

# 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\*

De la Mata J. J.<sup>(1)</sup>, Bó G. A.<sup>(2)</sup>

## Resumen

En este trabajo se comparó la eficiencia en la sincronización de celos y consecuente ovulación de dos tratamientos alternativos. Se utilizaron 28 vaquillonas para carne *Bos taurus*, entre 16 y 17 meses de edad, que fueron divididas al azar en dos grupos. El grupo 1 (BE 6 d; n=14) recibió en el Día 0, 2 mg de benzoato de estradiol (BE) y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. El grupo 2 (GnRH 5 d; n=14) recibió en el Día 1, 10,5 µg de GnRH y un dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. Los dispositivos fueron retirados en ambos grupos en el Día 6 y todas las vaquillonas recibieron 150 µg de D-Cloprostenol (PG). La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se realizó a las 72 hs desde la PG (Día 9) y en el mismo momento se aplicó 10,5 µg de GnRH en todos los animales. Durante el transcurso de estos tratamientos, todas las vaquillonas fueron examinadas mediante ultrasonografía transrectal para observar el desarrollo folicular y la ovulación. El día promedio ( $\pm$  DS) de inicio de la nueva onda folicular ocurrió antes ( $P < 0,05$ ) en las vaquillonas tratadas con GnRH ( $2,1 \pm 1,0$ ) que en las tratadas con BE ( $3,7 \pm 0,9$ ). Sin embargo, la tasa ovulatoria (91,6 vs 92,8 %), el diámetro del folículo ovulatorio ( $11,7 \pm 0,2$  vs  $12,0 \pm 0,5$  mm), el intervalo desde la PG hasta la ovulación ( $97,1 \pm 17,4$  vs  $95,1 \pm 12,5$  hs) y el porcentaje de concepción (50,0 vs 57,1 %) no difirieron significativamente ( $P > 0,05$ ) entre los grupos. En conclusión, ambos tratamientos demostraron ser eficientes para la sincronización de la ovulación de vaquillonas para carne en programas de IATF.

**Palabras clave:** GnRH; benzoato de estradiol; dispositivo con progesterona; tratamiento corto; IATF.

**Estrus synchronization and ovulation using protocols with estradiol benzoate and GnRH and reduced periods of insertion of a progesterone releasing device in beef heifers**

## Summary

This study compared the efficiency in the estrus synchronization and ovulation of two alternative treatments. *Bos Taurus* beef heifers (n=28) that were between 16 to 17 months of age were randomly allocated into one of two groups. On Day 0, heifers in Group 1 (EB 6 d; n=14) received 2 mg of estradiol benzoate (EB) and an intravaginal device with 0.6 g of progesterone. Heifers in Group 2 (GnRH 5 d; n=14), received 10.5 µg of GnRH an intravaginal device with 0.6 g of progesterone on Day 1. On Day 6, progesterone device was removed and heifers in both groups received 150 µg of D-cloprostenol (PG) at the same time. Fixed-time artificial insemination (FTAI)

(1) Médico Veterinario, Especialista en Reproducción Bovina, U. Nacional de Córdoba e IRAC, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. javide-lamata@gmail.com

(2) Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC), Paraje Pozo del Tigre, Zona Rural General Paz, (5145) Córdoba, Argentina. gabrielbo@irachiogen.com.ar

\* Trabajo Final de la Especialización en Reproducción Bovina, IRAC-UNC.

Recibido: 25 de marzo de 2012.

Aceptado: 21 de agosto de 2012.

Taurus Año 14 N° 55: 17 a 23

was performed 72 h after PG (Day 9) and all heifers received 10,5 µg of GnRH at the same time. During the study, ovaries of the heifers were monitored by means of transrectal ultrasonography to evaluate follicular development and ovulation. The mean (±SD) day of wave emergence was earlier ( $P < 0.05$ ) in heifers in the GnRH 5 d group ( $2.1 \pm 1.0$ ) than in those in the EB 6 d group ( $3.7 \pm 0.9$ ). However, the ovulatory rate ( $91.6$  vs  $92.8$  %), the size of ovulatory follicles ( $11.7 \pm 0.2$  vs  $12.0 \pm 0.5$  mm), the interval from PG to ovulation ( $97.1 \pm 17.4$  vs  $95.1 \pm 12.5$  h) and the conception rate ( $50.0$  vs  $57.1$  %) did not differ between groups ( $P > 0.05$ ). In conclusion, both treatments were equally efficient in synchronizing ovulation for FTAI programs in beef heifers.

