

Comparación de dos métodos de aplicación de progesterona en protocolos de inseminación a tiempo fijo en vacas de carne

A. Irazábal, R. Pérez Clariget¹, C. de Olarte, G. de Nava y D. Cavestany

Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay

Recibido Enero 30, 2014. Aceptado Junio 01, 2014.

Comparison of two methods of progesterone application in a fixed time artificial insemination protocol in beef cows

Abstract. Two experiments were conducted at two commercial farms to compare pregnancy rates of nulliparous (n = 178) and primiparous (n = 130; Farm 1), and multiparous (n = 161; Farm 2) Aberdeen Angus cows, when 200 mg s-c of injectable oil-based progesterone (MAD-4) or a 558 mg progesterone releasing intravaginal device (DIV) were used in a fixed time artificial insemination protocol based on estradiol benzoate (EB), prostaglandin (PG), equine chorionic gonadotropin (eCG) and gonadotropin releasing hormone (GnRH). Primiparous and multiparous cows were weaned 30 d before treatment (60–90 d postpartum). The ovarian status was determined by rectal palpation and the animals classified as cycling or in superficial anoestrus or deep anoestrus. The P₄ source affected (P<0.0001) the pregnancy rate of primiparous and multiparous cows, but not that of nulliparous cows (Farm 1: Nulliparous: 51% and 42%; Primiparous: 42% and 10%, DIV and MAD-4, respectively, with a treatment x category interaction (P = 0.0056). Farm 2: DIV: 51% vs. MAD4: 9%, P=0.0001). Independently of the hormonal treatment, the ovarian status influenced pregnancy rates (P<0.0001), cycling cows showed the highest value and cows in deep anoestrus the lowest. No significant treatment x ovarian status interaction was found. It is concluded that replacing the DIV by MAD-4 decreased pregnancy rate of primiparous and multiparous cows, but not that of nulliparous ones.

Key words: Estrous synchronization, Intrauterine device, Oil-based progesterone, Ovarian status.

Resumen. Se realizaron dos experimentos en dos establecimientos comerciales para comparar las tasas de preñez obtenidas en vacas de carne de la raza Aberdeen Angus nulíparas (n = 178) y primíparas (n = 130; Establecimiento 1) y múltíparas (n = 161; Establecimiento 2) cuando se utilizó progesterona () oleosa inyectable (MAD-4, 200 mg s-c) o un dispositivo intravaginal (DIV) de liberación de 558 mg P₄ en un protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) a base de benzoato de estradiol (BE), prostaglandina (PG), gonadotropina coriónica equina (eCG) y hormona de liberación de gonadotropina (GnRH). Las primíparas y múltíparas fueron destetadas 30 d antes del inicio de los tratamientos P₄ (60–90 d posparto). La actividad ovárica se determinó por palpación rectal y se clasificó en ciclando, en anestro superficial o anestro profundo. La fuente de P₄ afectó (P<0.0001) la tasa de preñez de las vacas primíparas y múltíparas, pero no el de las nulíparas (Establecimiento 1: Nulíparas: 51% y 42%; Primíparas: 42% y 10%, DIV y MAD-4, respectivamente, habiendo interacción tratamiento x categoría (P = 0.0056). Establecimiento 2: DIV: 51% vs. MAD-4: 9%, P = 0.0001). Independientemente de los tratamientos, el estatus ovárico influyó sobre la tasa de preñez (P<0.0001), las vacas ciclantes presentando los mayores valores y las en anestro profundo los menores. No se encontró interacción tratamiento x estatus ovárico. Se concluye que la sustitución del DIV por la MAD-4 disminuyó la tasa de preñez de las primíparas y múltíparas, pero no la de las nulíparas.

Palabras clave: Dispositivo intrauterino, Estatus ovárico, Progesterona oleosa, Sincronización de celos

¹Autor para la correspondencia, e-mail: raquelperezclariget@gmail.com

Introducción

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) es una opción de manejo reproductivo disponible desde hace casi 20 años cuando se describió que se podía lograr la ovulación de una manera programada (Pursley *et al.*, 1995), que facilita el uso de la IA y agrupa los partos. También ha sido utilizada, asociada (de Castro *et al.*, 2006) o no (Bó *et al.*, 1995) al destete precoz, para acortar el anestro posparto.

