

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIONES

Pablo Javier Bussi. M.V. - UNRC - Actividad Privada.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es la técnica más importante desarrollada para el mejoramiento genético de animales (27), un grupo de machos estrictamente seleccionados y genéticamente superiores al producir gran cantidad de espermatozoides son suficientes para inseminar miles de hembras por año.

El gran desarrollo genético logrado en ganado lechero se debe al uso masivo por medio de IA de toros cuidadosamente seleccionados a través de las pruebas de progenie.

En ganado de carne el desarrollo de la IA ha sido más lento debido a las limitantes de personal entrenado, instalaciones, etc.

ALMACENAMIENTO DEL SEMEN

El factor clave para la preservación de las gametas por largo tiempo es la baja temperatura (27). En el caso del semen, la temperatura de conservación debe mantenerse por debajo de -130°C para conservar el máximo de fertilidad. Cuando se expone a temperatura ambiente, la temperatura del semen aumenta rápidamente, debido a la relación volumen-superficie de la dosis, siendo las pajuelas muy susceptibles a estos cambios de temperatura.

Almacenar las pajuelas en gobelets plásticos reduce el rango de cambio de temperatura, siendo importante para minimizar estos cambios mantener los gobelets con nitrógeno líquido (N_2) durante la manipulación de las pajuelas.

Si la temperatura del semen supera los -130°C , los espermatozoides comenzarán a sufrir daño irreversible, debido al proceso de recristalización.

DESCONGELACIÓN DEL SEMEN

Barth et al, evaluó distintos métodos de descongelación de semen, utilizando para ello semen congelado con distintos medios en ampollas de 1 ml y pajuelas de 0,5 ml. Los resultados mostraron que el baño a 35°C fue el mejor método para ambos tipos de congelación. También comparó distintos tiempos de exposición a esta temperatura, comprobando que el semen después de una exposición de 12 segundos a 37°C , solamente alcanzaba 0°C , lo que provocaba shock térmico y pérdidas de motilidad, actividad metabólica, capacidad fertilizante y lesión de la membrana plasmática. Barth concluyó que la exposición de 30 segundos a 35°C le permitía al semen alcanzar la temperatura de 30°C y no sufrir shock térmico.

En otro experimento Senger et al (22) descongelaron pajuelas de 0,5 ml a dos temperaturas diferentes (5 y 35°) para luego exponerlas a diferentes temperaturas, imitando las distintas posibilidades de temperatura ambiente, entre 1°C , 20°C y 37°C . Los mejores resultados, expresados en motilidad espermática e integridad de acrosoma fue con 35°C y luego mantenidos entre 20°C y 37°C .

Sobre la base de estos trabajos se puede concluir que la metodología ideal para descongelar pajuelas es en agua a $35-37^{\circ}\text{C}$ durante 30 segundos; en caso de utilizar pastillas el tiempo de descongelación se lleva a 1 minuto.

CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

El porcentaje de preñez puede verse afectado por la cantidad de espermatozoides por dosis. En un experimento Sullivan (43) mostró que los toros responden de diferentes maneras a los cambios de concentración espermática. Dividió los toros en grupos por nivel de fertilidad de acuerdo al porcentaje de no retorno: bajo 72,6%; medio 75,4% y alto 77,9%. Cuando aumentó progresivamente la concentración espermática de 5 a 10 millones hubo un beneficio en los grupos de toros de menor fertilidad, pero no se pudo explicar porqué disminuyó el porcentaje de no retorno en los toros del grupo de mayor fertilidad.

Al descongelado la dosis de semen debe contener al menos 10 millones de espermatozoides móviles, los toros con fertilidad menor al promedio se beneficiarían si se aumenta la concentración a 15 millones o más por dosis (27).