**Key words:** GnRH; estradiol benzoate; progesterone device; short treatment; FTAI.

## Introducción

En los últimos años se ha avanzado en el desarrollo de tratamientos para inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), basados en la utilización de distintas sales de estradiol y progestágenos para la sincronización de celos en rodeos bovinos<sup>(1,2,3,4,8,13)</sup>. En la Argentina, estos son los protocolos elegidos por técnicos y médicos veterinarios con los que se alcanzan tasas efectivas de preñez de alrededor del 50%<sup>(10)</sup>.

Hace más de dos décadas que se comenzaron a utilizar agonistas de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), tanto para modificar la dinámica folicular como la función luteal<sup>(19)</sup>. La introducción de protocolos Ovsynch en programas para IATF<sup>(16,20)</sup> y sus modificaciones, como el Co-Synch<sup>(11)</sup>, son una alternativa al uso de estrógenos y progestágenos para sincronización, tanto de rodeos lecheros como para carne. Una reciente modificación en el tratamiento Co-Synch, el Co-Synch+CIDR por 5 días con IATF a las 72 hs, incrementó la tasa de preñez (+10,5%) cuando se lo comparó con tratamientos de Co-Synch+CIDR por 7 días con IATF a las 60 hs en vacas para carne<sup>(5)</sup>. Este tratamiento Co-Synch+CIDR 5, ha tenido como propósito disminuir el periodo de crecimiento del folículo dominante ovulatorio y prolongar la duración del proestro. Para el caso de estos tratamientos de sincronización, se define al proestro como el período comprendido entre la administración de la prostaglandina (PG) hasta la aplicación de GnRH como inductor de la ovulación. Se ha reportado que con este nuevo protocolo Co-Synch de 5 días con IATF a las 72 hs, se han alcanzado tasas de concepción de aproximadamente 60 % en vaquillonas Holstein<sup>(18)</sup> y porcentajes superiores en animales para carne<sup>(5)</sup>. Bridges y col.<sup>(6)</sup> también reportaron que la prolongación del proestro de 2 a 4 días se relaciona con mejores tasas de concepción a la IATF, con mayores concentraciones plasmáticas de estradiol provenientes del folículo dominan-

te (FD) y de progesterona luteal en el ciclo subsiguiente, en comparación con el proestro de corta duración (1 día).

El objetivo de este trabajo fue comparar la efectividad del protocolo Co-Synch por 5 días con un protocolo alternativo utilizando BE y un dispositivo con progesterona por 6 días sobre la tasa y sincronía de la ovulación en vaquillonas para carne.

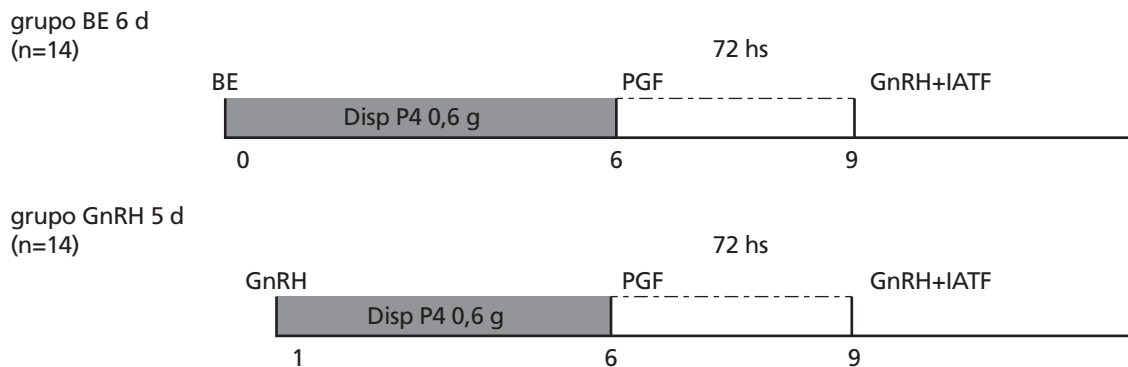
## Materiales y Métodos

### Animales y tratamientos

Este ensayo se llevó a cabo en el establecimiento "Santa Elena", localizado en el departamento Conhelo, Winifreda, La Pampa. Se utilizaron 28 vaquillonas *Bos taurus* de razas para carne, de 16 a 17 meses de edad, con un peso de entre 275 y 335 kg (media: 306,4 kg) y con una condición corporal de 5 a 7 (media: 6,1; escala 1 al 9). Los animales pastorearon en campo natural y desde el inicio del estudio fueron alimentados en potreros con alfalfa y otras especies naturales de la zona.