La incorporación de una fuente de progesterona (P_4) el primer día del tratamiento, cuando se administra la hormona de liberación de gonadotropina (GnRH) (Lamb *et al.*, 2001) o benzoato de estradiol (BE) (Bó *et al.*, 1995) y retirada siete días después, cuando se aplica prostaglandina (PG), mejora la sincronización de celos (Dejarnette *et al.*, 2001) y aumenta la tasa de preñez en vacas en anestro posparto (Lamb *et al.*, 2001).

La fuente de P_4 más utilizada son los dispositivos intravaginales de liberación lenta (Lamb *et al.*, 2001; Larson *et al.*, 2006). Sin embargo, la gestión de

sus residuos presenta dificultades y podrían representar un posible riesgo de contaminación ambiental (Kolok *et al.*, 2007; Kolok y Selling, 2008). Los residuos de la utilización de P_4 inyectable en base oleosa (MAD-4; Cavestany *et al.*, 2008a) serían menos problemáticos y riesgosos, por lo que sería una alternativa si los resultados de preñez no se vieran afectados.

La hipótesis planteada fue que las tasas de preñez obtenidas cuando se sustituye el dispositivo intravaginal por la administración de P_4 oleosa inyectable en un protocolo de IATF en vacas de carne sometidas a destete precoz, no son diferentes, independientemente del estatus ovárico o paridad de las vacas. El objetivo fue comparar las tasas de preñez obtenidas cuando se utilizó P_4 en forma oleosa inyectable o un dispositivo intravaginal en un protocolo de IATF en vacas nulíparas y primíparas o multíparas sometidas a destete precoz y con diferente estatus ovárico.

Materiales y Métodos

Localización, animales, diseño experimental y tratamientos

Se realizaron dos experimentos, cada uno en un establecimiento comercial en Flores, Uruguay, (Latitud Sur: 34° 31' 22"; Longitud Oeste: 56° 16' 40") durante la temporada reproductiva (noviembre-marzo).

En el Establecimiento 1 se utilizaron 308 animales de la raza Aberdeen Angus, 178 nulíparas con un peso corporal de 298.4 ± 1.8 kg (media \pm error estándar de la media [EEM]) y 130 vacas primíparas, de la misma raza, con una condición corporal (CC) al inicio de los tratamientos de 3.9 ± 0.04 unidades (escala: 1-8; Vizcarra *et al.*, 1986), que habían sido sometidas a destete precoz (DP) un mes antes, cuando tenían entre 60 y 90 d posparto (DPP). Todas las vacas pastorearon en el mismo potrero durante todo el experimento. Al momento de iniciar los tratamientos (día 0), se evaluó el estatus ovárico por medio de palpación rectal de los ovarios, clasificando a los animales en: ciclando (se palpaba un cuerpo lúteo; CL), en anestro superficial (se palpaban folículos de 10 mm o más y no CL) y anestro profundo (no se palpaban estructuras ováricas y los ovarios eran lisos y pequeños) (Wiltbank *et al.*, 2002). El día 0 los animales fueron asignados al azar de acuerdo a la categoría, estatus ovárico, a uno de los siguientes tratamientos: 1) Grupo DIV (n = 89 vacas nulíparas y 66 primíparas): cada animal recibió un dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P_4 , (Cronipres M-24, Laboratorio Biogénesis Bagó,

Montevideo, Uruguay), y 2) Grupo MAD-4 (n = 89 vacas nulíparas y 64 primíparas): cada animal recibió una dosis s-c de 200 mg de P_4 oleosa (MAD-4, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina). La totalidad de los animales, también recibió ese mismo día 0.2 mg de benzoato de estradiol (BE; Estradiol 10, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) vía i-m y el día 7.5 se les administró vía i-m 0.15 mg de un análogo sintético de PGF2 α (D-cloprostenol, Prostaglandina, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) y 400 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG; Biogón Plus, Laboratorio Biogénesis Bagó, Uruguay). Dos días después, en la tarde (día 9.5), se aplicó vía i-m 8 μ g de un análogo sintético de GnRH (Buserelina, GnRH, Laboratorio Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina).