SITIO DE DEPOSICIÓN DEL SEMEN

El proceso de transporte espermático en el tracto reproductivo de la hembra consta de dos fases, una rápida y otra prolongada (27). En la rápida, los mecanismos fisiológicos del tracto femenino transportan los espermatozoides hasta el oviducto sin la participación activa de estos. Durante la fase prolongada los espermatozoides pueden permanecer hasta 18 horas en la región caudal del istmo del oviducto para alcanzar el sitio de fertilización cerca de la unión del istmo con la ampulla (27). Suga y Higaki (44) en un experimento depositaron 300 millones de espermatozoides en el cuerpo del útero de vacas lecheras, luego recogieron los tractos reproductivos completos en matadero para verificar la distribución de los espermatozoides, los resultados mostraron que entre 30 y 60 minutos después de la IA la mayoría de los espermatozoides fueron recuperados de la vagina y cervix y sólo unos cuantos fueron recuperados del útero. En otro experimento Larsson y Larsson (29) dos horas después de depositar semen en el cuerpo del útero recuperaron el 14,6% del semen total y de ese 14,6% el 98,5% estaba en vagina y cervix. A las 12 horas post IA recuperaron el 0,6% de lo inseminado, de esto el 73,7% estaba en vagina y cervix. Dobrowolski y Hafez (21) depositaron 2.000 millones de espermatozoides en vacas Hereford y realizaron necropsia a las vacas 1, 8 o 24 horas posteriores a la IA. Del total de espermatozoides depositados en el cuerpo del útero, sólo el 13,4% se recuperó 1 hora más tarde, el 3,8% a las 8 horas y el 0,9% a las 24 horas en el útero (27). Si una dosis de semen para IA contiene entre 10 y 30 millones de espermatozoides, luego de 24 horas de la IA en útero encontraremos entre 10.000 y 100.000 espermatozoides (27).

Se cree que los espermatozoides que son transportados rápidamente a los oviductos después de la IA no están involucrados en la fertilización. Los resultados de un trabajo de Wilmut (46) mostraron que los espermatozoides que entran al oviducto rápido después del servicio no permanecen en el mismo, o si está presente en el momento de la ovulación, no son capaces de fertilizar el ovocito.

Estos resultados demuestran que los espermatozoides capaces de fertilizar alcanzan el oviducto cerca de 8 horas después del servicio y son almacenados en el istmo del oviducto por 18 horas o más hasta el momento de la ovulación (27).

Senger (41) y Davos (20) en distintos experimentos reportaron mejoras en la fertilidad cuando se realizó siembra de semen en ambos cuernos, sin embargo Marshall (32) mostró un leve efecto negativo con esta metodología. Larsson (28) demostró la migración transuterina después de la IA en vaquillonas recuperando espermatozoides en el cuerno uterino opuesto al que se había realizado la siembra, siendo capaces de fertilizar ovocitos de ambos ovarios.

Gallager y Senger (25) demostraron que no existen diferencias en la eliminación de espermatozoides cuando la siembra se realiza en cuernos o en el cuerpo del útero, pero sí hay diferencias cuando se toman las mismas muestras comparando siembra en los cuernos y cervix.

Otro factor importante es el momento de IA. En un experimento Macmillan y Watson (31) inseminaron un grupo de vacas durante el comienzo, la mitad, el final y después del estro con semen de toros cuyos porcentajes de fertilidad eran: inferiores al promedio, dentro del promedio o sobre el promedio. Los resultados demostraron que la fertilidad del semen de toros con baja fertilidad puede ser mejorada retrasando el momento de la IA hasta después del final del estro, pero siempre varias horas antes de la ovulación.

SINCRONIZACIÓN DE CELOS Y OVULACIONES

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN RODEOS LECHEROS

Servicio Programado - Programmed Breeding

Servicio programado es todo aquel método que permite planificar y controlar un programa de inseminación de vacas en lactancia. Las vacas ciclan normalmente entre 17 y 24 días (1) y por lo general no están sincronizadas entre sí. El servicio programado nos permite formar grupos de inseminación homogéneos.

Ventajas de programar ciclos estrales:

- √ Programar tareas.
- √ Manejo del estro, ovulación o ambos.
- √ Conocimiento del estadio del ciclo estral y estado reproductivo de las vacas.

⌘ Grupos de servicio - Breeding Clusters

Organización de grupos de vacas para servicio programado (24,45). Considerando el período de espera voluntario (PEV) se pueden organizar grupos sincronizados para que entren en celo y ovulen en un período de tiempo determinado (días de ordeño).