Las vaquillonas fueron seleccionadas de un grupo mayor teniendo en cuenta su peso ( $\geq 270$  kg de peso vivo), ciclicidad (presencia de un cuerpo lúteo (CL) o folículo  $> 10$  mm de diámetro en sus ovarios (detectado por medio de ultrasonografía) y desarrollo del tracto genital ( $> 1,5$  mm de diámetro estimados por palpación y ultrasonografía uterina).

Las vaquillonas fueron aleatoriamente divididas en dos grupos: Grupo 1 (BE 6 d;  $n=14$ ) y Grupo 2 (GnRH 5 d;  $n=14$ ). Los tratamientos se observan en la Figura 1. Brevemente, a los animales del grupo BE 6 d se les colocó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (Emefur 0,6 g, monouso, Merial Argentina SA) y se les administró 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Syntex SA) por vía intramuscular (IM) (Día 0). En el Día 1, las vaquillonas pertenecientes al grupo GnRH 5 d recibieron un dispositivo con progesterona junto con la administración de 10,5 µg de GnRH (acetato de



**Figura 1.** Tratamientos utilizados. BE: 2 mg de BE IM. Disp P4 0,6 g: dispositivo intravaginal con 0,6 g de progesterona. GnRH: 10,5 µg de buserelina. IATF= inseminación artificial a tiempo fijo.

buserelina, Rosenbusch, Argentina) por vía IM.

En el Día 6 todas las vaquillonas se inyectaron con 150 µg de D-cloprostenol (PG) por vía IM (Emefur Prostaglandina, Merial Argentina SA), se retiraron los dispositivos y se pintaron las bases de las colas con pintura (PaintStik, LA-CO industries, Inc, EEUU) como método de ayuda para la detección visual de celos. En el Día 9 (72 hs posteriores a la PG) las vaquillonas de ambos grupos recibieron 10,5 µg de GnRH, como inductor de ovulación, por vía IM.

### Ultrasonografía ovárica

Todas la vaquillonas fueron examinadas por medio de ultrasonografía transrectal (Chison 500, modo B, transductor lineal 5 MHz) para evaluar la dinámica folicular. Ambos ovarios fueron examinados diariamente desde el Día 0 hasta el Día 8, para luego intensificar las observaciones cada 12 hs a partir del Día 9 hasta la ovulación. Se realizó un mapeo de ambos ovarios en cada vaquillona y se evaluó la emergencia de la onda de desarrollo folicular, la formación de CL, la formación del CL accesorio, la regresión luteal y la ovulación. Se tomaron dos medidas (alto y ancho) de cada estructura (CL o foliculo) y se promediaron. La ovulación se interpretó como la desaparición de un foliculo dominante previamente observado por medio de ultrasonografía durante los días del ensayo.

### Detección de celos

Los celos fueron observados visualmente en el momento previo a la ecografía. Las detecciones comenzaron 24 hs después del retiro del dispositivo intravaginal, una vez por la mañana y una vez por la tarde (Días 7, 8 y 9).

### Inseminación Artificial y diagnóstico de gestación

Las vaquillonas de ambos grupos fueron IATF en el momento de la aplicación de la GnRH en el Día 9. Para la IATF se utilizó semen congelado/descongelado de un solo toro y fueron inseminadas por un mismo técnico. El diagnóstico de gestación fue realizado por medio de ultrasonografía a los 30 días pos IATF.

