

Efecto de diferentes ésteres de estradiol usados para sincronizar la ovulación sobre el porcentaje de preñez post IATF en vaquillonas Angus

Effect of different esters of estradiol used to synchronize ovulation on pregnancy rate to FTAI in Angus heifers

Veiga, P.¹; Montiel, J.²; Chayer, R.³; Uslenghi, G.^{4,5} y Callejas, S.⁵

¹Méd. Vet. Act. Privada. Los Lazos S.A. (Cabaña El Volcán). ²Méd. Vet. Act. Privada. Dinfe S.A. (Cabaña Santo Domingo). ³Méd. Vet. Act. Privada, Integrante de CONPAS; Docente y Tutor Externo. Fac. Cs. Vet. UNCPBA. ⁴Becario Posgrado CONICET. ⁵Docente Área de Reproducción. FISFARVET. Fac. Cs. Vet. UNCPBA.

RESUMEN

Se realizaron 3 ensayos (EI, n: 209; EII, n: 208; y EIII, n: 188) utilizando vaquillonas Angus con el objetivo de evaluar el uso del cipionato de estradiol administrado al retirar un dispositivo intravaginal con progesterona sobre el porcentaje de preñez a la IATF. En el día 0 se colocó un dispositivo intravaginal más benzoato de estradiol. En el día 8 se retiró el dispositivo y se inyectó un agente luteolítico y las vaquillonas fueron distribuidas al azar para recibir cipionato de estradiol en ese momento o benzoato de estradiol 24 horas después. En el día 10, 50-53 h post retiro del dispositivo, se realizó IATF utilizando semen de toros de probada fertilidad (3 en EI, 2 en los EII y EIII) y dos inseminadores. No se observaron efectos del tratamiento (EI: 67,8%; EII: 59,2%; EIII: 58,4%) y del inseminador ($p > 0,05$); no obstante se observó un efecto del toro en EI (B: 47,8%; F: 75,0%; M: 72,0%; $p < 0,05$) y EII (M: 68,8%; ME: 48,5%; $p < 0,05$), no así en EIII (3609: 56,0; M: 60,6%; $p > 0,05$). Se concluye que, el cipionato de estradiol aplicado al retirar un dispositivo con progesterona puede reemplazar al benzoato de estradiol sin afectar el porcentaje de preñez.

Palabras clave: (progesterona), (cipionato de estradiol), (vaquillonas), (IATF), (preñez).

Correspondencia *e-mail*: Santiago Callejas callejas@vet.unicen.edu.ar

Recibido: 20-06-2011

Aceptado: 24-11-2011

SUMMARY

Three experiments were conducted (EI, n: 209; EII, n: 208; y EIII, n: 188) using Angus heifers in order to compare the use of estradiol cypionate (EC) at device removal or estradiol benzoate (EB) 24 h after in a FTAI protocol. On day 0 heifers received a progesterone intravaginal device plus EB. On day 8, the intravaginal device was removed and heifers received a luteolytic dose of PGF. At device removal heifers were randomized to receive either EC at 0 h or EB at 24 h. On day 10, 50-53 h after device removal, fixed timed artificial insemination was performed using frozen/thawed semen of proven fertility (3 bulls for EI and 2 for EII and EIII) and two inseminators. Pregnancy rates were not different between treatments (EI: 67.8%; EII: 59.2%; EIII: 58.4%) or inseminators ($p > 0.05$); however a bull effect was observed in experiments I (B: 47.8%; F: 75.0%; M: 72.0%; $p < 0.05$) and II (M: 68.8%; ME: 48.5%; $p < 0.05$), but not in experiment III (3609: 56.0; M: 60.6%; $p > 0.05$). Interactions were not significant. In conclusion, according to our finding, estradiol cypionate could be used instead of estradiol benzoate to synchronize ovulation without affecting the pregnancy rate at fixed timed artificial insemination.

Key words: (progesterone), (estradiol cypionate), (heifers), (FTAI), (pregnancy).

