después de la IA. En el Experimento 1, el intervalo medio (\pm SEM) desde la extracción del dispositivo con P4 hasta la ovulación fue más largo ($P < 0,05$) en el grupo Web-Synch ($101,6 \pm 2,9$ h) que en el grupo de control ($78,3 \pm 3,1$ h), pero el diámetro del folículo ovulatorio no difirió ($P=0,3$; $19,7 \pm 0,8$ y $18,5 \pm 0,8$ mm para los grupos Web-Synch y Control, respectivamente). Además, el 79% de las vacas ovularon a la primera GnRH en el protocolo Web-Synch. Los resultados preliminares del experimento 2 (se evaluaron hasta ahora 483 de las 840 planteadas) indican que la tasa de preñez general fue de 45,3% (219/483) y la expresión de celo de 74,9% (362/483). No se encontró diferencia significativa en la expresión de celo ($P=0,3$) entre los grupos Web-Synch (72,9%, 172/236) y Convencional (76,9% 190/247), pero la tasa de preñez fue mayor ($P < 0,01$) en las del grupo Web-Synch (52,9%, 125/236) que en las del grupo Convencional (38,1% 94/247) respectivamente (Macagno et al., 2023). En resumen, el protocolo de sincronización basado en GnRH (Web-Synch) dio como resultado un período de proestro más largo y una tasa de preñez mayor que el protocolo convencional basado en estradiol en vacas lecheras lactantes. El protocolo sugerido se encuentra indicado en la Figura 2.

Comentarios finales

Sin duda el avance en el conocimiento de la fisiología reproductiva de la vaca nos permitirá afrontar los próximos desafíos en la implementación de las tecnologías reproductivas en ganado de carne y leche. Nuestra obligación siempre será la de maximizar la productividad para poder producir alimentos a bajo costo para una población en crecimiento. No obstante, debemos tener en cuenta que esa población en crecimiento es cada vez más urbana y nuestra función será la de explicar y mostrar que se puede producir carne y leche eficientemente y sin alterar el medio ambiente. Por lo tanto, debemos instruir al público en general sobre ello y demostrar que podemos alimentar al mundo con metodologías seguras, con bienestar animal y cuidando el medio ambiente.

Referencias

Adams GP. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. J Reprod Fertil Su-

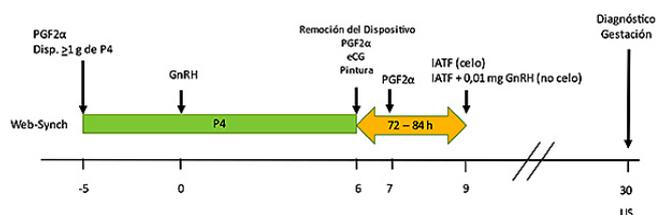


Figura 2. Esquema del protocolo Web-Synch para vacas lecheras en lactancia. Según los resultados obtenidos hasta ahora, en vacas de carne se podría utilizar un dispositivo con 0.6 o 0.7 g de P4 y obviar la segunda inyección de PGF. Además, en vacas de carne todavía no está claro si debemos utilizar una doble dosis de GnRH en el Día 0 para inducir ovulación, mientras que en vacas de leche se ha observado una alta tasa de ovulación (79%) utilizando una dosis (10 μ g de buserelina).

ppl, 54:17-32.

Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 69:72-80.

Andersen CM, Bonacker RC, Smith EG, Spinka CM, Pooock SE, Thomas JM. 2021. Evaluation of the 7 & 7 Synch and 7-day CO-Synch + CIDR treatment regimens for control of the estrous cycle among beef cows prior to fixed-time artificial insemination with conventional or sex-sorted semen. *Anim Reprod Sci*, 235: 106892 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106892>.

Bao B, Garverick HA. 1998. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim Sci*, 76:1903-1921.

Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*, 82-83:479-486.

Baruselli PS, Sá Filho MF, Ferreira RM, Sales JNS, Gimenes LU, Vieira LM, Mendanha MF, Bó GA. 2012. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reprod Dom Anim*, 47:134-141.

Baruselli PS, Ferreira RM, Colli MEA, Elliff FM, Sá Filho MF, Vieira L, Gonzales de Freitas B. 2017. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Anim Reprod*, 14:558-571.

Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, Ortolan MDDV, Sa Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, Lopes RNVR, Renno FP, Baruselli PS. 2014. Plasma antimüllerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reprod Dom Anim*, 49:448-452.

Batista EOS, Del Valle TA, Ortolan MDDV, Renno FP, Nogueira GP, Souza AH, Baruselli PS. 2017. The effect of circulating progesterone on magnitude of the GnRH induced LH surge: Are there any differences between *Bos indicus* and *Bos taurus* heifers? *Theriogenology*, 104: 43-48.

Batista EOS, Sala RV, Ortolan MDDV, Jesus EF, Del Valle TA, Renno FP, Macabelli CH, Chiaratti MR, Nogueira GP, Souza AH, Baruselli PS. 2020. Hepatic mRNA expression of enzymes associated with progesterone metabolism and its impact on ovarian and endocrine responses in Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) heifers with differing feed intakes. *Theriogenology*, 143:113-122.

Bergfelt DR, Lightfoot KC, Adams GP. 1994. Ovarian

dynamics following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. *Theriogenology*, 42:895-907.

Bó GA, Pierson RA, Mapletoft RJ. 1991. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro Mate B implants. *Theriogenology*, 36:169-183.

Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Caccia M, Tribulo HE, Mapletoft RJ. 1994. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. *Theriogenology*, 41:1555-1569.

Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43:31-40.

Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft RJ. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57:53-72.

Bó GA, Baruselli PS, Martinez MF. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*, 78:307-326.

Bó GA, Baruselli PS, Mapletoft RJ. 2013. Synchronization techniques to increase the utilization of artificial insemination in beef and dairy cattle. *Anim Reprod*, 10: 137-42.

Bó GA, De la Mata JJ, Baruselli PS, Menchaca A. 2016. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, 86: 388-396.

Bó GA, Huguenine E, de La Mata JJ, Núñez-Oliveira R, Baruselli PS, Menchaca A. 2018. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Anim Reprod*, 15 (Suppl 1):952-962. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0025>

Bó GA, Baruselli PS, Menchaca A, Mapletoft RJ. 2019a. Evolution of synchronization protocols and use of fixed-time artificial insemination in beef cattle in South America. *Clinical Theriogenology*, 11:255-263.

Bó GA, Huguenine E, de la Mata JJ, Carneiro RLR, Menchaca A. 2019b. Pregnancy rates in suckled beef cows synchronized with a shortened progesterone/estradiol-based protocol (J-Synch) and inseminated with conventional or sexed-sorted semen. *Reprod Fertil Dev*, 31:129 (abstract).

Bó GA, Tschopp JC, Macagno A, Huguenine E, Cedeño AV, de la Mata JJ, Menchaca A. 2022. Actualización sobre los protocolos de proestro prolongado con estradiol y GnRH en ganado de carne y leche. 14 Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Carlos Paz, Córdoba, Argentina. pp. 182-199.

Bó GA, Pinargote L, Bernal B, Mendoza B, Ocampo V, Cedeño AV. 2023. Follicular characteristics and pregnancy rates in suckling *Bos indicus* cows synchronised with oestradiol-based or gonadotrophin-releasing-hormone-based protocols with a lengthened proestrus. *Reprod Fertil Dev*, 35:220 (abstract)

Bonacker RC, Stoecklein KS, Locke JWC, Ketchum JN, Knickmeyer ER, Spinka CM, Pooch SE, Thomas JM. 2020a. Treatment with prostaglandin F_{2α} and an intravaginal progesterone insert promotes follicular maturity in advance of gonadotropin-releasing hormone among postpartum beef cows. *Theriogenology*, 157:350-359.

Bonacker RC, Gray KR, Breiner CA, Anderson JM, Patterson DJ, Spinka CM, Thomas JM. 2020b. Comparison of the 7 & 7 Synch protocol and the 7-day CO-Synch + CIDR protocol among recipient beef cows in an embryo transfer program. *Theriogenology*, 158: 490-496.

Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*, 69:843-851.

Bridges GA, Ahola JK, Brauner C, Cruppe LH, Currin JC, Day ML, Gunn PJ, Jaeger JR, Lake SL, Lamb GC, Marquezini GHL, Peel RK, Radunz AE, Stevenson JS and Whittier WD. 2012. Determination of the appropriate delivery of prostaglandin F_{2α} in the five-day CO-Synch + controlled intravaginal drug release protocol in suckled beef cows. *J Anim Sci*, 90:4814-4822.