### Análisis Estadístico

Para comparar el efecto de los tratamientos sobre el diámetro del foliculo dominante ovulatorio, momento de inicio de la nueva onda folicular y momento de ovulación se utilizó el test t de Student. La sincronía del comienzo de la onda folicular ovulatoria y el momento de la ovulación fueron evaluados mediante el test de homogeneidad de varianzas de Bartlett. Para analizar el efecto de los tratamientos sobre la tasa de crecimiento del foliculo dominante se utilizó ANOVA para modelos mixtos. Para analizar las tasas de ovulación y preñez se utilizó Chi-cuadrado. Para todos los análisis se utilizó el software Infostat (Universidad Nacional de Córdoba). El nivel de significancia estadística fue de 0,05.

### Resultados

Dos vaquillonas del grupo BE 6 d fueron descartadas al segundo día de la evaluación por lesiones, aunque al final del tratamiento fueron inseminadas con el resto de las vaquillonas, por lo tanto estas vaquillonas fueron sólo consideradas en la evaluación de la tasa de preñez. La tasa de ovulación posterior a la primera dosis de GnRH para el grupo GnRH 5 d fue del 50,0% (7/14) y esos animales comenzaron una nueva onda de desarrollo

folicular  $1,6 \pm 0,2$  días después. Las vaquillonas que no ovularon a la primera GnRH tuvieron un inicio de onda folicular con un rango que varió entre 1 y 4,5 días (Tabla 1).

**Tabla 1.** Inicio de onda folicular, diámetro máximo del foliculo dominante ovulatorio (FD OV) (Media  $\pm$  DS) y % de ovulación para los tratamientos BE 6 d y GnRH 5 d en vaquillonas de 16 a 17 meses de edad.

	BE 6 d (n=12)	GnRH 5 d (n=14)
<b>Inicio de onda (días)</b>	$3,7 \pm 0,9^a$	$2,1 \pm 1,0^b$
Rango	2 - 5 <sup>a</sup>	1 - 4,5 <sup>b</sup>
<b>Diámetro FD OV (mm)</b>	$11,7 \pm 0,2$	$12,0 \pm 0,4$
Rango	11 - 13,5	9,5 - 16
<b>Ovulación (%)</b>	91,6 (11/12)	92,8 (13/14)
<b>Intervalo retiro P4-ovulación (hs)</b>	91,6 (11/12)	$95,1 \pm 12,4$

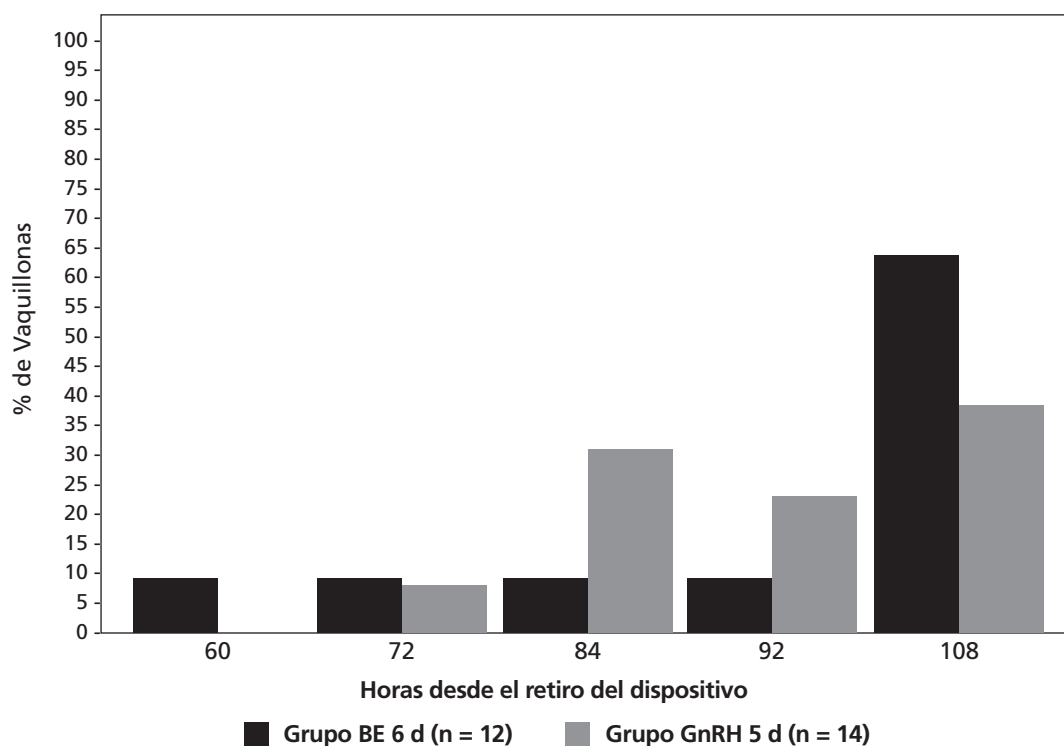
a,b diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