Tomando como referencia un PEV de 50 días, el grupo estaría formado por vacas con 70-50 días de ordeño, de manera que las últimas vacas que parieron alcancen el PEV mínimo determinado. Este grupo estaría formado entonces por vacas que parieron en un período de 3 semanas.

En rodeos mayores a 200 vacas es aconsejable formar los grupos de sincronización con vacas cuyo lapso de parición sea de dos semanas (45).

El celo y la ovulación se sincronizan para que ocurran durante la semana siguiente al PEV mínimo determinado.

↖ Programa de reproducción controlada - Targeted Breeding™

Promocionado por el laboratorio Pharma & Upjohn, para sincronizar vacas en lactancia (34). Este programa se basa en la aplicación de dos dosis de PGF 14 días aparte. La primera PGF debe ser aplicada 14 días antes de finalizado el PEV. Luego de esta primera inyección ninguna vaca es IA, aunque hasta un 50% de las vacas puede mostrar celo. Se recomienda que si luego de la segunda inyección de PGF no se detecta celo, se debe aplicar una tercera dosis 14 días más tarde. Si luego de esta tercera inyección no se detecta celo evidente se realiza inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) 72 - 80 horas posteriores a la PGF (45).

↖ Programa de reproducción controlada modificado

También promocionado por Pharma & Upjohn para sincronizar la inseminación de vacas en lactancia. Este programa fue diseñado para forzar a la mayoría de las vacas a una fase luteal temprana mediante una inyección pre-sincronizadora de PGF 14 días antes de la administración de GnRH. Esta GnRH es administrada 7 días antes de la segunda inyección de PGF (8, 45).

La GnRH altera el crecimiento folicular induciendo la ovulación del folículo dominante formando un cuerpo lúteo (CL) nuevo o adicional (8, 37). Así un nuevo grupo de folículos emerge de los ovarios 1 o 2 días después de la administración de la primera inyección de GnRH (37, 45), de este grupo de folículos emerge un nuevo folículo dominante, que madura y ovula después que el estro sea inducido por la PGF (45). Luego de la inyección de PGF se puede inseminar a celo detectado o realizar una IATF 72 - 80 horas posteriores a la PGF.

↖ Ovsynch™

Programa similar al anterior, pero a diferencia de este no es necesaria la detección del celo. En realidad es un programa de sincronización de la ovulación. Consiste en la aplicación de una inyección de GnRH 7 días antes de la PGF. Cuarenta y ocho horas después de la PGF se aplica otra dosis de GnRH y se realiza IATF 0 - 24 horas más tarde. La primera GnRH induce el desarrollo de un folículo dominante en condiciones de ovular (4, 8, 45) o regresa resultando en una nueva onda de crecimiento folicular dentro de los 2 o 3 días (7, 47). Tras la segunda GnRH, a falta de altas concentraciones de progesterona (P4) luego de que la PGF lisa el CL, se induce un pico preovulatorio de LH y el folículo ovula en las siguientes 24 - 36 horas. Si se detectan vacas en celo en cualquier momento de la sincronización, estas deberán ser inseminadas y las inyecciones de PGF, GnRH o ambas deberán ser suprimidas (45, 48). Cuando se aplico este programa en vacas sometidas a stress por calor se incrementó la tasa de preñez al inseminar mayor número de animales (27).

↖ Uso de CIDR-B en rodeos lecheros

📖 Tratamiento del anestro

Una causa común de retraso en la concepción es el anestro postparto anovulatorio (30). Cuando la involución uterina fue normal, las vacas pueden ser tratadas a los 21 días del parto, aunque la preferencia es tratar las vacas a partir del día 28, mayores tasas de preñez pueden obtenerse con intervalos postparto mayores (3,30,35). El tratamiento temprano iniciado una semana antes de la finalización del PEV puede resultar en que las vacas tratadas tengan similar fecha promedio de preñez que sus compañeras (2,30). Se prefiere el uso de tratamiento con resincronización sobre el standard. La resincronización debe comenzar el día 13 (\pm 1 día) posterior al pico de inseminación junto con la inyección de benzoato de estradiol (EB) para estimular el recambio de la onda folicular y para actuar como gatillo del inicio sincronizado del folículo ovulatorio (6,15,30). Es importante que el CIDR quede colocado durante 8 días y sea retirado antes del día 22 post pico de IA para lograr la máxima fertilidad (3,30). La inyección de EB a las 24 horas de retirado el CIDR incrementa la tasa de celo y concentra los retornos (30). El uso del CIDR sin administrar EB puede no ser efectiva y resultar en menor fertilidad, por lo tanto no es recomendable (30).