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es una herramienta que permite mejorar genéticamente los rodeos^{13, 23}. En sus comienzos, se utilizaba en un reducido número de animales y su realización, requería de la detección de celos^{13, 18}. Posteriormente, comenzó a utilizarse una serie de productos hormonales que permiten controlar el momento en que se produce la ovulación, permitiéndose la implementación de programas de IA a tiempo fijo (IATF)^{3, 21}. Estos programas proveen un método organizado para aumentar la utilización de la IA y mejorar la eficiencia reproductiva de los rodeos de carne. Varios protocolos de sincronización de celos han sido desarrollados y aplicados en los programas de manejo reproductivo comerciales²⁷.

El protocolo más utilizado en los últimos tiempos, consiste en insertar un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) en el tracto vaginal durante 7 u 8 días, combinado con benzoato de estradiol (BE) y un agente luteolítico. El dispositivo intravaginal, simula la acción de un cuerpo lúteo de vida media corta. La inyección de BE en el día de inicio del tratamiento, genera la atresia del folículo dominante existente, y el comienzo de una nueva onda de crecimiento folicular^{4, 5, 8}. La aplicación

del agente luteolítico en el día de retiro del DISP genera la lisis del cuerpo lúteo, en caso que esté presente, disminuyendo los niveles plasmáticos de progesterona^{4, 22}. Por último, la segunda inyección de BE, desencadena la conducta de celo y produce el pico preovulatorio de LH, necesario para que ocurra la ovulación. De esta manera, se sincronizan las ovulaciones y se puede realizar la IATF a las 52-56 horas de retirado el dispositivo⁴. Adicionalmente, el tratamiento descrito permite inducir actividad sexual cíclica en animales en anestro²⁸.

Por otra parte, la implementación de estos protocolos requiere que los animales sean encerrados y pasados por la manga al menos cuatro veces. Con el objetivo de disminuir el número de encierres, el estrés de los animales y favorecer la implementación de la IATF a gran escala, es que se comenzó a trabajar para evitar un encierre. En este sentido, se ha utilizado el BE inyectado en el momento de retirar el dispositivo² o la GnRH administrada en el momento de realizar la IATF²⁵; ambos tratamientos sustituyen al BE que se administra a las 24 h de retirado el dispositivo²⁵. Con el BE se ha observado que se adelanta la ovulación y, por lo tanto la IATF debe realizarse a las 48 h; un retraso en la misma (54 h.) ha afectado negativamente la preñez². En

cuanto a la GnRH los resultados son equivalentes al tratamiento tradicional, aunque incrementa el costo del tratamiento²⁵. Por otro lado, se ha difundido en los últimos años el uso del CPE inyectado al momento de retirar el dispositivo con porcentajes de preñez equivalentes a aquellos que se obtienen con el tratamiento de 4 encierres^{24,25}; no obstante, se ha observado que las ovulaciones que se producen luego de administrado el CPE presentan una mayor dispersión²⁹. En consecuencia, surge el objetivo del presente trabajo de evaluar el uso del CPE administrado al retirar un DISP sobre el porcentaje de preñez que se obtiene luego de realizar una IATF.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar, animales, alimentación. El trabajo se realizó en un establecimiento agropecuario ubicado en Olavarría, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Se realizaron 3 ensayos (EI, n: 209; EII, n: 208; y EIII, n: 188) utilizando vaquillonas Angus negras, con 23 a 26 meses de edad. La condición corporal (media \pm desvío estándar) de los animales fue de $5,4 \pm 0,6$ (EI); $5,4 \pm 0,5$ (EII) y $5,1 \pm 0,3$ (EIII) sobre una escala de 1 (excesivamente flaca) a 9 (obesa). Los animales recibieron alimentación pastoril sobre verdeos de avena sin suplementación, teniendo libre acceso al agua.