En el grupo BE 6 d, 11 vaquillonas (91,6%) iniciaron una nueva onda de desarrollo folicular entre 2 a 5 días posteriores a la administración de BE, de las cuales, cinco animales comenzaron la onda en el Día 4. Cuando se compararon ambos grupos,

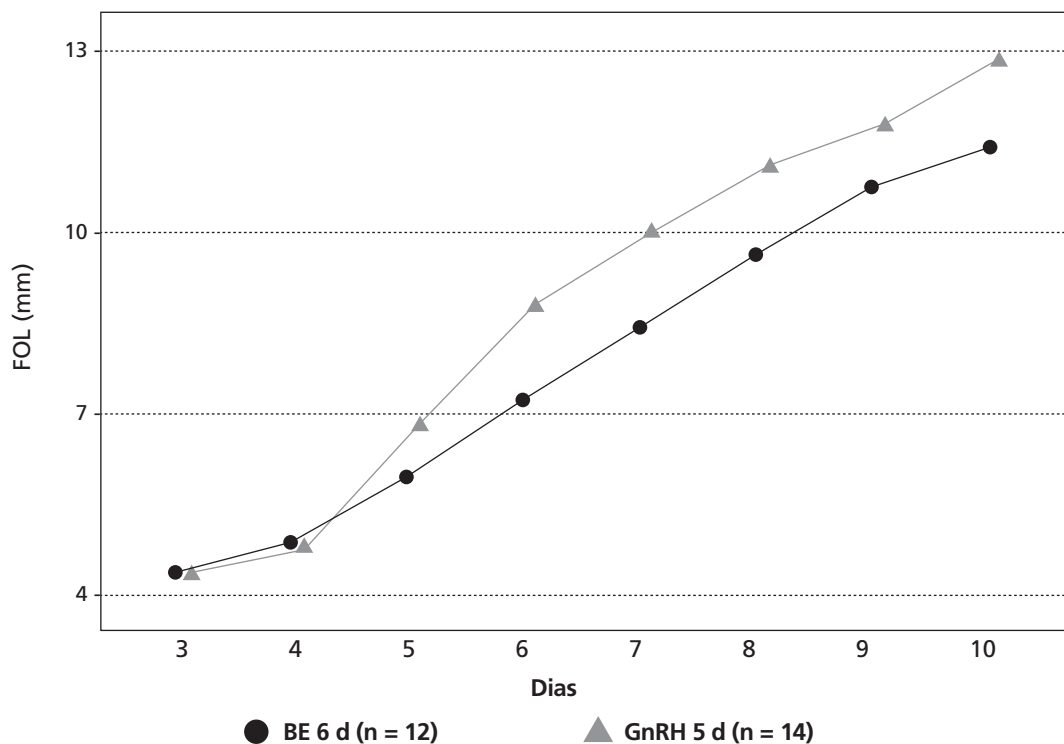
hubo una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) en el momento y la sincronía del inicio de la nueva onda folicular, siendo en el tratamiento BE 6 d más sincrónico que el grupo GnRH ( $P < 0,05$ ; Tabla 1). No se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en el tamaño máximo del foliculo dominante ovulatorio ni en la tasa de ovulación entre los grupos (Tabla 1). Los tratamientos no afectaron ( $P > 0,05$ ) el intervalo promedio desde la remoción del dispositivo hasta la ovulación (Tabla 1) y la distribución de la ovulación (Figura 2). Sólo ocho (57,1%) animales del grupo GnRH 5 d y seis del grupo del BE 6 d (42,9%) fueron observados en celo.

Para poder comparar el crecimiento del foliculo dominante entre los tratamientos se graficó la curva a partir del momento de la emergencia folicular. En el patrón de crecimiento del foliculo dominante se encontró un efecto significativo de día ( $P < 0,01$ ), pero no hubo un efecto tratamiento o interacción día por tratamiento ( $P > 0,2$ ; Figura 3). Considerando sólo los animales con una nueva onda folicular no hubo diferencias entre los grupos en el intervalo desde el comienzo de la onda folicular hasta la ovulación ( $6,3 \pm 0,8$  días para el grupo BE 6 d y  $6,6 \pm 0,6$  días para el grupo GnRH 5 d;  $P > 0,05$ ).