📖 Programas Controlados de Reproducción (PCR)

Los PCR para rodeos lecheros incluyen la sincronización de todo el rodeo o grupos de vacas, seguida de resincronización para una segunda y tercera ronda de IA (30).

Puede ser utilizado para agrupar vacas y tiene como ventaja en que la detección de celos e IA se realiza en tres días dentro de cada ronda (30). El programa puede comenzar 8 días antes de finalizado el PEV determinado. Ese día se aplica el dispositivo más la inyección de EB (30), al octavo día se combina la retirada del CIDR con una

inyección de PGF. Veinticuatro horas más tarde se aplica otra inyección de EB (3,4, 7,15,30). Los tratamientos de resincronización comienzan 13 días mas tarde del pico de IA para sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular (6,15,30).

Inseminación Artificial en rodeos de carne

☒ Programas de sincronización con PGF

La PGF y sus análogos son los más utilizados en programas de sincronización de celos (4). Un protocolo muy común es el de dos tratamientos con PGF 11 días aparte, sin embargo trabajos recientes indican que la fertilidad es mejor cuando se administran dos inyecciones de PGF con una diferencia de 12 a 14 días, protocolo actualmente muy utilizado (4,22). Butler y Cesaroni (13) reportaron preñeces promedio del 42% en trabajos de IATF a las 72 y 96 horas de la segunda PGF. En otro trabajo Péndola y Piramidani (36) reportan una preñez promedio del 46,45% con IATF a las 60 horas de la segunda PGF. Otros autores reportan buenos porcentajes de preñez en programas de dos tratamientos de PGF 14 días aparte detección de celos e IATF a toda hembra no detectada en celo a las 80 horas de la segunda PGF.

☒ Ovsynch™

Igual tratamiento al utilizado en rodeos lecheros. En vaquillonas presenta variabilidad en los resultados (rango de preñez 35,1% a 72,7%) (16), siendo más efectivo en vacas con cría

y logrando preñeces similares a las obtenidas con PGF más detección de celos e IA (1, 16). En hembras cebú se ha utilizado un programa modificado inyectando EB en lugar de la segunda GnRH e IATF a las 30 - 34 horas del EB, logrando preñeces promedio del 43 % (1). Colazo y otros (18) en vacas Hereford con cría (70-138 días post parto) reportan una preñez de 62,5 % con IATF a las 60 horas de la PGF. Meana Irigoyen y otros (33) en vaquillonas Hereford obtuvieron una preñez del 54,5 % con IATF a las 15 horas de la segunda GnRH. Crudelli, en vacas Braford obtuvo una preñez del 38% (31/82) y 41% (21/51) en dos sincronizaciones. Sabbione y Becerra (38) en vaquillonas Angus obtuvieron un 64,7 y 42,8 % de preñez, en ambos trabajos la IATF se realizó entre las 48 y 57 horas de la segunda PGF. Carcedo y otros (17) reportaron preñeces del 33,3% (32/96), 43,6% (41/94), 32% (31/97) y 35% (21/6) en distintos trabajos realizados. Evaluamos la preñez en vaquillonas Brangus y vacas secas Brangus obteniendo el 40,0% y el 42,0% en vaquillonas y vacas respectivamente, lo que confirmaría que este tipo de tratamientos es más efectivo en vacas (11). Sin embargo en otra experiencia obtuvimos en vaquillonas Limangus un 45% de preñez coincidiendo con lo afirmado por Callejas (16) sobre la variabilidad de los resultados en vaquillonas.

☒ Norgestomet

Es un progestágeno sintético utilizado en dos implantes, Syncro-Mate-B (SMB, Merial) y Crestar (Intervet). Estos implantes se aplican subcutáneamente en la oreja y vienen acompañados de una inyección de 5 mg de Valetrato de Estradiol (EV) y 3 mg de Norgestomet (N) que se administran al momento de colocar el implante. El tiempo de aplicación del implante es de 9 días.