Tratamientos y servicio. En el día 0 se colocó un dispositivo intravaginal con progesterona (1,9 g de P4, CIDR primer uso en los EI y EII y CIDR de segundo uso en el EIII, Pfizer, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina) previa desinfección de la región perineal/vulvar y de los dispositivos con sus aplicadores, más una inyección intramuscular (im) de 2 mg de benzoato de estradiol (2 ml, BE, Estradiol 10, Laboratorio Rio de Janeiro, Lisandro Olmos, Buenos Aires, Argentina) permaneciendo colocado durante 8 días. Al retirar el dispositivo, se inyectó 12,5 mg de Dinoprost Trometamina (2,5 ml, Lutalyse, Pfizer, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina) y las vaquillonas fueron distribuidas al azar en 2 grupos para recibir 1 mg de CPE (ECP Estradiol, Laboratorio König, Avellaneda, Argentina), im, en ese momento o

1 mg de BE, im, a las 24 horas posteriores. En el día 10, 50-53 h post retiro del dispositivo, se realizó la IATF utilizando semen congelado/descongelado en pajuelas de 0,5 ml provenientes de toros de probada fertilidad: 3 en el EI (B, F y M), y 2 en los EII (M y ME) y EIII (3609 y M). En los 3 ensayos, se utilizaron dos inseminadores.

Diagnóstico de gestación. A los 30 días post IATF, se realizó ultrasonografía transrectal (Aloka 500 SSD, transductor lineal de 5 MHz) del útero para determinar la presencia del embrión y evaluar el porcentaje de preñez a la IATF.

Análisis estadístico. Se evaluó dentro de cada ensayo, los efectos: tratamiento, toro, inseminador y sus interacciones sobre el porcentaje de preñez. Se utilizó el Proc LOGISTIC del SAS, fijando un nivel de confianza del 95 % ($\alpha=0,05$). Seis vaquillonas perdieron el dispositivo intravaginal y fueron excluidas del análisis (EI: 1; E2: 2 y EIII: 3).

RESULTADOS

No se observaron efectos del tratamiento en ninguno de los ensayos, ni del inseminador ($p>0,05$) sobre el porcentaje de preñez a la IATF (Tabla 1); no obstante se observó un efecto del toro en los EI y EII, no así en el EIII ($p<0,05$; Tabla 1). Las interacciones no fueron significativas ($p>0,05$). En el EI, el toro F tuvo 3.28 más chances de preñar que el toro B; y el toro M tuvo 2.85 veces más chances de preñar que el toro B. En el EII, el toro M tuvo 0.66 veces más chances de preñar que el toro ME.

DISCUSIÓN

El principal aporte del presente trabajo, es que se dispone de un protocolo de control del ciclo estral que permite realizar una IATF de manera exitosa, logrando un gran impacto en los sistemas productivos, y además facilitando su implementación, ya que con la utilización del CPE al retiro del dispositivo se evita un encierre y se obtienen porcentajes de preñez similares a los logrados con el tratamiento tradicional¹⁵. Incluso, el costo de la técnica no varía, debido a

Tabla 1. Porcentaje de preñez a la IATF en vaquillonas Angus de 23-26 meses que recibieron CPE o BE al final de un tratamiento con dispositivos intravaginales con progesterona.

Efectos principales	Ensayos:	EI	EII	EIII
Tratamientos				
CPE		66,7 (72/108)	61,5 (64/104)	61,1 (55/90)
BE		69,0 (69/100)	56,9 (58/102)	55,8 (53/95)
Toros	B	47,8 ^a (22/46)	68,8 ^a (75/109) 48,5 ^b (47/97)	56,0 (51/91) 60,6 (57/94)
	F	75,0 ^b (60/80)		
	M	72,0 ^b (59/82)		
	M			
	ME			
	3609			
Inseminadores	T	74,5 (76/102)	61,1 (66/108)	57,0 (57/100)
	A	61,3 (65/106)	57,1 (56/98)	60,0 (51/85)

^{a,b}Valores con superíndices distintos difieren: $p < 0,05$.

que tanto el CPE como el BE son hormonas de bajo costo, en contraposición con lo que ocurre cuando se utiliza GnRH como inductor de la ovulación²⁵.