Bridges GA, Day ML, Geary TW, Cruppe LH. 2013. Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development. *J Anim Sci*, 91:3002-3013.

Bridges GA, Mussard ML, Hesler LA, Day ML. 2014. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7-day and 5-day CO-Synch + CIDR program in primiparous beef cows. *Theriogenology*, 81:632-638.

Butler A, Butler H, Cesaroni G, Alberio R, Perez Wallace S, Garcia-Guerra A. 2020. Treatment with gonadotrophin-releasing hormone at the time of AI in beef heifers that fail to express oestrus after an estradiol-based synchronisation protocol improves pregnancies per AI. *Reprod Fertil Dev*, 32: 208 (abstract).

Cedeño A, Maingón R, Gamboa H, Avellán J, Bravo J, Rivera C, Macías I, Guadalupe C, Figueroa V, Bó GA. 2019. Protocolos de prolongación de proestro modificados: dinamica folicular en vaquillonas *bos indicus* de carne en programas de IATF. 13 Simposio Internacional de Reproduccion Animal, IRAC, Córdoba, Argentina. pp. 283

(abstract)

Cedeño AV, Cuervo R, Tríbulo A, Tríbulo R, Andrada S, Mapletoft RJ, Menchaca A, Bó GA. 2021. Effect of expression of estrus and treatment with GnRH on pregnancies per AI in beef cattle synchronized with an estradiol/progesterone-based protocol. *Theriogenology*, 161: 294-300.

Cedeño AV, Bó GA. 2021. Effect of length of insertion of a progesterone device on follicular diameter, time of ovulation and pregnancy rates in *Bos indicus* cows treated with an estradiol/progesterone-based protocol with a prolonged proestrus. *Reprod Fertil Dev*, 33:166-167 (abstract).

Cedeño AV, Pinargote L, Bernal B, Mendoza B, Ocampo V, Bó GA. 2022. Tasas de preñez en vaquillonas *bos indicus* prepúberes sincronizadas con el protocolo J-Synch. 14 Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Carlos Paz, Córdoba, Argentina. pp. 297 (abstract).

Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 2003. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, 60:855-65.

Colazo MG, Kastelic JP, Martinez MF, Whittaker PR, Wilde R. 2004. Fertility following fixed-time AI in CIDR treated beef heifers given GnRH or estradiol Cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. *Theriogenology*, 61:1115-24.

Colazo MG, Martínez MF, Small JA, Kastelic JP, Burnley CA, Ward D, Mapletoft RJ. 2005. Effects of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. *Theriogenology*, 63:1454-1468.

Colazo MG, Ambrose DJ. 2011. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. *Theriogenology*, 76:578-588.

Colazo MG, Whittaker PR, Bignell DJ, Mapletoft RJ. 2017. Evaluation of a modified GnRH-based timed artificial insemination protocol associated with estrus detection in cyclic beef heifers inseminated with sexed-selected semen. *Reprod Fertil Dev*, 29:112 (abstract).

Consentini CEC, Wiltbank MC, Sartori R. 2021. Factors that optimize reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial insemination programs. *Animals* 11, 301:1-31. <https://doi.org/10.3390/ani11020301>

Cruppe LH, Day ML, Abreu FM, Kruse S, Lake SL, Biehl MV, Cipriano RS, Mussard ML, Bridges GA. 2014.

The requirement of GnRH at the beginning of the five-day CO-Synch + controlled internal drug release protocol in beef heifers. *J Anim Sci*, 92:4198-4203.

Day ML. 2015. State of the art of GnRH-based timed AI in beef cattle. *Anim Reprod*, 12:473-478.

de Abreu LA, Cutaia L, Perez Wallace S, Santos Resende T, Mancini Carreira AL, de Sa Cunha B, Goncalves de Sousa V, Alves da Silva L, Catussi BLC, Baruselli PS. 2023. Efficacy of equine chorionic gonadotrophin-like treatment on follicular dynamics and pregnancy rate in Nelore cows submitted to fixed-time AI. *Reprod Fertil Dev*, 35: 222 (abstract).

de la Mata JJ, Bó GA. 2012. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus*, 55: 17-23.