☒ Norgestomet combinado con PGF

Recientemente se ha cuestionado la acción luteolítica del E2 cuando se lo aplica en las fases tempranas del ciclo. En un experimento de Intervet hay una diferencia del 10% de preñez favorable a las vacas que recibieron PGF. En este tratamiento se combinó también con 500 UI eCG (PMSG) al retirar el implante.

Porcentaje de preñez en vacas en lactancia utilizando diferentes combinaciones de Crestar				
N	Crestar + EV + Nantes	PGF 2 días antes retirar	500 UI eCG al retiro	% Preñez con IA
56	+	-	-	47
64	+	-	+	50
60	+	+	-	59
60	+	+	+	65

Adaptado de PC Nelis, Compendium of Animal Reproduction, Intervet, 1995,32

Porcentaje de preñez en vaquillonas y vacas de carne utilizando SMB más PGF al retirar					
Categoría	CC	IPP	N	Pñs	% Pñz
Vq. 20 meses	3-3,5		57	28	49,12
Vq. 24 meses	3,5		100	61	61,00
Vcs c/c + DT 48	3-3,5	60	243	122	50,20
Vcs c/c + DT 48	2-2,5	45	100	35	35,00

Bussi, PJ. 1998. (9)

☞ Norgestomet combinado con GnRH

Este protocolo ha sido desarrollado hace poco tiempo en un experimento en el cual se combinó GnRH al final del tratamiento para inducir la ovulación. Los implantes fueron removidos a los 9 días y la mitad de las vaquillonas recibieron una inyección de 100 µg de gonadorelin (Cystorelin, Merial) 30 horas después. Como en un experimento de Martínez et. al, el tratamiento de EV y N indujo la regresión del folículo dominante existente y el crecimiento de una nueva onda entre 4 y 7 días después. En cuanto a la ovulación fue más sincrónica (56-64 horas) y la preñez numéricamente mayor.

☞ Norgestomet combinado con EB

Otra alternativa de inducción de la ovulación es utilizar 0,5 a 1 mg de EB a las 24 horas de retirado los implantes e IATF entre las 50 y 52 horas pos retiro. En trabajos preliminares administrando 0,5 mg de EB a las 24 horas de retirado SMB en vacas Hereford resultaron preñadas 11 de 23 (47,82%) (3). Otros trabajos experimentales (3) utilizaron Crestar combinado con PGF 2 días antes del retiro, PMSG al retirar, EB a las 24 horas de retirado Crestar e IATF a las 50 - 52 horas de Crestar resultaron 20/50 vacas preñadas (40%), PGF más PMSG día 6, PMSG al retirar Crestar, EB a las 24 horas e IATF a las 50 - 52 horas de retirado Crestar resultaron 21/50 vacas preñadas (42%). Bó y col en un programa de IATF con SMB combinado con PGF día 6 más EB a las 24 horas de retirado SMB (día 10) e IATF obtuvieron una preñez del 61,45% (51/83). Otros profesionales reportaron una preñez del 55,70% (39/70) utilizando SMB con EB a las 24 horas de retirado el implante e IATF a las 50 horas de retirado SMB. En nuestra experiencia la preñez promedio es del 42% con tratamientos de SMB 9 días más EB a las 24 horas de retirado e IATF a las 50 horas. En todos los casos combinamos el retiro del implante con un destete temporario.

☞ Norgestomet combinado con PMSG (eCG)