En el Establecimiento 2, se utilizaron 161 vacas multíparas, de la raza Aberdeen Angus con una CC promedio, al inicio de los tratamientos, de 3.1 ± 0.03 unidades. Las hembras habían sido destetadas 30 d antes, cuando tenían entre 60-90 DPP. El día 0 se evaluó el estatus ovárico en forma similar a lo descrito en el Establecimiento 1. Las vacas fueron asignadas al azar teniendo en cuenta su CC y estatus ovárico a uno de los mismos tratamientos descritos anteriormente: 1) Grupo DIV (n = 80) y 2) Grupo MAD-4 (n = 81).

Detección de celos, IA y diagnóstico de preñez

En ambos establecimientos, el día 9 en la mañana se detectó celo, observando la monta homosexual

para registrar los celos prematuros, es decir celos posteriores a la aplicación de PG y previos a la IATF. Se consideró vaca en celo aquella que aceptaba la monta. Las vacas detectadas en celo fueron inseminadas 12 h después. A las vacas que no se habían detectado en celo se les aplicó la dosis de GnRH en la tarde (día 9.5) y el día 10 en la mañana temprano, 60 h después de aplicada la PG, luego recibieron la IATF. Las inseminaciones en ambos establecimientos fueron realizadas por el mismo técnico, utilizando semen de tres toros de fertilidad previamente conocida, que fueron distribuidos al azar entre las categorías y tratamientos.

Se diagnosticó la preñez por medio de ultrasonografía transrectal (Agroscan ALR 575, Francia, equipado con sonda lineal rectal de 5 MHz) el día 40 luego de la IA.

Análisis Estadístico

Los datos de preñez fueron analizados utilizando modelos generalizados (procedimiento GENMOD del programa SAS, SAS Institute, Inc.,

Cary, NC) especificando la distribución binomial y la transformación logit de los datos. Los modelos utilizados para analizar los datos obtenidos en el Establecimiento 1 incluyeron los efectos de tratamiento (DIV y MAD-4), categoría (nulíparas y primíparas), tipo de IA (a celo visto o IATF) y estatus ovárico (ciclado, anestro superficial o profundo) y las interacciones correspondientes. También se analizó el efecto de la categoría sobre estatus ovárico (presencia o ausencia de CL) y se estimó la correlación de Spearman entre estatus ovárico y categoría (PROC CORR).

Los datos de las vacas del Establecimiento 2 se analizaron incluyendo en el modelo los efectos de tratamiento, estatus ovárico, tipo de IA, CC ($CC \geq 3.5$ vs. $CC < 3.5$) y las interacciones correspondientes. Se analizó la correlación de Spearman entre estatus ovárico y CC (PROC CORR). Se consideró que un efecto influía significativamente o las medias eran diferentes si $P < 0.05$ y que existía una tendencia si $0.05 < P \leq 0.10$.

Resultados

En el Cuadro 1 se presentan los valores de probabilidad (P) de los efectos estudiados sobre la tasa de preñez en los Establecimientos 1 y 2.

Establecimiento 1

Al iniciar los tratamientos (día 0), un mayor porcentaje de vacas nulíparas presentaban CL comparado con las vacas primíparas (nulíparas: 65% vs. primíparas: 6%; $P < 0.0001$). El resto de las vacas nulíparas (35%) y 48% de las primíparas fueron diagnosticadas en anestro superficial. No se observaron vacas nulíparas en anestro profundo, mientras que 46% de las primíparas fueron clasificadas dentro de esa categoría. Como se esperaba, se encontró una alta correlación entre categoría y estatus ovárico ($r = 0.69$; $P < 0.0001$).

A pesar de que 24% más de vacas nulíparas que primíparas resultaron gestantes (46% vs. 22%), esta diferencia no fue significativa ($P = 0.48$). La tasa de preñez tampoco fue afectada por el tipo de inseminación (IA: 47% vs. IATF: 34%; $P = 0.83$). Sin embargo, se inseminaron solo 51 hembras a celo visto (IA), mientras que 257 recibieron IATF. No se encontró interacción entre tratamiento y estatus ovárico ($P = 0.61$) (Cuadro 2). La tasa de preñez fue afectada por el tratamiento hormonal (DIV: 44% vs. MAD-4: 28%; $P = 0.0001$; Cuadro 2) y el estatus ovárico previo al tratamiento ($P = 0.0001$). Independientemente de la categoría, las hembras clasificadas como cicladas al momento de iniciar los tratamientos tuvieron mayor ($P < 0.05$) tasa de preñez