En el grupo GnRH 5 d, las vaquillonas que ovu-



**Figura 2.** Distribución de las ovulaciones en vaquillonas de 16-17 meses tratadas con BE 6 d y GnRH 5 d desde la remoción del dispositivo intravaginal hasta el momento de ovulación. No hubo diferencias entre los grupos ( $P > 0,1$ ).



**Figura 3.** Patrón medio de desarrollo del folículo dominante ovulatorio en vaquillonas de 16-17 meses tratadas con BE 6 d (círculo) y GnRH 5 d (triángulo). Los patrones no difieren entre los grupos ( $P > 0,1$ ).

laron a la primera dosis de GnRH tuvieron un diámetro folicular promedio numéricamente mayor (no significativo) que las que no ovularon a la primera GnRH ( $12,2 \pm 0,3$  y  $11,8 \pm 1,0$  mm respectivamente;  $P > 0,05$ ). De las 7 vaquillonas que ovularon después de la primera GnRH, todas ovularon después de la segunda GnRH, mientras que 6 de las 7 vaquillonas que no ovularon a la primera GnRH ovularon a la segunda GnRH.

Las tasas de concepción a los 30 días de la IATF no difirieron ( $P > 0,05$ ) entre grupos. Para BE 6 d fue del 50,0% (7/14) mientras que para GnRH 5 d fue del 57,1% (8/14). De las vaquillonas que manifestaron celo, 7 de 8 vaquillonas del tratamiento GnRH 5 d y 5 de 6 vaquillonas del tratamiento BE 6 d ( $P > 0,05$ ) fueron diagnosticadas preñadas a los 30 días. Sin tener en cuenta los grupos, hubo una mayor ( $P < 0,01$ ) proporción de vaquillonas que fueron observadas en celo que resultaron preñadas (12/14, 85,7%) que las que no fueron observadas en celo (3/14, 21,4 %).

## Discusión

Este trabajo fue diseñado para comparar dos tratamientos para IATF y evaluar su eficacia en la sincronización de la ovulación. Ambos protocolos demostraron ser efectivos en vaquillonas para

carne de 16 a 17 meses de edad.

Trabajos previos determinaron que con el uso de BE por vía IM y progesterona en el dispositivo intravaginal se induce la regresión del folículo dominante presente, iniciando una nueva onda de desarrollo folicular aproximadamente 4 días más tarde<sup>(8,13)</sup>. En el presente ensayo, las vaquillonas que recibieron el tratamiento BE 6 d iniciaron la nueva onda folicular en un rango de 2 a 5 días, con una mayor cantidad de animales iniciando en el Día 4. Estos resultados son similares a los reportados por Moreno y col.<sup>(13)</sup> para vacas que no recibieron una inyección IM de 50 mg de progesterona junto con la administración de BE.

En el grupo GnRH 5 d, sólo el 50% de las vaquillonas ovularon a la primera dosis de GnRH. Estos resultados no difieren de trabajos anteriores realizados en vaquillonas, en los que se lograron similares porcentajes<sup>(12)</sup>.

Bridges y col.<sup>(7)</sup> reportaron que con el protocolo Co-Synch con CIDR por 5 días en vacas para carne, fue necesario administrar dos dosis de PG con un intervalo de 12 hs, para producir luteólisis del CL accesorio generado por la ovulación a la primera dosis de GnRH. Sin embargo, una sola dosis de PG fue suficiente en vaquillonas lecheras<sup>(18)</sup>.

Como en este último trabajo, en el presente estudio se optó por aplicar una sola dosis de PG al Grupo GnRH 5 d y para evaluar la regresión luteal se utilizó la técnica de ultrasonografía. Esta tiene limitaciones con respecto a otros métodos, como la medición de progesterona para evaluar eficientemente la regresión luteal, pero la alta tasa ovulatoria encontrada en el Grupo GnRH 5 d indicaría que por lo menos no habría suficientes concentraciones plasmáticas de progesterona como para bloquear el pico preovulatorio de LH. Debido a esto, deberían realizarse más estudios para determinar eficientemente la funcionalidad de estos CL en proceso de regresión y su consecuente secreción de progesterona.