de La Mata, J.J., Núñez-Olivera, R., Cuadro, F., Bosolasco, D., De Brun, V., Meikle, A., Bó, G.A., Menchaca, A., 2018. Effects of extending the length of pro-oestrus in an oestradiol- and progesterone-based oestrus synchronisation program on ovarian function, uterine environment and pregnancy establishment in beef heifers. *Reprod Fertil Dev*, 30: 1541–1552. <https://doi.org/10.1071/RD17473>

de la Mata JJ, Morone S, Macagno A, Tschopp JC, Huguenine E, Cedeño A, Bó GA. 2022. Tratamiento a base de GnRH y progesterona como alternativa para los tratamientos a base de estradiol para la inseminación artificial a tiempo fijo en vacas *Bos taurus* para carne. *Taurus*, 93: 39-53.

Ferraz Jr MVC, Pires AV, Biehl MV, Santos MH, Barroso JPR, Goncalves JRS, Sartori R, Day ML. 2016. Comparison of two timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nelore cattle. *Theriogenology*, 86:1939-1943.

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.

García Guerra A, Tribulo A, Yapura J, Adams GP, Singh J, Mapletto RJ. 2015. Lengthened superstimulatory treatment in cows: evidence for rescue of follicles within a wave rather than continuous recruitment of new follicles. *Theriogenology*, 84:467-476.

García Pintos C, Núñez-Olivera R, Cuadro F, Brochado C, Menchaca A. 2021. Different doses of equine chorionic gonadotrophin on pregnancy and twin rates of *Bos taurus* beef heifers subjected to J-Synch protocol for fixed-time artificial insemination. *Reprod Fertil Dev*,

33:164 (abstract).

García Pintos C, Cuadro F, Núñez-Olivera R, Brochado C, Fabini F, Abelenda C, Buero J, País V, Caffera C, Menchaca A. 2022. Protocolos a base de GnRH en ganado bovino de carne y leche: la experiencia de Uruguay. 14 Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Carlos Paz, Córdoba, Argentina. pp. 141-153.

Geary TW, Whittier WD, Hallford DM, MacNeil MD. 2001a. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. *J Anim Sci*, 79: 1-4.

Geary WT, Downing ER, Bruemmer EJ, and Whittier WD. 2001b. Ovarian and Estrous Response of Suckled Beef Cows to the Select Synch Estrous Synchronization Protocol. *The Professional Animal Scientist*, 16: 1-5.

Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Torres-Junior JRS, Souza AH, Madureira EH, Tricia LA, Sartorelli ES, Barros CM, Carvalho JBP, Mapletto RJ, Baruselli PS. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, 69:852-858.

Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L. 1989a. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci*, 20:187-200.

Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. 1989b. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fert*, 87:223-230

Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K. 2001. Follicle selection in cattle: relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. *Biol Reprod*, 65:345-350.

Hill SL, Grieger DM, Olson KC, Jaeger JR, Dahlen CR, Bridges GA, Dantas F, Larson JE, Muth-Spurlock AM, Ahola JK, Fischer MC, Perry GA, Larimore EL, Steckler TL, Whittier WD, Currin JF, Stevenson JS. 2016. Using estrus detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows enrolled in a fixed-time artificial insemination program. *J Anim Sci*, 94:3703–3710.

Huguenine E, Peracchia S, Benitez R, Martini H, Cleudou G, Bó GA, Callejas S. 2013. Effect of the utilization of 5-day CO-Synch protocols combined or not with eCG in suckled cows in postpartum anoestrus. X Symposium on Animal Reproduction, IRAC, Córdoba, Argentina. pp. 313 (abstract).

Kasimanickam R, Asay M, Firth P, Whittier WD, Hall JB. 2012. Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five-day Co-Synch controlled internal drug release (CIDR) protocol. *Theriogeno-*

logy, 77:1624-1631.

Kasimanickam R, Firth P, Schuenemann GM, Whitlock BK, Gay JM, Moore DA, Hall JB, Whittier WD. 2014. Effect of the first GnRH and two doses of PGF 2α in a 5-day progesterone-based CO-Synch protocol on heifer pregnancy. *Theriogenology*, 81:797-804.

Kastelic JP, Ginther OJ. 1991. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim Reprod Sci*, 26:13-24.