(54%) que las en anestro superficial (30%) o en anestro profundo (13%; $P < 0.05$). La diferencia en la tasa de preñez entre las hembras clasificadas en anestro profundo y superficial fue también significativa ($P < 0.05$; Cuadro 2). Se encontró una interacción entre la categoría y el tratamiento ($P = 0.0056$). Un mayor porcentaje ($P < 0.05$) de vacas primíparas del grupo DIV quedó gestante (35%) comparado con el grupo MAD-4 (10%), pero, no se encontraron diferencias entre tratamientos en el grupo de nulíparas (DIV: 51%; vs. MAD-4: 42%, $P > 0.1$; Cuadro 2). Aún más, el porcentaje de preñez de vacas nulíparas del tratamiento MAD-4 fue mayor ($P < 0.05$) que el de las vacas primíparas tratadas de igual manera (42% vs. 10%; Cuadro 2).

Establecimiento 2

Al momento de aplicar los tratamientos (día 0), 35% de las vacas multíparas se encontraba en anestro profundo, 63% en anestro superficial y sólo 2% estaba ciclada. La CC de 113 vacas (70%) era < 3.5 y de las restantes 48 (30%) era $CC = 3.5$, solo dos tenían una CC de 4. Es posible que esta distribución sea responsable, al menos en parte, de no haber efecto de la CC sobre la tasa de preñez ($P = 0.28$) en este trabajo. El estatus ovárico fue influido por la CC ($P = 0.0002$) encontrándose una correlación positiva ($r = 0.28$) y significativa ($P = 0.0003$) entre estatus ovárico y CC. La tasa de preñez fue afectada por el tratamiento hormonal (DIV: 51% vs. MAD-4: 9%; $P = 0.0001$; Cuadro 3). Independientemente de

Cuadro 1. Valores de probabilidad (P) de los efectos del tratamiento hormonal, categoría, estatus ovárico, tipo de IA, condición corporal y sus interacciones sobre la tasa de preñez en los Establecimientos 1 y 2

Efecto	Establecimiento 1	Establecimiento 2
Tratamiento hormonal	0.0001	0.0001
Categoría	0.48	
Estatus ovárico	0.0001	0.0834
Tipo de IA	0.83	0.0006
Condición Corporal	0.31	0.28
Interacción tratamiento x categoría	0.0056	
Interacción tratamiento x estatus ovárico	0.61	0.68
Interacción tratamiento x tipo de IA	0.77	0.76

Cuadro 2. Efecto de la fuente de progesterona, estatus ovárico, categoría y el tipo de IA sobre la tasa de preñez (%) en vacas nulíparas y primíparas (Establecimiento 1)

	DIV ¹	MAD-4 ²	Total
Tratamiento			
Estatus ovárico	44 ^a (68/155)	28 ^b (43/153)	36 (111/308)
Anestro profundo	20 (7/35)	4 (1/25)	13 ^c (8/60)
Anestro superficial	45 (25/56)	17 (12/69)	30 ^b (37/125)
Ciclando	56 (36/64)	51 (30/59)	54 ^a (66/123)
Categoría			
Nulíparas	51 ^a (45/89)	42 ^a (37/89)	46 (82/178)
Primíparas	35 ^a (23/66)	10 ^b (6/64)	22 (29/130)
Tipo de IA			
Celo observado	47 (17/36)	47 (7/15)	47 (24/51)
IATF	43 (51/119)	26 (36/138)	34 (88/257)

¹DIV: dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P²MAD-4: 200 mg vía s-c de P₄ oleosa. Entre paréntesis el número de observaciones.^a, ^b, ^cLiterales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P≤0.05)

Cuadro 3. Efecto de la fuente de progesterona, estatus ovárico, condición corporal y tipo de IA sobre la tasa de preñez (%) en vacas múltíparas (Establecimiento 2)