La combinación con PMSG al final del tratamiento para estimular el desarrollo folicular fue estudiada para ser utilizada en vaquillonas, vacas con cría o vacas lecheras en lactancia (27). Una revisión reciente de investigadores europeos indica que con este tratamiento el grado de ciclicidad de los animales influye drásticamente sobre el porcentaje de preñez final, siendo aproximadamente un 60% en vacas cíclicas y un 40% en vacas en anestro. Scena y Butler (35) han reportado una preñez del 52% utilizando Crestar combinado con 500 UI de PMSG al retirar el implante en vacas Hereford IATF a las 48 horas de retirado el implante. Scena y col (40) en otro experimento en este caso con vacas Brahman en anestro obtuvieron un porcentaje de preñez del 38,5 y 46,7% respectivamente. En otro trabajo Finelli y col (23) en vaquillonas cruza cebú anestrícas entre 18 y 20 meses reportaron una preñez del 44,4% utilizando Crestar combinado con 600 UI de PMSG al retirar el implante. Nosotros utilizamos 300 UI en vaquillonas y 400 UI en vacas, en ambos casos la inyección de PMSG se aplica al momento de retirar el implante y se IATF a las 48 horas. El porcentaje de preñez promedio obtenido es del 50,19 y 50,12% para vaquillonas y vacas respectivamente (9).

☞ CIDR-B / DIV-B

El tratamiento con progestágeno y estradiol-17β (E-17β), administrados en cualquier momento del ciclo estral, inducen el crecimiento sincrónico de una nueva onda folicular aproximadamente 4 días más tarde (5,14). La sincronización es efectiva cuando se administra el EB un día después de la inserción del dispositivo de progestágeno, o combinado con P4 inyectable en el mismo momento de la inserción (5,6,12,14).

En un experimento se observó que el pico de LH ocurre en promedio 16,1 hora pos-EB y a ovulación ocurría a las 40 horas pos-EB (64 horas después de la remoción del CIDR-B). Esto determinó que se deba IATF a los animales a las 52 horas de retirado el CIDR-B (7,26). Butler y col. (12) evaluaron la tasa de preñez a IATF posterior a diferentes tratamientos durante de CIDR 7 días. Al momento de la inserción se inyectó 3 mg de EB, en el día 6 se inyectó PGF, el día 7 al momento de la extracción las hembras fueron divididas en tres tratamientos; T1 inyección de EB al retiro del CIDR, T2 inyección de EB a las 24 horas de retirado CIDR y T3 inyección de buserelina en el momento de la IATF. Los resultados de preñez obtenidos fueron: 53,9%, 49,2% y 62,1% para los tres tratamientos respectivamente. Se ha demostrado que la GnRH es capaz de inducir ovulación en vacas amamantando, estando el folículo dominante en fase de desarrollo y meseta (5,15,30,46,49). Péndola y Piramidani (36) en trata-

mientos de CIDR por 8 días combinado con EB al momento de aplicar el dispositivo, PGF más destete temporario al retiro del CIDR, EB a las 24 horas e IATF 24 horas mas tarde obtuvieron en promedio 51,20 % de preñez en vacas con cría al pié, una condición corporal \geq a 3 puntos (escala 1 a 5), un período post parto de entre 60 y 75 días. Los mismos autores en vacas cola de parición reportan una preñez promedio del 46,36%, el tiempo post parto en este caso fue de entre 45 y 60 días. En otro trabajo (10) evaluamos la tasa de preñez de acuerdo al tiempo de colocación del CIDR-B, por 9, 8 y 7 días, en todos los casos se inyectó EB 2 mg al momento de colocar el dispositivo y EB 1 mg al retirar el dispositivo. Los resultados fueron 48,33%, 55,0% y 50,9% para cada tratamiento respectivamente.