Lamb GC, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HA, Brown DR, Salfen BE. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F 2α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J Anim Sci*, 79:2253-2259.

Lima F, Ribeiro ES, Bisinotto RS, Greco RF, Martinez N, Amstalden M, Thatcher WW, Santos JEP. 2013. Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. *J Dairy Sci*, 96:7054-7065.

Macagno A, Tschopp JC, Bó GA. 2022 Synchronization of ovulation in lactating dairy cows following a lengthened proestrus in an estradiol/progesterone-based protocol. *Reprod Fertil Dev*, 34: 297-298 (abstract)

Macagno A, de la Mata JJ, Tschopp JC, Bó GA. 2022. Pregnancy rates in lactating Holstein cows synchronized with a modified GnRH/progesterone based TAI protocol. International Congress on Animal Reproduction (ICAR), Bologna Italia, 26 al 30 de junio del 2022.

Macagno AJ, Tschopp JC, de la Mata J, Ezenga A, Bó GA. 2023. Ovulatory follicle size, time of ovulation, and pregnancy rates to AI in lactating dairy cows treated with a new gonadotrophin-releasing-hormone-based protocol with lengthened proestrus. *Reprod Fertil Dev*, 35:219 (abstract).

Macmillan KL, Thatcher WW. 1991. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*, 45:883-889.

Madsen CA, Perry GA, Mogck CL, Daly RF, MAcNeil MD, Geary TW. 2015. Effects of preovulatory estradiol on embryo survival and pregnancy establishment in beef cows. *Anim Reprod Sci*, 158:96-103.

Madureira G, Consentini C, Motta J, Drum J, Prata A, Monteiro P, Melo LF, Gonçalves J, Wiltbank M, Sartori R. 2020. Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. *Theriogenology*, 145:86-93.

Marquezini GHL, Mercadante VRG, Olson KC, Jaeger JR, Perry GA, Stevenson JS, Lamb GC. 2013. Effects

of equine chorionic gonadotropin on follicle development and pregnancy rates in suckled beef cows with or without calf removal. *J Anim Sci*, 91:1216-1224.

Mapletoft RJ, Martinez MF, Colazo MG, Kastelic JP. 2003. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. *J Anim Sci*, 81(E Suppl 2): E28-E36.

Martinez MF, Adams GP, Bergfelt D, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 1999. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in heifers. *Anim Reprod Sci*, 57:23-33.

Martinez M.F., Adams G.P., Kastelic J.P., Bergfel D.R., Mapletoft R.J. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*, 15:757-69.

Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook RB, Olson WO, Mapletoft RJ. 2002. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 57:1049-59.

Martínez MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. 2005. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci*, 86:37-52.

Martínez MF, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 2007. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domest Anim Endo*, 33:77-90.

Menchaca A, Dutra S, Carrau JM, Sapriza F, Bó GA. 2016. Improvements of the new J-Synch protocol used for fixed time embryo transfer (FTET) in beef cattle recipients transferred with in vitro produced embryos. International Congress of Animal Reproduction (ICAR), Tours, Francia, P471.

Motta JCL, Colli MHA, Penteado L, Bayeux BM, Mingoti RD, Bó GA, Lugo LC, Rezende RG, Baruselli PS. 2016. Pregnancy rate to FTAI in Nelore and crossbreed heifers submitted to J-Synch protocol (6 days). *Anim Reprod*, 13:401. (abstract).

Núñez-Olivera R, Cuadro F, Bosolasco D, de Brun V, de la Mata J, Brochado C, Meikle A., Bó GA, Menchaca A. 2020. Effect of equine chorionic gonadotropin (eCG) administration and proestrus length on ovarian response, uterine functionality and pregnancy rate in beef heifers inseminated at a fixed-time. *Theriogenology*, 151: 16-27.

Núñez-Olivera R, Bó GA, Menchaca A. 2022. Association between proestrus length, follicular growth, estrous behavior, and pregnancy rate in beef heifers subjected to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, 181: 1-7.

Núñez-Olivera R, de Castro T, García-Pintos C, Bó GA, Piaggio J, Menchaca A. 2014. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol-based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Anim Reprod Sci*, 146:111–116.

Odde KG. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci*, 68:817-830.