La madurez folicular ha sido relacionada tradicionalmente con tamaño folicular. Tal es así que la inducción de la ovulación con GnRH de folículos  $\leq 11$  mm, resultó en una baja tasa de preñez e incremento de la mortalidad embrionaria/fetal temprana <sup>(15)</sup>. Esta disminución se asocia a una baja concentración de estradiol en el día de la inseminación artificial y baja concentración de progesterona después de la inseminación, excepto en folículos ovulatorios que ovulan espontáneamente <sup>(15)</sup>. La ovulación de un folículo dominante prematuro inducida con GnRH redujo el tamaño del folículo ovulatorio, la fertilidad y la función luteal <sup>(14)</sup>. Recientemente se sugirió que la madurez folicular asociada a la fertilidad en ganado bovino es multifactorial y no está predeterminada por una sola característica <sup>(6)</sup>. La acumulación de efectos como la duración del proestro, la producción de estradiol durante el proestro, el diámetro folicular, la edad folicular y la producción de progesterona por el CL resultante, serían parte de los factores involucrados <sup>(6)</sup>. También se demostró que vacas sometidas a tratamientos Co-Synch+CIDR de 5 días, que no responden a la primera dosis de GnRH, producen un más alto pico de estradiol a partir del folículo dominante, resultando en mayores concentraciones de progesterona durante la fase luteal <sup>(7)</sup>. Al analizar los datos de los Grupos BE 6 d y GnRH 5, no se observaron diferencias significativas en el diámetro del folículo ovulatorio, ni en la edad folicular ni en el momento de la ovulación ( $P>0,05$ ) y en ambos grupos se indujo un proestro prolongado (Figura 3).

En el trabajo de Bridges y col. <sup>(6)</sup>, mencionado en líneas anteriores, se informó que un proestro largo (2,2 días) tendría más posibilidades de lograr

preñez en comparación con un proestro de corta duración (1,2 días). Las tasas de preñez fueron mayores ( $P>0,01$ ) con un proestro largo (50%) comparadas con un proestro corto (2,6%). Sin embargo, otros autores <sup>(21)</sup> sostienen que el efecto de prolongar el proestro no sólo favorece la tasa de concepción del protocolo Co-Synch+CIDR de 5 días con IATF a las 72 hs, sino que también produciría el mismo efecto con el protocolo Co-Synch+CIDR de 7 días con IATF a las 66 hs, ya que en este trabajo no existieron diferencias significativas cuando se compararon las tasas de preñez de ambos tratamientos. Resultados similares a los de Wilson y col. <sup>(21)</sup> han sido recientemente reportados por Colazo y col. <sup>(9)</sup>. Sin embargo, en este último trabajo se encontró una correlación significativa entre el largo del proestro y la tasa de concepción. Si bien el presente ensayo no tuvo como objetivo determinar el efecto de los tratamientos sobre el porcentaje de preñez, es destacable que las tasas de preñez logradas fueron aceptables (BE 6 d 50,0%, GnRH 5 d 57,1%;  $P>0,05$ ) y más aún, considerando el grado de estrés al que fueron sometidas las vaquillonas al ser evaluadas diariamente mediante ultrasonografía. Hasta el momento, registros de campo de los autores han encontrado una tasa promedio de preñez de 55,2 % con el tratamiento BE 6 d sobre un total de 500 vaquillonas para carne. Si bien estos últimos datos de preñez hay que tomarlos con cautela, ya que no se hicieron comparaciones contemporáneas con otros tratamientos utilizados para IATF, los resultados son promisorios. Por lo tanto, es necesario realizar en el futuro trabajos de campo con un número importante de animales para determinar las tasas de preñez y poder ajustar el momento de la IATF de estos tratamientos en rodeos productores de carne.

En conclusión, ambos tratamientos demostraron ser eficientes para la sincronización de ovulaciones en programas de IATF en vaquillonas para carne. Aunque el objetivo del presente trabajo no fue evaluar las tasas de preñez, ambos protocolos resultaron en aceptables tasas de preñez.