	DIV ¹	MAD4 ²	Total
Tratamiento	51 ^a (41/80)	9 ^b (7/81)	30 (48/161)
Estatus ovárico			
Anestro profundo	48 (12/25)	6 (2/32)	25 ^y (14/57)
Anestro superficial	52 (28/54)	11 (5/47)	33 ^x (33/101)
Ciclando	100 (1/1)	0 (0/2)	33 ^x (1/3)
CC			
< 3.5	56 (31/55)	9 (5/58)	32 (36/113)
e» 3.5 ³	40 (10/25)	9 (2/23)	25 (12/48)
Tipo de IA			
Celo observado	66 (21/32)	25 (3/12)	55 ^a (24/44)
IATF	42 (20/48)	6 (4/69)	21 ^b (24/117)

¹DIV: dispositivo intravaginal conteniendo 558 mg de P₄²MAD-4: de 200 mg vía s-c de P₄ oleosa.

Entre paréntesis el número de observaciones.

³e »: igual a^a, ^b, ^x, ^yLiterales diferentes a y b indican diferencias estadísticamente significativas (P≤0.05), x e y (P = 0.0834).

los tratamientos (interacción tratamiento x estatus ovárico: $P = 0.68$), se encontró una tendencia ($P = 0.0834$) del efecto del estatus ovárico previo al tratamiento sobre los resultados de preñez. En efecto, las vacas que se clasificaron como ciclando al momento de aplicar los tratamientos tendieron a presentar una tasa de preñez similar ($P > 0.1$) a la de las vacas consideradas en anestro superficial, pero mayor ($P < 0.05$) a la de las en anestro profundo; y las en

anestro superficial aventajaron ($P < 0.05$) a las en anestro profundo (ciclando: 33%; anestro superficial: 33%; anestro profundo: 25%; Cuadro 3). Ahora bien, en este establecimiento sólo tres vacas presentaban un CL en uno de los ovarios al iniciar los tratamientos. Independientemente del tratamiento (interacción tratamiento x tipo de IA: $P = 0.7608$), el tipo de IA afectó el porcentaje de preñez (IA: 55% vs. IATF: 21%; $P = 0.0006$; Cuadro 3).

Discusión

Cuando en un protocolo de IATF se substituyó como fuente de P_4 el dispositivo intravaginal (DIV) conteniendo 558 mg, por la aplicación de 200 mg vía s-c, de una dosis de P_4 oleosa inyectable (MAD-4) en vacas primíparas posparto (Establecimiento 1) y múltiparas (Establecimiento 2), la tasa de preñez fue menor. Estos resultados coinciden con los publicados por de Olarte *et al.* (2013). Sin embargo, en el presente trabajo los resultados de preñez obtenidos con ambos tratamientos en las vacas nulíparas (Establecimiento 1) no fueron diferentes. En vacas en anestro, es imprescindible incluir un "priming" de P_4 en los protocolos de IATF para lograr buenos resultados, pero se puede prescindir del mismo cuando las vacas están ciclando (Lamb *et al.*, 2001; Stevenson *et al.*, 2002; Baruselli *et al.*, 2004). Es posible que el MAD-4 como fuente de P no es capaz de mantener concentraciones altas del esteroide durante los siete días de tratamiento, fallando en lograr el "priming" necesario para permitir que el folículo dominante finalizara su crecimiento y ovulara, condición imprescindible para que las vacas reiniciaran su actividad cíclica ovárica (Yavas y Walton, 2000). Existen evidencias que los niveles de P_4 circulantes disminuyen a las 52 h (Cavestany *et al.*, 2008b) o 96 h (Corréa Rocha *et al.*, 2011) post-administración de dosis entre 250 a 400 mg de MAD-4. Además, MAD-4 no fue capaz de mantener concentraciones séricas de P_4 capaces de inhibir la expresión de celos anticipados al período sincronizado (Cavestany *et al.*, 2008a).