CONCLUSIONES

Controlando el CL, el desarrollo folicular y la ovulación podemos obtener máxima fertilidad y realizar programas de IATF. Los trabajos presentados demuestran que es posible sincronizar el celo y la ovulación en vaquillonas y vacas en rodeos lecheros o de carne. Todos estos programas y tratamientos son herramientas muy útiles en los programas que buscan eficientizar la reproducción en rodeos de carne y leche.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barros, C. Comunicación personal. 1998.
2. Beal WE. Current estrus synchronization and artificial insemination programs for cattle. *J. Anim. Sci.* 1998; 76 (suppl.3): 30-38.
3. Bó GA. Comunicación personal. 1999.
4. Bó GA, Adams GP, Caccia M, Martinez M, Colazo M, Mapletoft RJ. Actualización del control del ciclo estral bovino. Bases y métodos para la IA a tiempo fijo. CABIA, 1998.
5. Bó GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular development in cattle. *Theriogenology* 1995; 43: 31-40.
6. Bó GA, Caccia M, Martinez M, Mapletoft RJ. Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. Proc. 13 th International Congress on Anim. Reprod., Sydney, Australia, 1996.
7. Bó GA, Mapletoft RJ. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado de carne. Proc. II Workshop Reprod. Bov. Tandil, 1999.
8. Burke JM, de la Sota RL, Risco CA, Staples CF, Schmitt EJP, Thatcher WW. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1996; 79: 1385-1393.
9. Bussi PJ. IAT, tasa de preñez en vaquillonas y vacas sincronizadas con SMB y SMB con PGF y PMSG. Proc. III Simp. Int. Reprod. Anim. 1999, 200.
10. Bussi PJ. IAT, tasa de preñez en vaquillonas y vacas sincronizadas con CIDR-B combinado con PGF y EB. Proc. III Simp. Int. Reprod. Anim. 1999, 201.
11. Bussi PJ. Preñez en vaq. y vacas Brangus sinc. med. Ovsynch. 1998 No publicado.
12. Butler H, Cesaroni G, Mc Dermontt, E, Cano A. Preñez de vaquillonas inseminadas a tiempo fijo después de un tratamiento con CIDR asociado con GnRH a con benzoato de estradiol aplicado 0 o 24 hs postratamiento. Proc. IV Workshop de Reprod. Bov. Pergamino, 2000.
13. Butler H, Cesaroni G. Proc. II Workshop Reprod. Bov. Tandil, 1999.
14. Caccia M, Bó GA. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology* 1998; 49:341.
15. Caccia M, Cutaia L, Moreno D, Bó Ga. Sincronización del momento de la ovulación en vacas tratadas con CIDR-B, benzoato de estradiol, progesterona y GnRH. CABIA 1998.
16. Callejas S. Uso de la Hormona Liberadora de Gonadotrofinas y ProstaglandinaF2 natural o sus análogos para controlar el ciclo estral. Proc. IV Workshop Reprod. Bov. Pergamino, 2000.
17. Carcedo J, Alonso N, Menajovsky J, Alvarez C. No publicado.
18. Colazo M, Iluminati H, Schmitt E, Bartolomé J, Bó GA. Control del ciclo estral con un agonista de GnRH y PGF en vacas de carne con cría al pié. Proc. III Simp. Int. Reprod. Anim. 1999.
19. Crowe MA, Goulding D, Bagusi A, Boland MO, Roche JF. Induced ovulation in the first post partum dominant follicle in beef suckler cows using GnRH analogue. *J. Reprod. Fert.* 1993; 99: 551-555.
20. Davos PM, Josh JT, Heersche G, Miksh DE. Site of semen deposition and subsequent conception in synchronized and artificially inseminated (AI) beef heifers. *J. Anim. Sci.* 1985; 61 (suppl.1): 37.
21. Drobowsky W, Hafez ESE. Transport and distribution of spermatozoa in the reproductive tract of the cow. *J. Anim. Sci.* 31: 940, 1970.
22. Fergusson JD, Galligan DT. Prostaglandin synchronization programs in dairy herds. 1993; 15: 646-655.
23. Finelli J, Scena C, Cabarcos G, Sampedro D, Callejas S. Comparación de dos tratamientos hormonales en vaquillonas cruza cebú en anestro entoradas a los 18 - 20 meses de edad. *Rev. Arg. Prod. Anim.* Vol. 18 Supl. 1, 339, 1998.
24. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosemberg M. Reproductive management of dairy cattle based upon synchronization of estrus cycles. *J. Dairy Sci.* 1984; 67: 153-160.
25. Gallager GR, Senger PL. Concentrations of spermatozoa in the vagina of heifers after deposition of semen in the uterine horns, uterine body or cervix. *J. of Reprod. And Fertility* 86: 19-25, 1989.