## Agradecimientos

Agradecimientos especiales al Ing. Agr. Bruno Andreotti por su colaboración durante el estudio, a Comercial Calfucurá S.A. por el apoyo, asistencia y provisión de hormonas y al Instituto de Reproducción Animal Córdoba por su colaboración.

Este trabajo fue realizado para cumplimentar con los requisitos de graduación de la Especialización en Reproducción Bovina, dictada por el IRAC y la Universidad Nacional de Córdoba (UNC).

## Bibliografía

1. Bó, G. A., Adams, G.P., Caccia, M., Martinez, M., Pierson, R.A., Mapletoft, R.J. 1995a. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. *Anim Reprod Sci* 39: 193-204.
2. Bó, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A., Tribulo, H.E., Caccia, M., Mapletoft, R.J. .1995b. Follicular wave dynamics after estradiol-17 $\beta$  treatment of heifers with or without a progesterone implant. *Theriogenology* 41: 1555-1569.
3. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. 2002a. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. *Primera Parte. Taurus*; 14: 10-21.
4. Bó, G.A., Cutaia, L., Tribulo, R. 2002b. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. *Segunda Parte. Taurus*; 15:17-32.
5. Bridges, G.A., Hesler, L. A., Grum, D.E., Mussard, M.L., Gasser, C.L., Day, M.L. 2008. Decreasing the interval between GnRH and PGF $_{2\alpha}$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69: 843-851.
6. Bridges, G.A., Mussard, M.L., Burke, C.R., Day, M.L. 2010. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci* 117: 208-215.
7. Bridges G.A., Mussard, M.L., Hesler, L.A., Day, M.L.2009. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7 and 5 d CO-Synch + CIDR program in two-year-old beef cows. *J Anim Sci* 87(E-Suppl.): 464.
8. Caccia M., Bó, G.A. 1998. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 49: 341. (abstract).
9. Colazo M.G., Ambrose D.J. 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.
10. Cutaia L., Veneranda, G., Tribulo, R., Baruselli, P.S., Bó, G.A.2003. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo: Análisis de factores que afectan los resultados. *Resúmenes de V Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina. pp. 119 - 132.*
11. Geary, T.W., Whittier, J.C., Hallford, D.M., MacNeil, M.D. 2001. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. *J Anim Sci* 79:1-4.
12. Martinez M.F., Adams, G.P., Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Mapletoft, R.J. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54: 757-769.
13. Moreno, D., Cutaia, L., Villata, L., Ortisi, F., Bó, G.A. 2001. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. *Theriogenology* 55: 408.(abstract).
14. Mussard, M.L., Burke, C.R., Behlke, E.J., Gasser, C.L., Day, M.L.2007. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. *J Anim Sci.* 85: 937-943.
15. Perry, G.A., Smith, M., Lucy, M.C., Green, J.A., Parks, T.E., MacNeil, M.D., Roberts, A.J., Geary, T.W. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102: 5268-73.
16. Pursley, J.R., Mee, M.O., Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $_{2\alpha}$  and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923.
17. Rabaglino, M.B., Risco, C., Santos, J.E., Thatcher, W.W. 2009. Estrategias de manejo para optimizar la eficiencia reproductiva en vaquillonas lecheras de reemplazo. *CD Resúmenes de VIII Simposio Internacional de Reproducción Bovina, 10 a 12 de Julio, Pabellón Argentino, Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.*
18. Rabaglino, M.B., Risco, C., Thatcher, M.J., Kim, I.H., Santos, J.E, Thatcher, W.W.2010. Application of one injection of prostaglandin F(2alpha) in the five-day Co-Synch + CIDR protocol for estrous synchronization and resynchronization of dairy heifers. *J Dairy Sci.* 93: 1050-1058.
19. Thatcher, W.W., Macmillan, K.L., Hansen, P.J. Drost, M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology* 31: 149-164.
20. Twagiramungu, H., Guilbault, L., Dufour, J.J.1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J Anim Sci.* 73: 3141-51.
21. Wilson, D.J., Mallory, D., Busch, D.C., Leitman, N.R., Haden, J.K., Schafer, D.J., Eilersieck, M.R., Smith, M.F., Patterson, D.J. 2010. Comparison of short-term progestin-based protocols to synchronize estrus and ovulation in postpartum beef cows. *J Anim Sci.* 88: 2045-2054.