Más aún, los presentes resultados globales de tasa de preñez logrados en el Grupo DIV (46%), a pesar de la baja CC que presentaban las vacas paridas que pudo haber afectado los resultados (Baruselli *et al.*, 2004), están en el entorno de los valores reportados a nivel nacional (Menchaca *et al.*, 2013; asociado a destete precoz: 56.5%), y regional (Sá Filho *et al.*, 2009: 49.6%, asociado a destete temporario; Vittone *et al.*, 2011: 55.6%, asociado a destete precoz) o a nivel internacional (Lamb *et al.*, 2001: 54%), utilizando el mismo dispositivo o uno

similar. Por otra parte, cuando se utilizó MAD-4 como fuente de P_4 , en la categoría nulíparas, la tasa de preñez obtenida (42%) no fue diferente al obtenido en el Grupo DIV y similar a los resultados de Busch *et al.* (2007; 47%) y Cavestany *et al.* (2008a; 48%). Al contrario, los resultados del Grupo MAD-4 en las vacas primíparas (Establecimiento 1) y múltiparas (Establecimiento 2) fueron inferiores a los obtenidos en el Grupo DIV y a los hallados en la literatura antes mencionada. En el presente trabajo, el 65% de las vacas nulíparas estaban ciclando y en esa situación es posible que la P_4 endógena cubriera la deficiencia de aporte de la hormona por parte del MAD-4. Mientras que, sorprendentemente, más del 90% de las vacas primíparas (Establecimiento 1) y las vacas múltiparas (Establecimiento 2) fue diagnosticado en anestro al momento de iniciar los tratamientos, a pesar de haber sido destetadas 30 d antes. En estas categorías, entonces, el "priming" de P_4 era crítico para lograr el reinicio de la actividad ovárica cíclica.

El estatus ovárico influyó sobre la tasa de preñez, con las vacas ciclando presentando los valores más altos y las en anestro profundo los más bajos, pero no se pudo detectar una interacción entre estatus ovárico y el tratamiento, a pesar de las diferencias aritméticas observadas, posiblemente porque el número de observaciones no fue suficiente, considerando la naturaleza binomial de la variable de respuesta. Es posible que al realizar el examen ovárico una sola vez se corrió el riesgo de aumentar los falsos negativos, sobreestimando el número de vacas en anestro superficial, pero difícilmente el número de vacas en anestro profundo. Otros autores también han hallado diferencias de preñez en vacas de distinto estatus ovárico (Larson *et al.*, 2006; de Olarte *et al.*, 2013) o en función del diámetro del folículo mayor presente en el ovario (Sá Filho *et al.*, 2010) cuando utilizan protocolos de sincronización de celos. Por su parte, el estatus ovárico estuvo asociado a la categoría (Establecimiento 1) y a la CC (Establecimiento 2), siendo las vacas nulíparas y las

vacas con CC3.5 las que en mayor proporción presentaban un CL en uno de sus ovarios. En el presente trabajo no se encontraron diferencias de acuerdo a la categoría cuando se utilizó el DIV como fuente de P₄, a pesar de que la tasa de preñez de las primíparas fue 16% menor al obtenido con las nulíparas (Establecimiento 1). El efecto de la categoría y/o edad sobre la tasa de preñez obtenida en protocolos de IATF, no está claro. En la literatura se encuentran diferencias a favor de las vacas múltiparas (Kasimanickam *et al.*, 2006; Larson *et al.*,

2006), y otros casos de ausencia de diferencias (Lamb *et al.*, 2001; Saldarriaga *et al.*, 2007). Se puede concluir que bajo las condiciones en que el presente trabajo se realizó, la sustitución del DIV por la MAD-4 en un protocolo de IATF en vacas de carne, disminuyó la tasa de preñez en las vacas primíparas y múltiparas pero no en las nulíparas. Los resultados de preñez con ambas fuentes de P₄ dependieron del estatus ovárico al inicio de los tratamientos, con las vacas ciclando presentando los mayores resultados y las vacas en anestro profundo los peores.