No se observaron efectos del tratamiento sobre el porcentaje de preñez a la IATF, lo cual coincide con lo informado por otros investigadores^{15,30}. Así, Colazo *et al.* (2003) en un estudio con vaquillonas de 18-20 meses de edad, demostraron que la administración de CPE al retiro o 24 h posteriores son igualmente efectivas que el BE inyectado a las 24 h para sincronizar las ovulaciones, y observaron porcentajes de preñez similares entre los tres tratamientos. Del mismo modo, Uslenghi *et al.* (2010) no observaron diferencias en el porcentaje de preñez a la IATF en vaquillonas de 15 meses, utilizando 0,5 o 1 mg de CPE al retiro, en comparación con la administración de BE 24 h posteriores. Por otro lado, Chesta *et al.* (2009a) trabajando con vaquillonas cruza índicas obtuvieron un 55,5% y 57,4% de preñez cuando utilizaron 0,5 mg y 1 mg de CPE respectivamente. En vaquillonas Holando Argentino de 19 meses de edad, Chesta *et al.* (2009b) obtuvieron 54,4%, 58,8% y 66,3 % de preñez utilizando BE 24 h, 0,5 mg de CPE y 1 mg de CPE al retiro del dispositivo, respectivamente,

sin diferencias significativas entre tratamientos. Adicionalmente, los resultados obtenidos en el presente trabajo (EI: 67,8%; EII: 59,2%; EIII: 58,3%) se encuentran dentro del rango de preñez que cita la bibliografía para la implementación de protocolos de IATF, que es de 23,6% a 74,4%^{5,16}. Incluso, a pesar del amplio margen existente, se lograron resultados que coinciden con los más altos índices de preñez, superiores al promedio (51,3%)⁵ en los tres ensayos. Por consiguiente, la utilización de CPE al retiro de un dispositivo intravaginal, permite disminuir el número de encierres de los animales sin afectar el porcentaje de preñez a la IATF, tanto en vaquillonas de razas carniceras como lecheras.

En vacas con cría, disminuir un encierre es de gran importancia, porque facilita el manejo de los animales, particularmente por la presencia de los terneros. En este sentido, Meneghetti *et al.* (2009) realizaron una serie de experimentos en vacas Nelore con cría, y obtuvieron 50,8% y 51,9% de preñez utilizando CPE al retiro y BE a las 24 h, respectivamente, concluyendo que el CPE puede reemplazar tanto a la GnRH como al BE como inductor de la ovulación sin afectar los porcentajes de preñez en un protocolo para IATF.

La calidad del semen utilizado en los programas de IATF y la habilidad del técnico inseminador son factores muy importantes que determinan el resultado de un programa de sincronización de celos, así lo manifiestan numerosos trabajos^{12, 17, 6, 26, 1}. Si bien la información disponible en este sentido no es amplia, nos permite mencionar que, al igual que otros autores^{14, 19}, se observó un efecto significativo del toro ($p < 0,05$) sobre el porcentaje de preñez a la IATF. Así, en el EI, el toro F tuvo 3.28 más chances de preñar que el toro B; y el toro M tuvo 2.85 veces más chances de preñar que el toro B. En el EII, el toro M tuvo 0.66 veces más chances de preñar que el toro ME. En todos los ensayos realizados fueron utilizados dos inseminadores experimentados. Según lo expuesto por Kaproth *et al.* (2005), la experiencia del técnico inseminador juega un papel preponderante en el resultado. En el presente trabajo no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de preñez logrado por cada inseminador, lo cual concuerda con lo informado por Amirat-Briand *et al.* (2010), sin embargo, estos autores obtuvieron hasta 10 puntos de diferencia numérica en la fertilidad, por lo que expresan la necesidad de realizar más estudios en la temática.