26. Hanlon DW, Williamson NB, Witchel JJ, Steffert IJ, Craigie AL. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology* 1997; 47: 963-975.
27. IRAC, Proc. II Curso Post-Grado en Reproducción Bovina, 1998.
28. Larsson B. Transuterine transport of spermatozoa after artificial insemination in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 12: 115-122, 1986.
29. Larsson B, Larsson K. Distribution of spermatozoa in the genital tract of artificially inseminated heifers. *Acta Vet. Scand.* 26: 385, 1985.
30. Macmillan KL. Proc. II Workshop Reprod. Bov. Tandil, 1999.
31. Macmillan KL, Watson JD. Fertility differences between group of sires relative to the stage of estrus at the time of inseminations. *Anim. Prod.* 21: 243, 1975.
32. Marshall CE, Graves WM, Meador JL, Swain JB, Anderson JI. A fertility comparison of uterine body and bicornual semen deposition procedures in dairy cattle. *American Dairy Sci. Assoc. And A. Soc. of anim. Sci. Combined Annual Meeting. Abst.* 1989.
33. Meana Irigoyen G, Zeballos H, Larghi J, Cabodevilla J, Catalano R, Teruel M, Callejas S. Control del ciclo estral en vaquillonas para cría; uso de buserelina y dinoprost trometamina. Proc. III Simp. Int. Reprod. Anim. 1999.
34. Moreira F, Risco CS, Pires MFA, Abrose JD, Drost M, Thatcher WW. Use of bovine somatotopin in lactating dairy cow receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1237-1247.
35. Nebel RL, Jobst SM. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: a review. *J. Dairy Sci.* 1998; 81: 1169-1174.
36. Pédola C, Paramidani E. Proc. IV Workshop Reprod. Bov. Pergamino, 2000.
37. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. *Theriogenology* 1995; 44: 915-923.
38. Sabbione S, Becerra F. Sincronización de celo en ganado bovino de carne mediante el uso combinado de un superanálogo de GnRH (Gestran Plus) y PGF (Arsaprost). Proc. III Simp. Int. Reprod. Anim. 1999.
39. Scena C, Butler H, Durand M. Eficacia de dos tratamientos progestágenos para sincronizar celos en vacas Hereford con cría al pié. *Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 18 Supl. 1,* 337, 1998.
40. Scena C, Peralta R, Callejas S, Luchelli A. Combinación de un implante progestágeno, PMSG y destete temporario sobre la tasa de preñez después de IA sistemática en vacas Brahman en anestro. *Rev. Arg. Prod. Anim. Vol. 18 Supl. 1,* 338, 1998.
41. Senger PL, Becker WC, Hillers JK. Influence of cornual insemination on conception rates in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 66: 3010-3016, 1988.
42. Senger PL, Becker WC, Hillers JK. Effect of thawing rate and post thaw temperatures on motility and acrosomal maintenance in bovine semen frozen in plastic straws. *J. Anim. Sci.* 42: 932-936, 1976.
43. Sullivan JJ. Sperm numbers required for optimum breeding efficiency in cattle. Proc. 3erd. Tech. Conf. Artif. Insem. And Reprod. NAAB. 1970, 36-43.
44. Suga T, Higaki S. Studies on uterine secretion in the cow. II Distribution of spermatozoa and seminal plasma after intra-uterine inseminations in the reproductivre tract of the cow during estrus. *Bull Nat. Inst. Anim. Ind. (Jpn).* 24: 41, 1971.
45. Stevenson J. Sincronización de celos y de ovulaciones en bovinos de leche y carne. Proc. V Cong. Arg. Reprod. Anim. CABIA y EGP. 2000.
46. Tawagiramungu H, Gibault L, Dufour JJ. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: E Review. *J. Anim. Sci.* 1995; 73:3141-3151.
47. Twagiramungu H, Guibault LA, Proulx J, Villeneuve P, Dufour JJ. Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 1992; 70: 1904-1910.
48. Trimberger GW. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebraska Agric. Exp. Sta. Res. Bull* 1948; 153-1-26.
49. Vizcarra JA. Influence a dose, frecuencia, and duration of infuse3d gonadotropin realising hormone on secretion of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in nitritionally anestrus beef cows. *Domestic Anim. Endocr.* 1999, 16 (3): 171-181.
50. Wilmut J, Moeller AN. Sperm transport into the oviducts of heifers mated early in estrus. *Reprod. Nutr. Dev.* 1984; 24: 461.

http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/01-inseminacion_artificial_y_sincronizacion.pdf