Peterson C, Alkar A, Smith S, Kerr S, Hall JB, Moore D, Kasimanickam R. 2011. Effects of one versus two doses of prostaglandin F2alpha on AI pregnancy rates in a 5-day progesterone-based, CO-Synch protocol in cross-bred beef heifers. *Theriogenology*, 75:1536-1542.

Pincinato D. 2012. Follicular dynamics and fertility in beef suckled cows synchronized with progesterone releasing devices and GnRH. Master of Science Thesis. Faculty of Agriculture Sciences, National University of Cordoba, Cordoba, Argentina.

Pincinato D, Peres LC, Lorentz L, Santana GS, Machado MK, Borges AJ, Lacerda LS, Bo GA. 2018. Pregnancy rates in Nelore heifers using a shortened estradiol/progesterone-based protocol that provides for a lengthened proestrus (J-Synch). Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Florianópolis, SC, Brazil, August 16th to 18th, 2018. *Anim Reprod* 15, 350 (Abstract).

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology*, 44:15-923.

Rabaglino MB, Risco C, Thatcher MJ, Kim IH, Santos JE, Thatcher WW. 2010. Application of one injection of prostaglandin F2α in the five-day Co-Synch + CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J Dairy Sci*, 93:1050–1058.

Randi F, Kelly AK, Parr MH, Diskin MG, Lively F, Loneragan P, Kenny DA. 2021. Effect of ovulation synchronization program and season on pregnancy to timed artificial insemination in suckled beef cows. *Theriogenology*, 172: 223-229.

Revah I, Butler WR. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fertil*, 106:39-47.

Sá Filho MF, Santos JEP, Ferreira RM, Sales JNS, Baruselli PS. 2011. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology*, 76:455-463.

Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, Souza JC, Nogueira GP, Baruselli PS. 2012. Effects of two estradiol esters (benzoate

and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 78:510–516.

Sartorelli ES, Carvalho LM, Bergfelt DR, Ginther OJ, Barros CM. 2005. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, 63:2382–2394.

Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod*, 65:1403-1409.

Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci*, 87:905–920.

Sartori R, Gimenes LU, Monteiro Jr PLJ, Melo LF, Baruselli PS, Bastos MR. 2016. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*, 86:32-40.

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*, 98:77-84.

Seguin B. 1987. Control of the reproductive cycle in dairy cattle. *Proc Ann Mtg Soc Therio*, pp. 300-8.

Seguin B. 1997. Strategies for estrus control to improve dairy reproductive performance. *Proc Ann Mtg Soc Therio*, pp.320-331.

Selk GE, Fink MS, Peake CA. 1988. Estrus synchronization of cattle using eleven day or fourteen day prostaglandin protocols. *Anim Sci Res Ag Expt Station, Oklahoma State Univ. MP, USA*. 125:34-37.

Ré MG, Racca G, Filippi L, Veneranda G, Bó GA. 2021. Sincronización de la ovulación y tasas de preñez en vaquillonas lecheras tratadas con protocolos que prolongan el proestro *Taurus*, 91: 28-45.

Small JA, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. 2009. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. *Theriogenology*, 71:698-706.

Souto LA, Maquivar M, Mussard ML, Bridges GA, Grum DE, Day ML. 2009. Fertility and luteal regression with 5-d CIDR synchronization programs in postpartum beef cows using differing luteolytic treatments *J Animal Sci*, 87 (Suppl 2):372 (abstract).

Uslenghi G., González Chavez S., Cabodevila J. and Callejas S. 2014. Effect of estradiol cypionate and amount

of progesterone in the intravaginal device on synchronization of estrus, ovulation and on pregnancy rate in beef cows treated with FTAI based protocols. *Anim Reprod Sci*, 145:1-7.

Villaraza CJ, Antuña S, Tardivo MB, Rodríguez MC, Mussio P, Cattaneo L, Fontana D, Díaz PU, Ortega HH, Tribulo A, Macagno A, Bó GA, Ceaglio N, Prieto C. 2021. Development of a suitable manufacturing process for production of a bioactive recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in CHO-K1 cells. *Theriogenology*, 172: 223-229.

Whittier WD, Currin JF, Schramm H, Holland S, Kasimanickam RK. 2013. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. *Theriogenology*, 80:963-969.

Wiltbank JN, Zimmerman DR, Ingalls JE, Rowden WW. 1965. Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus. *J Anim Sci*, 24: 990-994.