Literatura Citada

- Baruselli, P. S., E. L. Reis, M. O. Marques, L. F. Nasser, and G. A. Bó. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 83: 479.
- Bó G. A., G. P. Adams, R. A. Pierson, and R. J. Mapletoft. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43: 31.
- Busch D. C., D. J. Wilson, D. J. Schafer, N. R. Leitman, J. K. Haden, M. R. Ellersieck, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2007. Comparison of progestin-based estrus synchronization protocols before fixed-time artificial insemination on pregnancy rate in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85: 1933.
- Cavestany D., D. Fernandez, E. Salazar, A. Sanchez, L. Leyton, D. Crespi and A. Meikle. 2008a. Evaluation of slow-release parenteral natural progesterone and its effects in a modified Ovsynch protocol in Holstein dairy heifers. *Reprod. Dom. Animal* 43 (Sup 3):34, 16th International Congress on Animal Reproduction (ICAR). Budapest, Hungria.
- Cavestany D., D. Fernández, E. Salazar, A. Sánchez, L. Leyton y D. Crespi. 2008b. Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay. p. 21.
- Correa Rocha D., A. Beskow, C. M. Mc Manus Pimentel, R. Costa Mattos, e R. Macedo Gregory. 2011. Níveis séricos de progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com MAD4 com diferentes concentrações e vias de administração. *Acta Scientiae Veterinariae* 39: 974.
- De Castro T., L. Valdez, M. Rodríguez, N. Benquet, F. García Lagos, D. Ibarra, and E. Rubianes. 2006. Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anoestrus beef cows. *Anim. Reprod.* 3: 396.
- De Olarte C., D. Cavestany y G. de Nava. 2013. Comparación de dos formulaciones de progesterona en un protocolo de inducción de celos con inseminación a tiempo fijo en vacas de carne en anestro posparto. *Veterinaria (Montevideo)* 49: 4.
- Dejarnette J. M., R. W. Wallace, R. B. House, R. R. Salverson, and C.E. Marshall. 2001. Attenuation of premature estrous behaviour in postpartum beef cows synchronized to estrus using GnRH and PGF_{2α}. *Theriogenology* 56: 493.
- Kasimanickam R., J. C. Collins, J. Wuenschell, J. C. Currin, J. B. Hall, and D. W. Whittier. 2006. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotrophin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. *Theriogenology* 66:166.
- Kolok A. S., D. D. Snow, S. Kohno, M. K. Selling, and L. J. Guillette Jr. 2007. Occurrence and biological effect of exogenous steroids in the Elkhorn River, Nebraska, USA. *Sci. Total Environ.* 388: 104.
- Kolok A. S. and M. K. Selling. 2008. The environmental impact of growth-promoting compounds employed by the United States beef cattle industry: History, current knowledge, and future directions. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 195:1.
- Lamb G. C., J. S. Stevenson, D. J. Kesler, H. A. Garverick, D. R. Brown, and B. E. Salfen. 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.
- Larson J. E., G. C. Lamb, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, T. W. Geary, D. J. Kesler, J. M. Dejarnette, F. N. Schrick, A. Dicostanzo, and J. D. Arseneau. 2006. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F_{2α}, and progesterone. *J. Anim. Sci.* 84: 332.
- Menchaca A., R. Núñez, R. Wijma, C. García Pintos, F. Fabini y T. de Castro. 2013. Cómo mejorar la fertilidad de los tratamientos de IATF en vacas *Bos taurus*. X Simposio Internacional de Reproducción Animal, IRAC, Córdoba, Argentina. pp: 103.
- Pursley J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*; 44: 915.
- Sá Filho O. G., M. Meneghetti, R. F. G. Perez, G. C. Lamb, and J. L. M Vasconcelos. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72: 2010.
- Sá Filho O. G., A.M. Crespilho, J. E. P. Santos, G. A. Perry, and P. S. Baruselli. 2010. Ovarian follicle diameter at time of insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone and progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 120:23.
- Saldarriaga J. P., A. Cooper, J. A. Cartmill, J. F. Zuluaga, R. L. Stanko and G. L. Williams. 2007. Ovarian, hormonal, and reproductive events associated with synchronization of ovulation and time appointment breeding of *Bos indicus*-influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F. *J. Anim. Sci.* 85: 151.

- Stevenson J.S., S.K. Johnson and G.A. Milliken. 2002. Incidence of postpartum anestrus in beef cattle: Treatments to induce estrus, ovulation and conception. The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop, Manhattan, Kansas.
- Vizcarra J. A., W. Ibañez y R. Orcasberro. 1986. Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 7: 45.
- Vittoné J. S., J. F. Aller, G. Otero, C. Scena, R. H. Alberio, y A. Cano. 2011. Destete precoz y desempeño reproductivo en vacas tratadas con progesterona intravaginal. *Arch. Zootech.* 60: 1065.
- Wiltbank M. C., A. Gtimen, and R. Sartori. 2002. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 57: 21.
- Yavas Y. and J. S. Walton. 2000. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology* 54: 1.