El porcentaje de pérdida de dispositivos intravaginales con progesterona (EI: 0,5%; EII: 1,0% y EIII: 1,6%) se encuentra dentro del rango informado en la bibliografía, que es del 0% al 15,2%^{16, 31, 9}. Colazo *et al.* (2004), obtuvieron en vaquillonas un 1,1% de pérdida de dispositivos, de los cuales, el 86% eran usados. En vacas, informaron 15,2% y 6,9% en dos establecimientos diferentes, pero tanto los dispositivos usados una como dos veces se perdieron en igual proporción. Si bien los porcentajes de pérdidas obtenidos en el presente trabajo son inferiores a los informados por estos autores, siguen en cierta medida el patrón por ellos mencionado. Adicionalmente, en el presente trabajo, el porcentaje de pérdida fue menor al informado por Bridges *et al.*, (1999), quienes tuvieron un 3% de dispositivos perdidos en vacas en condiciones pastoriles, y un 9,3% en vacas en feed-lot.

CONCLUSIONES

Se concluye que en las condiciones del presente trabajo se puede utilizar CPE administrado al retirar un DISP en lugar de BE sin afectar el porcentaje de preñez luego de realizar una IATF.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amirat-Briand, L.; Bencharif, D.; Vera-Munoz, O. et al. *In vivo* fertility of bull semen following cryopreservation with an LDL (low density lipoprotein) extender: Preliminary results of artificial inseminations. *Anim. Reprod. Sci.* 2010; 122: 282-287.
2. Ayres, H.; Martins, CM.; Ferreira, RM. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. *Anim. Reprod. Sci.* 2008; 109: 77-87.
3. Bó, GA.; Adams, GP.; Pierson, RA. and Mapletoft, RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40.
4. Bó, GA.; Baruselli, PS.; Moreno, D.; Cutaia, L.; Caccia, M.; Tríbulo, R. The control of follicular wave development for self appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 2002; 57: 53-72.
5. Bó, GA.; Baruselli, PS.; Martínez, MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2003; 78: 307-326.
6. Bó, G.; Cutaia, L.; Chesta, P. et al. Implementación de Programas de Inseminación Artificial en rodeos de cría de Argentina. En: *Resúmenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal*. Córdoba, Argentina, 24 al 26 de junio de 2005, 97-128.
7. Bridges, PJ.; Lewis, PE.; Wagner, WR. and Inskeep, EK. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. *Theriogenology* 1999; 52: 573-583.
8. Burke, CR.; Mussard, ML.; Gasser, CL.; Grum, DE.; Day, ML. Estradiol benzoate delays new follicular wave

- emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* 2003; 60: 647-658.
9. Callejas, S.; Ochionero, P.; Cledou, G. y González Chavez, S. Control farmacológico del ciclo estral en vacas Holando Argentino en producción utilizando un dispositivo intravaginal con progesterona combinado con benzoato de estradiol o GnRH. *Resúmenes 7mo. Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2007. IRAC. Córdoba. p. 234.
 10. Chesta, P.; Brandan, A.; Cuestas, G.; Quiñones, G.; Lozano, P.; Tríbulo, P. Evaluación de diferentes dosis de cipionato de estradiol sobre la tasa de preñez en inseminación artificial a tiempo fijo en vaquillonas de 15 meses de edad. *VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2009a. IRAC. Córdoba. (En CD: Simposio 2009/Sincronización de celos e inseminación en bovinos/13).
 11. Chesta, P.; Filippi, L.; Ramos, M.; Racca, D.; Bó, G. Evaluación de las tasas de preñez en protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes dosis de cipionato de estradiol en vaquillonas Holando. *VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2009b. IRAC. Córdoba. (En CD: Simposio 2009/Sincronización de celos e inseminación en bovinos/12).
 12. Christensen, P.; Brockhoff, PB. and Lehn-Jensen, H. The relationship between semen quality and the nonreturn rate of bulls. *Reprod. Dom. Anim.* 1999; 34: 503-507.
 13. Cipriano, RS.; Carvalho, BA.; Marangoni, NR.; Nogueira, GP. LH and FSH concentration and follicular development in Nellore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 127: 16-22.
 14. Cledou, G.; Nosetti, L. y Callejas, S. Uso de dos dispositivos intravaginales con progesterona para controlar el ciclo estral en vaquillonas sin cuerpo lúteo al momento de colocar el dispositivo. *Resúmenes VI Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2005. IRAC. Córdoba. Pág. 393.
 15. Colazo, MG.; Kastelic, JP.; Mapletoft, RJ. 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* 2003; 60: 855-65.
 16. Colazo, MG.; Kastelic, JP.; Whittaker, PR.; Gavaga, QA.; Wilde, R.; Mapletoft, RJ. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 81: 25-34.
 17. De Jarnette, J. Impacto del toro, de la calidad seminal y del técnico inseminador sobre las tasas de concepción en rodeos lecheros. En: *Memorias Segundas Jornadas Taurus de Reproducción Bovina*. Buenos Aires, Argentina, 16 y 17 de septiembre de 2004, 54-73.
 18. Dorsey, BR.; Kasimanickam, R.; Whittier, WD.; Nebel, RL.; Wahlberg, ML.; Hall, JB. Effect of time from estrus to AI on pregnancy rates in estrous synchronized beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2011; 127: 1-6.
 19. Huguenine, E.; Chesta, P.; Bó, G. Tasas de preñez en vacas y vaquillonas inseminadas a tiempo fijo en diferentes momentos luego de aplicado una dosis de ECP. *VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2009. IRAC. Córdoba. (En CD: Simposio 2009/Sincronización de celos e inseminación en bovinos/32).
 20. Kaproth, MT.; Rycroft, HE.; Gilbert, GR. et al. Effect of semen thaw method on conception rate in four large commercial dairy heifer herds. *Theriogenology* 2005; 63: 2535-2549.
 21. Lane, EA.; Austin, EJ.; Roche, JF. and Crowe, MA. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. *Theriogenology* 2001a; 55: 1807-1818.
 22. Lane, EA.; Austin, EJ.; Roche, JF. and Crowe, MA. The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotropin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle. *Theriogenology* 2001b; 56: 79-90.

23. Leitman, NR.; Busch, DC.; Mallory, DA. et al. Comparison of long-term CIDR-based protocols to synchronize estrus in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2009; 114: 345-355.
24. Macmillan, KL.; Segwagwe, BVE.; Pino, CS. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2003; 78: 327-344.
25. Meneghetti, M.; Sá Filho, OG.; Peres, RFG.; Lamb, GC.; Vasconcelos, JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 2009; 72: 179-189.
26. Sá Filho, OG.; Meneghetti, M.; Peres, RFG.; Lamb, GC.; Vasconcelos, JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2009; 72: 210-218.
27. Sá Filho, MF.; Crespilho, AM.; Santos, JEP.; Perry, GA.; Baruselli, PS. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2010a; 120: 23-30.
28. Sá Filho, MF.; Ayres, H.; Ferreira, RM. et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology* 2010b; 73: 651-658.
29. Sá Filho, MF.; Sales, JNS.; Baruselli, PS. Atualização dos protocolos de IATF em fêmeas bovinas de corte. *IX Simposio Internacional de Reproducción Animal* 2011. IRAC. Córdoba. Argentina. Págs. 165-189.
30. Uslenghi, G.; Chayer, R. y Callejas, S. Efectividad del cipionato de estradiol inyectado al final de un tratamiento con progesterona sobre la eficiencia reproductiva. *Rev. Veterinaria* 2010; 21 (1): 55-58.
31. Vater, A.; Rodríguez Aguilar, S.; González, M. et al. Efecto de las estructuras ováricas presentes al inicio de un tratamiento de sincronización de celos y del método de conservación del semen sobre el porcentaje de preñez a la IATF en vacas con cría. *XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría* 2006. Págs.148-149.

